

---

# VII Seminario de QUÍMICA MARINA

---



Servicio de Publicaciones  
Universidad de Cádiz





# VII SEMINARIO DE QUIMICA MARINA

(Cádiz, 25 y 26 de Enero de 1994)

COORDINADORES:

JESÚS FORJA PAJARES

Facultad de Ciencias del Mar, Universidad de Cádiz

MARÍA FRANCISCA OSTA FORT

Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía del Consejo Superior de Investigaciones  
Científicas



SERVICIO DE PUBLICACIONES  
UNIVERSIDAD DE CADIZ

1 9 9 7

SEMINARIO DE QUÍMICA MARINA (7º. 1994. Cádiz)

VII Seminario de Química Marina : (Cádiz, 25 y 26 de Enero de 1994). / coordinador José López Ruiz. -- Cádiz : Servicio de Publicaciones de la Universidad, 1997. -- 327 p.

ISSN 0214-9826

1. Química marina - Congresos. I. Universidad de Cádiz. Servicio de Publicaciones. II. Título

551.464 : 061.3

© Servicio de Publicaciones de la Universidad de Cádiz.  
Edita: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Cádiz  
I.S.S.N.: 0214-9826  
Depósito Legal: CA-178/98  
Diseño y Maquetación: Creasur, S.L.

Imprime: Jiménez-Mena, s.l.  
Polígono Industrial Zona Franca. Cádiz

Printed in Spain

# PROGRAMA DEL VII SEMINARIO DE QUÍMICA MARINA

CÁDIZ, 25 y 26 de Enero de 1994

## MARTES 25

A las 16,30 horas

- Recogida de documentación y primera sesión de presentación de comunicaciones en el Salón de Actos del Centro UNED de Cádiz (Plaza de San Antonio, 2).
- D1 Evolución de los niveles de diversos parámetros físico-químicos en las aguas de la bahía de Algeciras (1979-1993), por *C. Luna Doña y M.P. Manuel Vez*.
- D2 Contaminación del mar por efluentes urbanos tratados: Efecto del alquil benceno sulfonato lineal (LAS) sobre la concentración de materia orgánica vertida, por *M. Pérez García, L.I. Romero García, D. Sales Márquez, E. Nebot Sanz y J.M. Quiroga Alonso*.
- D3 Niveles de alquilbencenosulfonatos lineales (LAS) en aguas, sedimentos y material en suspensión en diversos ecosistemas del litoral de Cádiz, por *E. González-Mazo y A. Gómez-Parra*.
- D4 Toxicidad de sedimentos marinos del golfo de Cádiz sobre poblaciones del rotífero *Brachionus plicatilis* cultivados en agua intersticial, por *T.A. del Valls, J.M. Forja, L.M. Lubián y A. Gómez-Parra*.
- D5 Aporte del alquil benceno sulfonato lineal (LAS) al medio marino por vertidos de efluentes urbanos tratados en plantas depuradoras, por *M. Pérez García, L.I. Romero García, D. Sales Márquez, E. Nebot Sanz y J.M. Quiroga Alonso*.
- D6 Acumulación de pigmentos por bacterias marinas asociadas a cultivos de microalgas, por *M.G. del Valle, I. Moreno y L.M. Lubián*.
- D7 Eutrofización del sedimento del estuario del río Palmones debido a inundaciones, por *V. Clavero, P. García-Vallejo, C. Jiménez y F.X. Niell*.
- D8 Evaluación de la relación de nutrientes y biomasa microbiológica en una corriente fluvial, por *M.D. Galindo Riaño, P. Martínez Martínez, L. Vidal Valderas y M. García Vargas*.
- D9 Estudio hidroquímico del río Guadalete. Evolución espacio-temporal de parámetros físico-químicos, por *P. Martínez Martínez, M.D. Galindo Riaño, M. Milla González y M. García Vargas*.
- D10 Influencia del alquilbenceno sulfonato lineal sobre algunas actividades enzimáticas en la almeja *Ruditapes philipinarum*, por *J. Blasco, M.C. Sarasquete, E. González-Mazo y A. Gómez-Parra*.

## A las 20 horas

### Sesión inaugural:

Bienvenida a los participantes a cargo del Illmo. Sr. Director del Centro UNED, Dr. Campllonch León.

Presentación del Seminario por parte del Prof. Dr. D. José López Riuz.

Conferencia del Prof. Dr. D. Ricardo Prego Reboredo (Instituto de Ciencias Marinas (C.S.I.C.) de Vigo) sobre “*LA BIOGEOQUÍMICA MARINA, UNA NUEVA VISIÓN DE LOS OCEANOS*”.

Intervención del Excmo. Sr. Vicerrector de Investigación de la Universidad de Cádiz, Prof. Dr. D. José Vilches Troya.

Recepción a los participantes en el Casino Gaditano (Plaza de San Antonio, 6).

- D11 Condiciones fisicoquímicas durante un ciclo anual en la plataforma continental de A Coruña, por *M. Canle L., R. Carballo y N. González.*

## MIÉRCOLES 26

### A las 9,30 horas

Segunda sesión de presentación de comunicaciones en la **Sala de grados de la Facultad de Ciencias del Mar (Polígono del Río San Pedro, Puerto Real).**

- D12 Ensayo de un método de incubación en laboratorio para la medida del intercambio de sales nutrientes entre el sedimento y la columna de agua en una ría gallega, por *E. de Blas y R. Prego.*
- D13 Intercambio de fosfato y adsorción por el sedimento del estuario del río Palmones, por *V. Clavero, J.A. Fernández y F.X. Niell.*
- D14 Adsorción de alquilbenceno sulfonatos lineales (LAS) sobre sedimentos marinos, por *J.A. Rubio, E. González-Mazo y A. Gómez-Parra.*
- D15 Influencia de las bacterias en la disponibilidad de fosfato en el sedimento del estuario del río Palmones, por *V. Clavero, J.A. Fernández y F.X. Niell.*
- D16 Distribución de sales nutrientes en la capa superficial (<150 m) próxima a la banquisa en el borde del mar de Weddell (verano Antártico 1988-89), por *R. Prego y M.J. Belzunce.*
- D17 Captación del CO<sub>2</sub> y edad en las aguas de la termoclina principal del Atlántico Norte, por *FF. Pérez, A.F. Ríos y G. Rosón.*
- D18 Simulación de procesos en estuarios: Aplicaciones a la investigación y a la docencia en oceanografía, por *A. Gómez-Parra, J.M. Forja, J.A. Rubio, J. Blasco, T.A. del Valls, E. González-Mazo, T. Ortega y V. León.*

### A las 11,30 horas

Presentación por el Prof. Dr. d. F.X. Niell de “*Los programas de investigación IGBP y SCOPE. Fundamento, objetivos y asequibilidad*”.

### A las 12 horas

Mesa redonda con el tema “EL PAPEL DE LA QUÍMICA EN EL ESTUDIO DEL MAR”.

### A las 13,30 horas

Presentación por parte de la Illma. Sra. Decana de la Facultad de Ciencias del Mar, Profa. Dra. Dña. María del Pilar Martín del Río del edificio e infraestructura de Ciencias del Mar de la Universidad de Cádiz.

### A las 17 horas

Tercera sesión de presentación de comunicaciones en la Sala de Grados de la Facultad de Ciencias del mar (Polígono del Río San Pedro, Puerto Real).

- D19 Termocinética del cambio de fase en la congelación de agua de mar con tres crioprotectores diferentes, por *J.P. Cañavete, L.M. Lubián*.
- D20 Productos naturales marinos bioactivos de organismos procedentes del litoral andaluz, por *E. Zubía, M.J. Ortega y J. Salvá*.
- D21 Control de calidad en los estudios de contaminantes en el programa de “monitoring” del medio marino del Instituto Español de Oceanografía. Ejemplo de los análisis de red de seguimiento del mejillón, por *C. Rodríguez, J. Guerrero, V. Besada y F. Schultze*.
- D22 Acumulación de cobre en microalgas usadas en acuicultura, por *I. Moreno, M.G. del Valle y L.M. Lubián*.
- D23 Metales en suspensión en agua de mar de la bahía gijonesa y su relación con el vertido de las aguas residuales de la ciudad, por *R. García Mendez, H. Sastre Andrés y E. Marañón Maison*.
- D24 Distribución de Hg, Pb, Zn y Cu en el salmonete de fango *Mullus barbatus*, por *C. Rodríguez, J. Guerrero y A. Jornet*.
- D25 Niveles de contaminación por metales en la costa del entorno de la ciudad de Las Palmas de Gran Canaria, por *J.E. González, A. Macías-Machin, A. Santana, I. Angulo y V. Benítez*.
- D26 Aplicación del método fluorimétrico Al-SAPH a la determinación de subtrazas de aluminio en agua de mar, por *M.P. Manuel Vez y M. García Vargas*.

### A las 20 horas

#### Sesión de clausura:

Conferencia del Prof. Dr. d. Jesús M. Forja Pajares (Facultad de Ciencias del Mar de Cádiz) sobre “*EL TRIAD, UN MÉTODO INTEGRADO PARA LA EVALUACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE SEDIMENTOS MARINOS*”.

Intervención del Excmo. Sr. Vicerrector de Planificación y Desarrollo, Prof. Dr. D. Diego Sales Márquez.





## PRESENTACION

Volvemos a tener en Cádiz la honra y la satisfacción de acoger a un nuevo Seminario de Química Marina, cumpliéndose con este Séptimo la mayoría de edad que supone pasar la media docena.

Desde 1983 que iniciaron su andadura, hasta el 1994 actual, han pasado tantos y suficientes años como para constatar que la celebración de estos Seminarios no se fundó en una fugáz iniciativa sino que responde a una necesidad de esta faceta de la investigación española.

Pero tal vez, con la dicha mayoría de edad, sea llegada la hora de pensar en despegarse un poco de las faldas progenitoras y de otear otros horizontes, con la seguridad de su consistencia y de su afianzado porvenir, buscando diferentes Sedes complementariamente revitalizadoras.

En estos años de existencia de los Seminarios de Química Marina ha crecido mucho en España la investigación sobre estos nuestros temas marinos, y los núcleos iniciales han madurado y se han desarrollado suficientemente. Ya somos varios los que participamos en esta tareas, y desde Cádiz puede pensarse confiadamente en la posible rotación de la organización de Seminarios por otras latitudes, donde seguramente, con el impulso de nuevas iniciativas, se mejorará y ampliará lo que entre todos los asíduos participantes tenemos conseguido.

Cualquiera que recoja el testigo y la bandera puede saber que desde aquí la seguiremos, la apoyaremos y la ampararemos. Tendremos además el agradecimiento para quien nos conceda la honra de seguir nuestros pasos y de permitir a estos Seminarios respirar otros aires y sembrar nuevas inquietudes en otras regiones.

También, queda en Cádiz el agradecimiento a los muchos investigadores de toda España que se identificaron con nuestra iniciativa y nos acompañaron en estas citas bienales. Citas que nos han permitido compartir afectos, crear amigos y constatar el importante nivel de la investigación española en temas de la química del mar.

José López Ruiz



CONFERENCIA 1



## LA BIOGEOQUIMICA MARINA, UNA NUEVA VISION DE LOS OCEANOS

*Ricardo Prego*

Biogeoquímica Marina. Instituto de Investigaciones Marinas (CSIC)  
rúa Eduardo Cabello, 6. 36208 Vigo e-mail prego@iim.csic.es

### RESUMEN:

Las cuencas marinas contienen el 97,2% del total de  $1,364 \times 10^{18}$  m<sup>3</sup> de agua que hay en nuestro planeta. Este importante volumen, junto con la gran superficie que ocupa,  $3,61 \times 10^{14}$  m<sup>2</sup>, y el papel que desempeña en el mantenimiento de la vida sobre la Tierra hace que parezca más propio hablar de un planeta “Agua” que de un planeta “Tierra”.

La expedición del navio Challenger en 1872-75 marcó el comienzo de las Ciencias Marinas (¡solamente hace 120 años!): los mares son considerados como materia de estudio científico. Desde entonces, nuestro conocimiento sobre los océanos ha tenido un desarrollo acelerado con la gran ayuda de los avances técnicos.

Una parte del conocimiento adquirido sobre el medio marino ha tomado cuerpo propio y ha dado lugar a una nueva disciplina: la Biogeoquímica Marina. Esta ciencia estudia los ciclos de los elementos químicos en los mares, abordando los procesos que siguen los diferentes compuestos químicos presentes en el agua marina. Conceptos como ciclo, compartimento, flujo, sumidero, fuente, balance y tiempo de residencia son fundamentales para la Biogeoquímica Marina.

Un ejemplo sencillo del novedoso enfoque de esta disciplina es el modelo de Broecker para el ciclo biogeoquímico del fósforo en los océanos, el cual permite identificar y cuantificar los procesos globales que tiene este elemento en el océano: la capa superior oceánica recibe 1,9 Tg por año de los ríos y atmósfera, valor que, por ser un modelo estacionario,

será también el flujo que alcanza el sedimento. Una aplicación menos general trataría del estudio de zonas costeras, como el comportamiento del fósforo en una ría gallega. Así se considera a una ría como un compartimento biogeoquímico donde el flujo de fosfato actúa sobre procesos químico-biológicos de fotosíntesis, remineralización y sedimentación, junto con otros de tipo geoquímico de adsorción-desorción.

**1.- Introducción: El planeta agua.**

Una simple mirada sobre la superficie de nuestro planeta es suficiente para darnos cuenta de que los océanos ocupan la mayor parte. Una observación más detallada nos revela que las aguas marinas no están distribuidas uniformemente sobre la tierra, sino que el hemisferio norte contiene la mayor parte de los continentes, mientras que en el hemisferio austral predominan los mares, hasta el punto que en torno al paralelo 60°, el cual rodea el continente Antártico, no se halla ninguna tierra emergida.

Una manera sencilla de disponer de la información general de la superficie terrestre es mediante una curva hipsográfica (Fig.1). Resulta un camino muy útil de resumir y presentar información referente a las relaciones planetarias tierra-agua. Consiste en representar sobre unos ejes la altitud respecto a valores acumulados de superficie, lo que permite calcular volúmenes por multiplicación directa de las coordenadas. Así en la Fig.1 se puede obser-

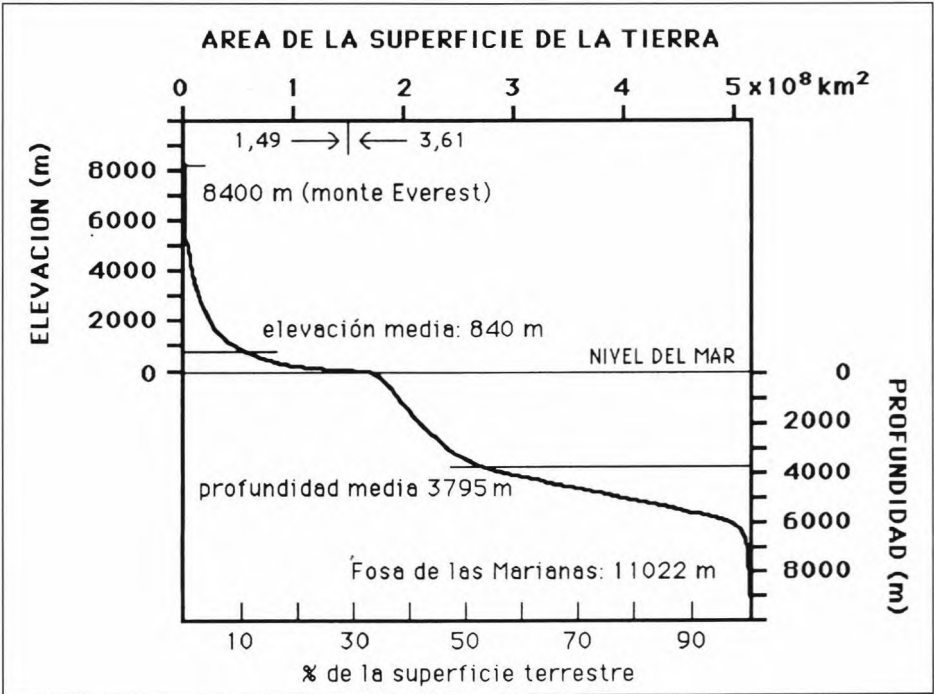


Figura I. Curva hipsográfica de nuestro planeta.

var como la elevación media sobre el océano es de 840 m, la profundidad media de los océanos 3795 m y como, de no existir relieve, el fondo de los océanos estaría a 2440 m de profundidad, lo que se conoce como profundidad media de la esfera terrestre. Sobre este fondo se encontraría una capa de agua de 2686 m de espesor, es decir, 246 m por encima del actual nivel del mar se situaría el nivel de la esfera media oceánica. Otras características de los océanos también se muestran en la Fig.1, por ejemplo, mientras que solo el 20 % de la tierra emergida tiene más de 2 Km de altura el 85 % de los océanos son más profundos de 2 Km.

**TABLA 1.**

Distribución del H<sub>2</sub>O en la hidrosfera y atmósfera de nuestro planeta.

Compartimento	volumen de agua (10 <sup>3</sup> km <sup>3</sup> )	porcentaje del total
Lagos	125	0,0091
Lagos salobres	104	0,0076
Ríos	1,3	0,0001
<hr/>		
Total agua superficial terrestre	230	0,017
Humedad del suelo	67	0,0049
Aguas subterráneas	8000	0,5851
<hr/>		
Total agua subsuperficial	8067	0,590
Nieve y Glaciares	29000	2,121
<hr/>		
<b>Aguas continentales</b>	<b>37297</b>	<b>2,728</b>
<b>Atmósfera</b>	<b>13</b>	<b>0,001</b>
<b>Océanos</b>	<b>1330000</b>	<b>97,271</b>
<b>Total</b>	<b>1367310</b>	<b>100</b>

Esta descripción de nuestro planeta manifiesta la gran importancia que tiene la hidrosfera, que supone el 0,13 del volumen de nuestro planeta. La Tabla 1 recoge la distribución y porcentaje del agua en los distintos compartimentos donde se encuentra (lagos, ríos, aguas subterráneas, mares, atmósfera, etc...) sobre el planeta. La mayor parte se halla en el gran recipiente oceánico que contiene el 97,27 del total de agua, le siguen las aguas continentales con un 2,78 en las que se puede considerar distintos subcompartimentos (Tabla 1) y el 0,001 restante se halla en la atmósfera.

El sistema no es estático existiendo un continuo intercambio entre los diferentes compartimentos. Sobre el mar se evaporan anualmente  $4,25 \times 10^{14}$  m<sup>3</sup> de agua que retorna en su



mayor parte,  $3,85 \times 10^{14} \text{ m}^3$ , como lluvia caída a los océanos y la restante es vertida por los ríos al mar, ya que el ciclo global del agua en el planeta es estacionario.

En consecuencia, no sólo por el volumen de agua, o su superficie, mayor que la de las tierras emergidas, sino también por su ciclo y la importancia que tiene en el mantenimiento de la vida, sería más correcto llamar a nuestro planeta "Agua" en vez de "Tierra".

## 2.- Un poco de historia: El mar como tema científico.

Nuestro conocimiento sobre los mares es relativamente reciente. La historia temprana de las ciencias marinas está relacionada con los viajes. La primera carta de ayuda a la navegación aparece en el año 800 AC, resultado del comercio fenicio, cuyas naves no sólo cruzaron el mar Mediterráneo sino que llegaron hasta las Islas Británicas y el Africa Occidental. Posteriormente, la gran biblioteca de Alejandría (hacia el año 300 AC) recopiló información de los viajeros que se orientaban por la posición de las estrellas, originándose un florecimiento de la cartografía. Los griegos fueron los primeros en utilizar el término "OKEANOS" para definir al agua que rodeaba al mundo, para cuya representación gráfica Eratóstenes inventó los términos de longitud y latitud, situando como referencia a Alejandría (Fig.2). Sin embargo hay que esperar al descubrimiento del vasto continente Americano por Colón, y a que Magallanes circunnavegue el planeta por primera vez (1519-22) para que la humanidad disponga de una buena idea acerca de la extensión de los océanos. Desde entonces el conocimiento de los mares se ha ido completando con diversas expediciones como la de Cook (1768), Darwin (1831), Nansen (al Artico en 1895). A su vez

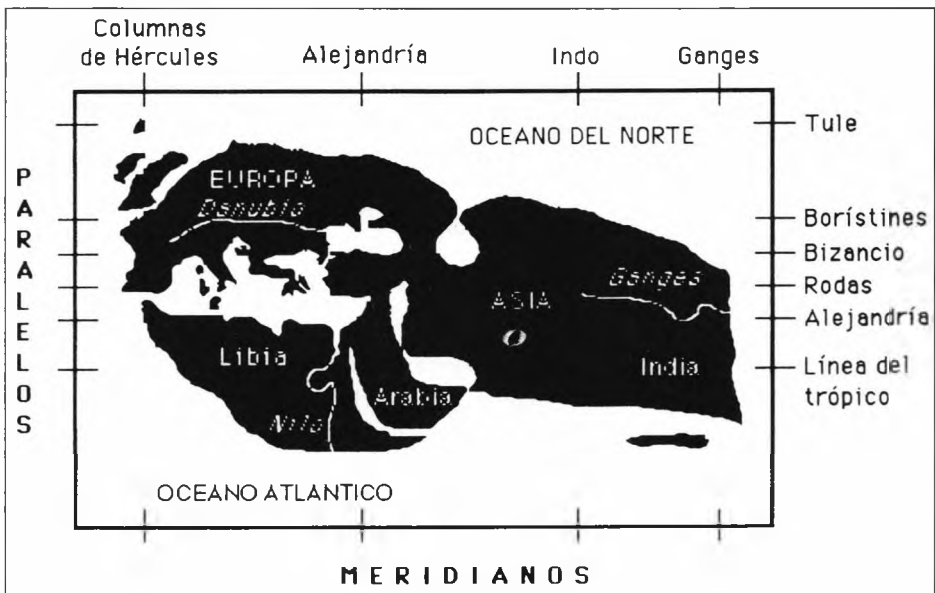


Figura II. Visión del Mundo que tenían los antiguos griegos.

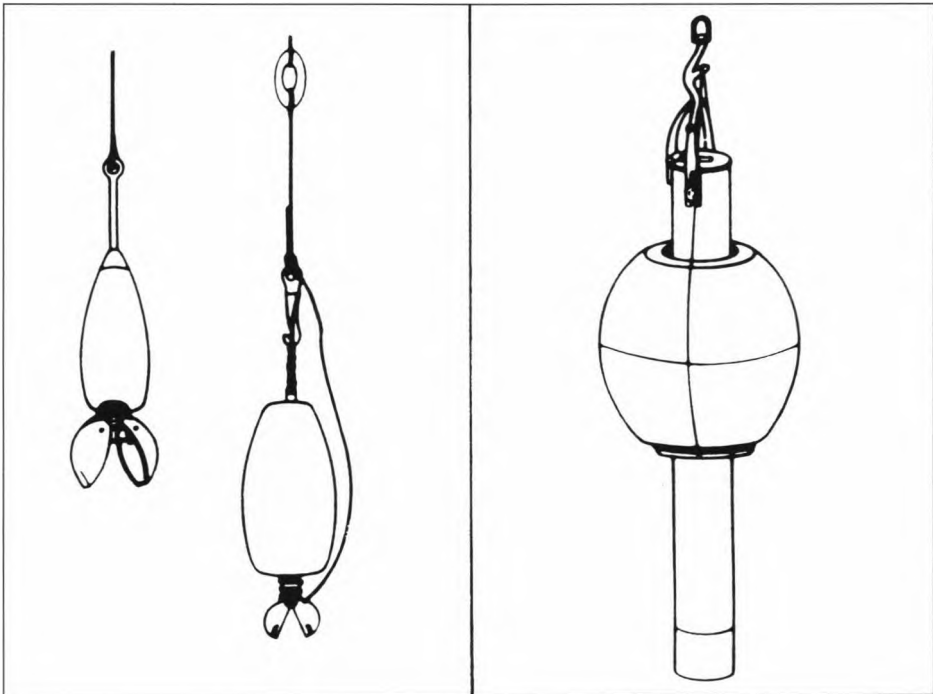
**TABLA 2.**

*Acontecimientos importantes en el desarrollo de la idea:  
"El mar como tema científico".*

1725.	Luis Ferdinand de Marsili publica "Histoire physique de la Mer".
1753.	Benjamín Franklin publica la primera carta marina mostrando una corriente oceánica.
1818.	John Ross toma las primeras muestras de agua profunda y de sedimentos.
1822.	Construcción por Marcet de la primera botella para la toma de muestras de agua marina y por Parry del mensajero para cerrarla.
1836.	William Harvey idea una taxonomía para las algas marinas.
1847.	Hans Oersted observa el Plancton.
1855.	Matthew Maury publica "Physical Geography of the Seas".
1872.	<b>Partida de la expedición del "Challenger" (1872-76).</b>
1880.	William Dittmar determina las sales marinas más abundantes.
1891.	Sir John Murray y Alphonse Renard clasifican al sedimento marino.
1893.	Construcción de la botella "Nansen" para muestreo de agua marina.
1902.	Creación de la Comisión Internacional para la Exploración del Mar.
1906.	El príncipe Alberto I de Mónaco crea el Museo Oceanográfico.
1913.	Publicación por John Murray de "The Ocean: A general account of the Science of the Sea".
1921.	Se funda el "International Hydrographic Bureau".
1925.	Partida de la expedición del Meteor (1925-27) con la primera ecosonda que obtiene el primer perfil completo del océano Atlántico.
1942.	Es publicado el primer texto moderno de referencia "The Oceans" escrito por Sverdrup, Johnson y Fleming.
1960.	Jacques Piccard y Don Walsh alcanzan la mayor profundidad oceánica a bordo del batiscafo Trieste.
1968.	Se obtienen por el buque Glomar Challenger los primeros cores que indican la edad de la corteza terrestre y se confirma la teoría de tectónicas de placas.
1974.	El proyecto "Famous" (French-American Mid-Ocean Undersea Study) cartografía y toma muestras de la dorsal medio-Atlántica.
1977.	El sumergible "Alvin" encuentra las fuentes hidrotermales en la ruptura de las islas Galápagos.
1978.	Se ponen en órbita el "Seasar", primer satélite dedicado al estudio de los océanos.
1991.	Investigadores del JOI hacen un agujero de dos kilómetros de profundidad por debajo del lecho oceánico frente a las islas Galápagos.

empezó a mirarse al mar como posible tema científico, primero como una ayuda a la navegación, apareciendo la primera corriente oceánica en una carta marina (Franklin en 1753), y después como curiosidad científica, v.g., las primeras muestras de agua profunda y sedimento (Ross en 1818) ó la primera observación del plancton (Oersted en 1847). En esas fechas se idearon los primeros instrumentos necesarios para la obtención de muestras de sedimento (Fig.3) y de agua marina (Fig.4).

La expedición del Challenger (1872-76) suele considerarse como el punto de partida (Tabla 2) para las ciencias marinas. Este viaje surgió para verificar la hipótesis de que no existía vida por debajo de los 500 m. Recorrió todos los océanos en un viaje de 69.000 millas, realizando 492 sondeos, 263 medidas de la temperatura y toma de muestras de agua del mar y 284 operaciones de sondeo. El resultado fue un extenso cúmulo de conocimientos que abrieron la puerta del conocimiento a los mares (Tabla 2). Un ejemplo de ello fueron los 750 géneros nuevos y 4417 especies descubiertas. Con sus muestras de agua oceánica Dittmar determinó las sales marinas más abundantes. El interés por el medio marino creció grandemente desde entonces y surgieron instituciones dedicadas a su estudio, como la Comisión Internacional para la Exploración de los Mares (1902), el Museo Oceanográfico de Mónaco (1906), o el “International Hydrographic Bureau” (1921).



**Figura III.** Algunos de los primeros instrumentos utilizados para la toma de muestras de sedimento. A la izquierda, sonda de Lucas (1878) empleada con su máquina de sondeo en trabajos para la “Telegraph Construction and Maintenance Company” y a la derecha sonda utilizada por el servicio Hidrográfico del Almirantazgo inglés (1857).

Posteriormente, los avances técnicos aceleran el conocimiento de los océanos (Tabla 2). La primera ecosonda fue utilizada en el B/O alemán Meteor para obtener un perfil completo del océano Atlántico; la escafandra submarina autónoma (Cousteau y Gagnan, 1943) nos permitió adentrarnos en un mundo submarino donde el batiscafo Trieste (Piccard y Walsh, 1960) alcanzó la mayor profundidad oceánica. Los avances no terminaron en el fondo de los mares sino que se le perforó para obtener la confirmación de la teoría de la tectónica de placas (expedición del buque "Glomar Challenger" en 1968) y alcanzar el reciente descubrimiento de las fuentes hidrotermales por el sumergible Alvin (1977) en la ruptura de las islas Galápagos. Actualmente, los medios técnicos han proporcionado una nueva visión de los mares mediante los satélites, siendo el Seasat (1978) el primero en ponerse en órbita.

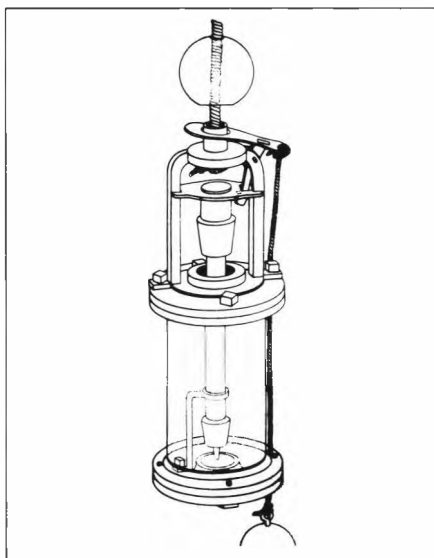


Figura IV. Botella hidrográfica de Marcet. Alexandre Marcet (1770-1822) fue uno de los primeros químicos interesados en el análisis de agua de mar. Después de varios modelos, construyó la botella hidrográfica de la figura, la cual trabajaba a cualquier profundidad. Una vez situada a la profundidad deseada, se le enviaba desde el barco un peso esférico por el cable que accionaba un mecanismo de cierre hermético. Fue utilizada en varias expediciones como la de W. Parry al Ártico (1819-1820).

### 3.- La Biogeoquímica Marina, una ciencia joven.

El compartimento de los océanos tiene una antigüedad de unos 4000 millones de años y su composición ha variado poco desde su origen. Aunque el oxígeno es el elemento más abundante en peso (86%), los cationes y aniones que contienen a los elementos mayoritarios (Cl, Na, Mg, S, Ca, K, Br, C, Sr, B, F) suponen el 99,9 % del contenido total de iones en el agua de mar.

Si el agua de los océanos fuera una mezcla perfecta tendría una temperatura de 3,9 °C y una salinidad de 34,48; sin embargo, sobre él actúa la energía solar, directamente o a través de los vientos, haciendo que su medio se vuelva anisótropo. Junto con estos factores físicos ocurren otros de origen geoquímico y biológico, esto es, procesos denominados biogeoquímicos, cuya actividad es estudiada por la Biogeoquímica Marina.

TABLA 3.

Perfiles característicos y posibles mecanismos de control en el océano para algunos elementos y compuestos químicos.

Tipo de perfil	Ejemplos	Mecanismos
1. Similares a la salinidad	Na, K, Mg, SO <sub>4</sub> , F, Br	Elementos conservativos de muy baja reactividad.
2. Enriquecimiento superficial del mar	<sup>210</sup> Pb, Mn <sup>90</sup> Sr, Pb NO As(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub>	Entrada atmosférica -natural -polución -fotoquímicos Producción biológica.
3. Disminución en la zona fótica y enriquecimiento en las profundidades del océano	Ca, Si, ΣCO <sub>2</sub> , NO <sub>3</sub> , PO <sub>4</sub> , Cu, Ni	Utilización biológica y regeneración.
4. Máxima a profundidad media 3000 m 200-1000 m	<sup>3</sup> He, Mn, CH <sub>4</sub> , <sup>222</sup> Rn <sup>3</sup> H Mn, NO <sub>2</sub>	Entrada hidrotérmica Transporte Procesos redox en mínimo de oxígeno.
5. Enriquecimiento en el agua próxima al fondo	<sup>222</sup> Rn, <sup>228</sup> Ra, Mn, Si	Explotación desde el sedimento
6. Disminución en la capa profunda de los océanos	<sup>210</sup> Pb, <sup>230</sup> Th, Cu	Deposición sobre material particulado.

La denominación de Biogeoquímica fué propuesta por Vernadsky en el año 1926 para una sub-disciplina de la geoquímica dedicada al estudio del ciclo de los “elementos de la vida”, esto es, al carbono, oxígeno, nitrógeno, azufre y fósforo. Actualmente, la biogeoquímica abarca a los demás elementos de manera que un ciclo biogeoquímico se refiere a cualquier elemento o compuesto en su ciclo global o parcial. Se ha llegado por este camino a proponer perfiles característicos de comportamiento en el océano (Tabla 3). Estos irían desde unos típicos para elementos y compuestos muy poco reactivos, como por ejemplo sodio y sulfato respectivamente, hasta otros con cambios relativamente rápidos, como calcio y nitrato.

### 3.1.- El ciclo del fósforo

Un buen ejemplo de lo que supone la biogeoquímica marina y de la terminología que emplea se puede observar en el ciclo del fósforo. Este es uno de los elementos más importantes ya que participa o controla los principales procesos bioquímicos que ocurren en la biosfera. El fósforo, via fosfato, interviene en reacciones bioquímicas fundamentales para la vida al estar unido por enlaces éster a complicadas moléculas orgánicas, vg. ácidos nucleicos, DNA o RNA; el fosfato también juega un papel central en la transmisión y control de la energía química por procesos de hidrólisis del ATP. Debido a que esos compuestos son abundantes en todos los organismos, el fósforo es uno de sus mayores componentes: el fitoplancton marino contiene de 105 a 125 átomos de carbono por cada átomo de fósforo.

Este elemento difiere de otros, como oxígeno, nitrógeno o carbono, en varios aspectos:

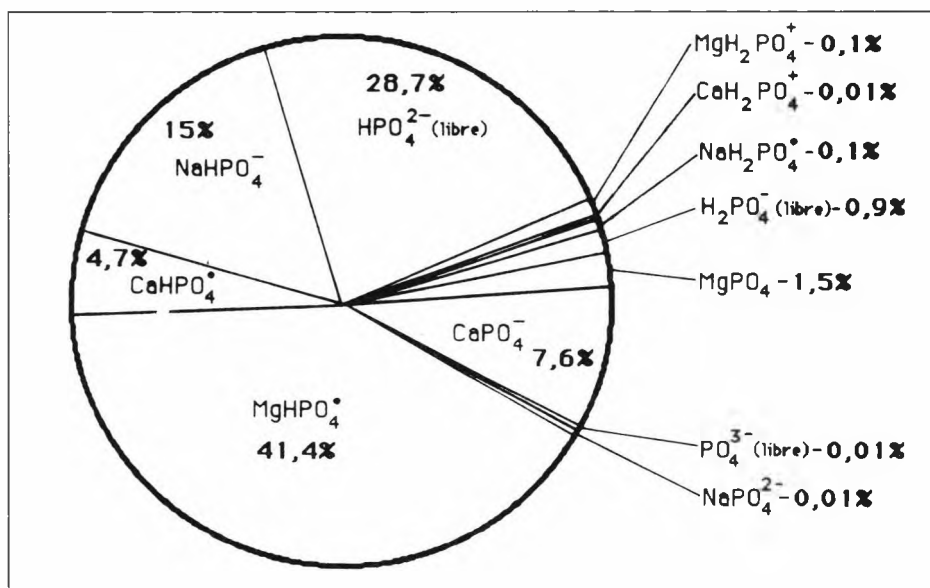


Figura V. Especiación del fosfato en el agua de mar (34,8 usp; 20° C; pH=8,0).

a) en medios naturales no han sido encontradas formas gaseosas del fósforo en cantidades significativas;

b) las reacciones de oxidación-reducción juegan un papel menor en el control de la reactividad y distribución del fósforo en ambientes naturales, i.e. el fósforo se halla casi siempre presente en estado de oxidación V.

Por ello, en general, el ciclo biogeoquímico del fósforo es sinónimo del del ciclo del fosfato.

La diferente especiación del fosfato en agua de mar se muestra en la Fig.5. Resulta obvio que los pares iónicos con cationes disueltos tienen un papel importante en el control de la especiación, donde el trianión constituye una parte muy pequeña del fosfato presente. La forma más abundante de fosfato al pH del agua de mar es su dianión.

### 3.1.1.- En los océanos

El ciclo (sistema formado por dos o más compartimentos conectados entre si, donde una parte de su materia es transferida a través del sistema de una forma cíclica) global del fósforo en la biosfera se puede abordar en base a distintos compartimentos (cantidad de materia, que pueda considerarse como homogénea, definida por ciertas características físicas, químicas o biológicas). De acuerdo con Lerman et al. (1975), un balance (resultado de todos los flujos que atraviesan un compartimento) para ciclo del fósforo sería el expuesto en la Fig.6.

En esa figura y en la Tabla 4, se representan de forma global la cantidad de fósforo contenida en los distintos compartimentos y los principales caminos por los cuales el fós-

**TABLA 4.**

*Tiempos de residencia del fósforo en los distintos compartimentos de la Fig. 6.*

Compartimentos	Reserva (Tg)	Intercambio (Tg/año)	Tiempo de residencia (años)
Atmósfera	0,028	4,5	0,006 (53 horas)
Biota terrestre	3000	63,5	47,2
Tierra	200000	88,1	2270
Biota oceánico	138	1040	0,1327 (48 días)
Superficie del océano	2710	1058	2,56
Océano profundo	87100	60	1452
Total sistema del océano	89810	1,9	47270
Sedimento	4000000000	21,4	187000000

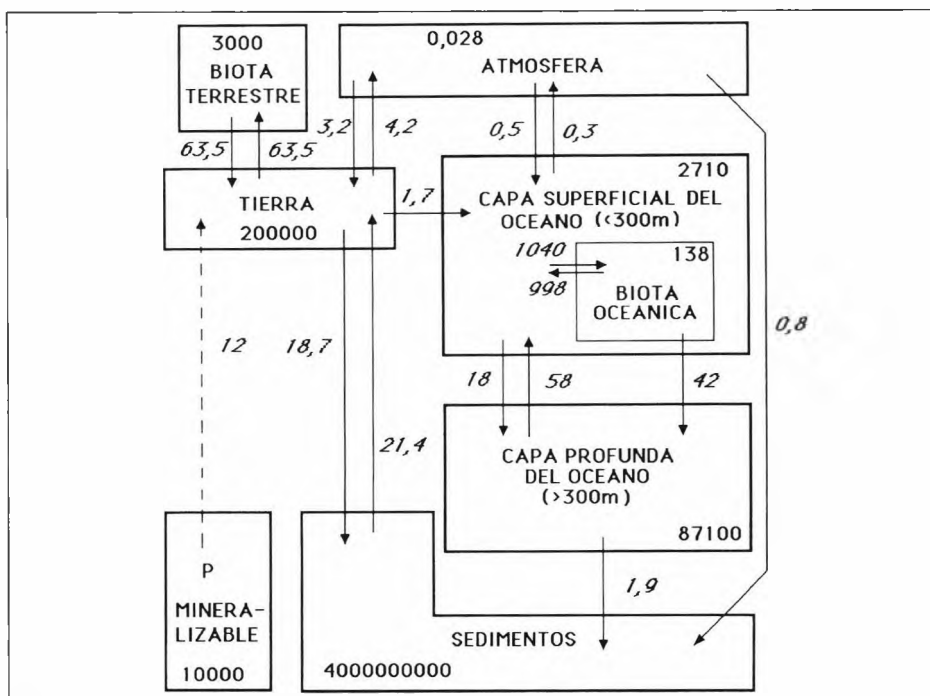


Figura VI. Balance del ciclo global del fósforo. Los contenidos en los compartimentos y los flujos entre ellos se hallan expresados en  $10^{12}$  g.

foro es transportado entre ellos. Los flujos (cantidad de materia transferida entre dos compartimentos por unidad de tiempo) entre la tierra y la atmósfera son pequeños. Es debido, como se comentó, a que en la naturaleza no se forman prácticamente compuestos gaseosos de este elemento, por consiguiente, ese transporte corresponderá a fósforo particulado.

La circulación normal de los océanos causa un flujo de fósforo entre la capa superficial y la profunda de los océanos debido a la utilización biológica del fosfato en la zona fótica. El mayor intercambio de fósforo entre compartimentos ocurre entre la capa superficial del océano y la biota oceánica en respuesta a la producción primaria. El compartimento correspondiente a la biota marina es la mayor fuente (flujo hacia dentro de un compartimento) y sumidero (flujo saliente de un compartimento) de fósforo, con flujos en torno a 1000 Tg anuales. El relativamente pequeño contenido de fosfato, 137 Tg, en la biota oceánica indica un rápido intercambio de fósforo. La mayor parte del reciclado ocurre en el agua superficial, como se deduce del flujo casi igual del fósforo remineralizado. Sin embargo, una pequeña fracción, el 4% del fósforo orgánico se hunde hacia el fondo del océano donde es descompuesto o incorporado al sedimento. Solamente un 1,4 % (1,9:138) del biota oceánico se incorpora al sedimento, compartimento que contiene la mayor reserva de fósforo (Fig.6).

El compartimento del fósforo mineralizable no se encuentra en estado estacionario (cuando el contenido de un compartimento no cambia con el tiempo) ya que no tiene nin-



guna fuente de fósforo, lo que haría incorrecto el ciclo global representado. Ello se debe a que la formación de depósitos mineral de fosfato es muy lenta para ser incluida en la representación de la Fig.6, es decir, su fuente sería prácticamente cero en comparación con los otros flujos.

Por lo tanto, el ciclo del fósforo de la Fig.6 se puede considerar en estado estacionario y es posible entonces calcular los tiempos de residencia (cantidad total de materia en un compartimento dividido entre el flujo total de entrada o salida para ese compartimento) en los distintos compartimentos (Tabla 4). Ya que el tiempo de residencia de un elemento o compuesto en un compartimento refleja la reactividad de ese elemento, un corto período sugiere que las reacciones son rápidas. Es obvio en la Tabla 4 que el tiempo de residencia del fósforo en la atmósfera es extremadamente corto (53 h), lo cual no se debe a reacciones químicas sino a una rápida deposición del fósforo particulado que llega a la atmósfera. Se obtiene más información al comparar los tiempos de residencia del fósforo entre el biota terrestre y el oceánico: en el marino la incorporación del fósforo es 16 veces mayor aunque su contenido es solo el 5% del terrestre. Así, el tiempo de residencia del fósforo en el medio marino es una buena muestra del ciclo de este elemento, el cual es de 48 días en el biota; 2,6 años en la capa superficial del océano; y 1400 años en el océano profundo. Todo ello sugiere que el fósforo es reciclado rápidamente dentro del océano, aunque su tiempo de residencia en el océano sea de 47.270 años (Tabla 4), es decir, que cada átomo de fósforo es reciclado 47 veces en el océano antes de terminar en el sedimento.

### 3.1.2.- En las costas: el caso de una ría gallega.

La investigación de la biogeoquímica del fosfato en una zona costera como la ría de Vigo, se ha realizado con un modelo de dos compartimentos: uno superior, que abarca el agua saliente de la ría y otro inferior, que corresponde al agua marina subsuperficial entrante. Ello es posible debido a que una ría presenta una circulación residual positiva.

Los flujos de fosfato en los dos compartimentos se obtienen multiplicando el caudal de agua (Prego y Fraga, 1992) por su concentración de fosfato. De esta forma, se obtiene el flujo de fosfato en el agua dulce, y el balance entre los flujos entrante y saliente,  $F_i - F_o$  en la Tabla 5. Junto con los transporte de materia coexisten flujos biogeoquímicos causados porque el fosfato interviene en reacciones de absorción-desorción, Tabla 5. Este valor ha sido calculado mediante el balance de un parámetro independiente de la actividad biológica (PO; Prego, 1993). Un balance de los anteriores flujos en cada compartimento ofrece el dato del fosfato utilizado en la fotosíntesis en el compartimento superior, que coincide con la zona fótica, y regenerado por la remineralización de fósforo orgánico en el compartimento inferior. El balance fotosíntesis-remineralización se halla recogido para siete fechas distintas en la Tabla 5. Se obtiene que el aporte de fósforo fluvial en invierno es alto e incluso hay una desorción de fosfato en el sedimento. Como era de esperar, la actividad biológica es muy importante en primavera y verano duplicándose o triplicándose si hay afloramiento. La ría retiene fosfato durante casi todo el año, excepto en momentos de alto caudal fluvial.

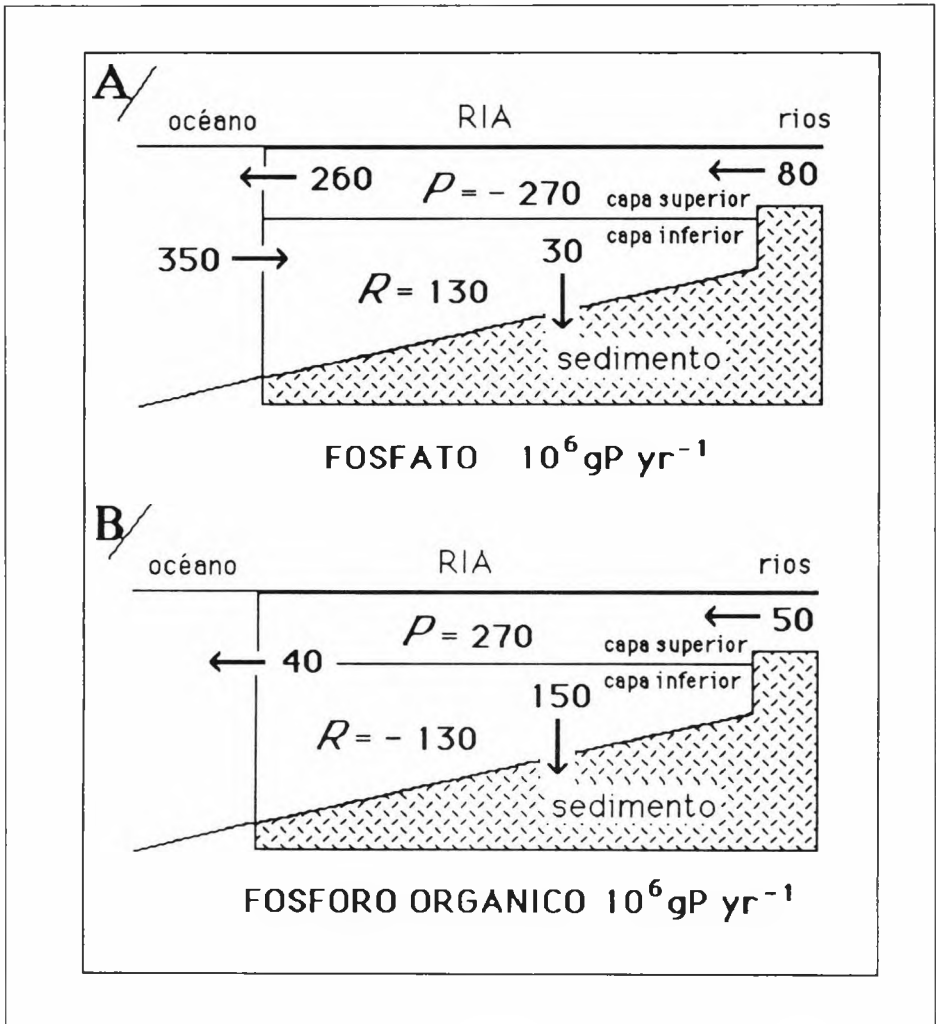


Figura VII. Balance anual para la ría de Vigo de fósforo inorgánico (A) y orgánico (B). Un signo negativo indica la existencia de un sumidero y uno positivo de una fuente; las flechas obvian los signos.

Utilizando el modelo en condiciones cuasi-estacionarias se obtiene el balance anual del fosfato y fósforo orgánico, Fig. 7. Se observa en él que la ría se comporta como un reactor biogeoquímico de fosfato: anualmente recibe 350 Mg P desde el mar y 80 Mg P desde los ríos, de los cuales 260 Mg P a<sup>-1</sup> son exportados al océano.

La ría, respecto al agua marina exterior, actúa como un sumidero de 90 Mg a<sup>-1</sup> de fosfato y una fuente de 40 Mg P a<sup>-1</sup> de fósforo orgánico. Por otra parte, el agua de la ría utiliza en la fotosíntesis una cantidad alta, 270 Mg P a<sup>-1</sup> de fosfato, de la cual es remineralizada aproxi-

**TABLA 5.**

*Intercambio de fosfato en la ría de Vigo. Unidades en molP s<sup>-1</sup>.*

	28 February	5 March	26 May	31 May	7 July	4 September	3 October
Freshwater	+ 0.21	+ 0.08	+ 0.06	+ 0.04	+ 0.06	+ 0.05	+ 0.07
A-D fosfato	- 0.05	- 0.08	0.00	+ 0.04	- 0.02	- 0.01	- 0.02
P + R	+ 0.13	- 0.08	- 0.21	-0.36	- 0.13	- 0.49	- 0.19
F <sub>i</sub> - F <sub>o</sub>	- 0.29	+ 0.08	+ 0.15	+ 0.28	+ 0.09	+ 0.45	+ 0.14

*Un signo positivo corresponde a una entrada en la ría y uno negativo a una salida.*

A-D: adsorción-desorción de fosfato

P+R: fosfato utilizado en la fotosíntesis (-) o remineralizado (+)

F<sub>i</sub> - F<sub>o</sub>: balance del fosfato entrante y saliente de la ría.

madamente la mitad. El resultado neto anual de la actividad biogeoquímica en la ría la hace semejante a una trampa de fósforo que retiene el 38% del que llega a la ría, de esta manera su lecho recibe anualmente 150 Mg de fósforo orgánico y 30 Mg de fósforo inorgánico.

### **Agradecimientos**

Deseo dar las gracias al Comité Organizador, en general, y a los Dres. José López Ruíz y Abelardo Gómez Parra, en particular, por su amable invitación para asistir al VII Seminario de Química Marina, así como expresar mi reconocimiento a la provechosa labor realizada en favor del desarrollo de esta disciplina.

### **Bibliografía**

- Baretta-Bekker J.G. Duursma E.K. y Kuipers B.R. (1992). Encyclopedia of marine sciences, 311 pp. Springer Verlag.
- Broecker W.S. y Peng T.-H. (1982). Tracers in the sea, 317 pp. Lamont-Doherty Geological Observatory.
- Degens E. T. (1989). Perspectives on Biogeochemistry, 423 pp. Springer Verlag.
- Froelich P.N. Bender M.L. Luedtke N.A. Heath G.R. y DeVries T. (1982). The marine phosphorus cycle. American Journal of Science, 282: 474-511.
- Garrison T. (1993). Oceanography: an invitation to marine science, 540 pp. Wadsworth.
- Gorham E. (1991). Biogeochemistry: its origins and development. Biogeochemistry, 13: 199-239.

- Lerman A. Mackenzie F.T. y Gerrels R.M. (1975). Modelling of geochemical cycles: phosphorus as an example. Geological Society of America, 142: 205-218.
- Prego R. (1990). Las sales nutrientes en las rías gallegas. Informes Técnicos Scientia Marina, 157: 33 pp.
- Prego R. (1993). Biogeochemical pathways of phosphate in a Galician ria (NW Iberian Peninsula). Estuarine, Coastal and Shelf Science, 37: 437-451.
- Prego R. y Fraga F. (1992) A simple model to calculate the residual flows in a Spanish ria. Hydrographic consequences in the ria of Vigo. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 34: 603-615.
- Riley J.P. y Chester R. (1989). Introducción a la química marina, 459 pp. A.G.T. Editor.
- Schlesinger W.H. (1991). Biogeochemistry: an analysis of global change, 443 pp. Academic Press, Inc.



## CONFERENCIA 2



## EL TRIAD, UN MÉTODO INTEGRADO PARA EVALUAR LA CALIDAD AMBIENTAL DE SEDIMENTOS MARINOS

*J.M. Forja*

Departamento de Química Física, Facultad de Ciencias del Mar. Universidad de Cádiz.  
Campus Río San Pedro. 11510, Puerto Real, Cádiz.

### CRITERIO DE CALIDAD AMBIENTAL

El concepto de criterio de calidad ambiental se encuentra íntimamente relacionado con la diferencia que existe entre los términos anglosajones contaminación y polución (GESAMP, 1980; 1990). La introducción por parte del hombre de materia o energía dentro del medio ambiente marino puede dar lugar a diferentes respuestas en los ecosistemas receptores:

- Pueden producir efectos perjudiciales que dañen los recursos vivos, pongan en peligro la salud humana u obstaculicen las actividades marinas incluyendo la pesca. Para el GESAMP este tipo de respuesta se corresponde con el término polución.
- Por otra parte, estos aportes antropogénicos pueden no producir efectos perjudiciales sobre los recursos marinos. En este caso, se propone la utilización del término contaminación.

En este sentido, los criterios de calidad ambiental tienen como objetivo fundamental fijar los límites entre las concentraciones de sustancias que son nocivas para el estado de un ecosistema y las que pueden ser asimiladas sin causar efectos aparentes.

El establecimiento de criterios de calidad ambiental no es un problema simple. Por una parte va a depender las características del vertido, tales como cantidad y variabilidad, concentración y tipo de sustancias contaminantes, así como de sus condiciones fisicoquí-



micas (salinidad, temperatura, concentración de oxígeno, pH, potencial redox, etc.). Además el efecto que provocan sobre el ecosistema va a estar condicionado por sus propias características globales, como la distribución de organismos vivos, características fisicoquímicas de los distintos compartimentos que lo forman, tipo de sustrato sedimentario, profundidad, régimen de corrientes, etc.

Hasta el momento, se han utilizado como criterios un elevado número de medidas que recogen solo un aspecto parcial del problema, fundamentalmente el efecto que producen distintas sustancias sobre las características bioquímicas, genéticas, fisiológicas, patológicas, etológicas o estructurales del ecosistema. El problema de estas medidas es que son difícilmente extrapolables a las condiciones reales que existen en los ecosistemas, donde a menudo se encuentran mezclas complejas de sustancias tóxicas y en los que existen frecuentes cambios biológicos y fisicoquímicos, muchos de ellos motivados por fenómenos naturales.

Parece conveniente la medida de índices más globales y que respondan a los “síntomas” que generalmente se aprecian para un ecosistema dañado. Rapport (1989) recoge algunas de estas variaciones típicas.

- Aumento de la circulación de sustancias contaminantes
- Disminución de la productividad primaria y una pérdida de nutrientes
- Desaparición progresiva de las especies más sensibles.
- Cierta inestabilidad en la composición del sistema y sus poblaciones
- Cambio en el espectro hacia formas de vida de menor tamaño

De esta forma, los criterios de calidad ambiental responderían a su principal objetivo: Clasificar las zonas según su grado de deterioro ambiental con objeto de que puedan tomarse las medidas necesarias para la recuperación de los ecosistemas dañados.

## LOS SEDIMENTOS COMO CONTROL DE CALIDAD

Muchos de los contaminantes orgánicos e inorgánicos que se producen como consecuencia de la actividad antropogénica son transportados, tanto en disolución como asociado al material particulado, desde las zonas continentales hacia los océanos. En general se tratan de compuestos muy reactivos, con gran tendencia a incorporarse a fases sólidas a través de diferentes mecanismos (e.g., Salomons *et al.*, 1987). Por esta razón, numerosos autores consideran a los sedimentos como un elemento de una importancia transcendental para el hábitat acuático (Luoma y Ho, 1992; Luoma, 1983, 1989; Chapman, 1989).

Aunque cronológicamente comenzaron a desarrollarse criterios de calidad aplicados al agua, existen importantes razones para justificar el desarrollo de criterios de calidad de sedimentos:

- Muchos contaminantes poseen baja solubilidad en agua y, en general, presentan una elevada afinidad por la materia particulada (Katz *et al.*, 1977; Feltz, 1980; Meiggs, 1980). Este hecho explica las diferencias de concentración encontradas entre el agua

y el sedimento para muchas especies tóxicas, que en algunos casos, como el de los bifenilos policlorados, pueden ser de hasta 5 órdenes de magnitud (Shea, 1988).

- Los compuestos contaminantes suelen poseer tiempos de residencia relativamente altos en los sedimentos, donde tienden a acumularse progresivamente (Shea, 1988). Este hecho provoca que la representatividad de las muestras de sedimento sea mucho más alta que en el caso del agua, donde suelen existir importantes variaciones temporales y espaciales.
- Los organismos que viven en el sedimento, o bien se alimentan o están en contacto con él, están sometidos a niveles de sustancias tóxicas más altas que en el agua sobrenadante (Chapman, 1992; Luoma *et al.*, 1992).
- Los sedimentos poseen un carácter potencialmente tóxico, ya que puede afectar a las concentraciones de contaminantes en la columna de agua como consecuencia de numerosos procesos de adsorción-desorción y la posterior difusión de estas especies a través del agua intersticial (Krizek y Raphaelian, 1977; Lu y Chen, 1977; Davis, 1980; Luoma *et al.*, 1992).

Estas consideraciones han inducido a diferentes organismos de regulación, fundamentalmente a la EPA en EE.UU. y la CCEM en Canadá, a potenciar programas específicos destinados a desarrollar criterios de calidad de sedimentos. En Europa, parece existir en los últimos años una concienciación de la importancia de este tipo de estudios por parte de distintos organismos (ECETOC, 1987; 1990) y de algunos grupos de investigadores (e.g., Stebbing *et al.*, 1992).

## NIVELES DE CONCENTRACION DE CONTAMINANTES

Los niveles de concentración de contaminantes no constituye un buen criterio de calidad de sedimento. Los compuestos contaminantes una vez que acceden al fondo, experimentan distintos procesos de repartición entre las diferentes fases que componen el sedimento. Estos procesos de redistribución están regidos por la propia constitución del sedimento, así como por las condiciones fisicoquímicas del medio (Förstner y Williams, 1981; Louma, 1990). En lo que respecta a los metales, una fracción de ellos puede quedar inmovilizados al incorporarse a fases poco reactivas del sedimento y otra fracción puede enlazarse débilmente a fases orgánicas o minerales. Por otra parte, los compuestos orgánicos de síntesis (detergentes y organoclorados) y los hidrocarburos fósiles, su concentración en las zonas interfaciales del sistema, especialmente en los sedimentos, se produce a través de un amplio espectro de mecanismos con fuerza de interacción diferentes. En cualquier caso, parece claro que sólo una fracción de las sustancias acumuladas en los sedimentos está disponible y pueden, por tanto, ser asimiladas por los organismos bentónicos tanto detritívoros como suspensívoros.

Hasta el momento, se han sugerido numerosos procedimientos selectivos de extracción de contaminantes en sedimentos (e.g., Loring y Rantala, 1992), que tienden a medir la concentración que está biodisponible, aunque es conocido que ninguno de estos tratamientos químicos constituye una medida realista de su biodisponibilidad. Con objeto de corregir esta

deficiencia, se están determinando en la actualidad los coeficientes de reparto entre el sedimento y el agua intersticial para numerosos compuestos tóxicos, tanto orgánicos como inorgánicos (Chapman *et al.*, 1987, 1990; Campbell *et al.*, 1988; Arjonilla *et al.*, 1994). Aunque los valores de estas constantes de reparto suelen normalizarse con respecto al contenido de carbono orgánico, existen importantes variaciones de unos lugares a otros, que es consecuencia de la diferente naturaleza de materia orgánica y a la propia granulometría del sedimento. Por esta razón, los datos bibliográficos sólo permiten una estimación de la concentración de especies en agua a partir de las medidas de concentración total en sedimento.

Además de reconocer el tipo de contaminantes presentes en el sedimento, así como cuantificar sus concentraciones, los criterios de calidad ambiental han de evaluar el efecto que estos poseen sobre los organismos.

## BIOENSAYOS DE TOXICIDAD

Esta evaluación puede realizarse bajo condiciones controladas en el laboratorio mediante muy diversos bioensayos de toxicidad. Los más simples se llevan a cabo en agua que contiene una concentración conocida de un determinado contaminante. La combinación de este tipo de bioensayos con datos de concentraciones de sustancias tóxicas en el sedimentos y la aplicación de los correspondientes coeficientes de reparto es actualmente considerado como un criterio de calidad ambiental de sedimento (Long y Morgan, 1991). Esta técnica posee el inconveniente, además de la propia incertidumbre de los coeficientes de reparto, de que la base de datos toxicológicos aunque amplia sólo incluye el efecto de un determinado contaminante o de mezclas simples sobre diversos organismos, y su extrapolación a mezclas complejas e interactivas es, cuanto menos, arriesgada.

Los bioensayos realizados en sedimentos pueden ser usados de diferentes formas con objeto de desarrollar criterios de calidad de sedimentos. En la técnica denominada “spiked sediments” (Giesy y Hoke, 1990) se añade sobre un sedimento no contaminado y bien caracterizado distintas cantidades de contaminantes individuales o mezclas, y se determina la respuesta tóxica. Si se tiene en cuenta que en condiciones reales las mezclas de contaminantes son complejas y que suelen producirse fenómenos de sinergismo o aditividad, el número de mezclas y concentraciones necesarias para establecer una base de datos que sea útil es extremadamente grande.

Otro procedimiento consiste en poner en contacto el sedimento de la zona a estudiar, o bien los contaminantes que provienen del él, con los distintos organismos, y determinar cual es el efecto que induce en los organismos expuestos. Este tipo de bioensayos es especialmente útil para medir la toxicidad de sedimentos, ya que son los que más se aproximan a las condiciones reales del ecosistema (Del Valls, 1995).

## ALTERACION DE LAS COMUNIDADES BENTONICAS

Además del conocimiento de las concentración de los contaminantes presentes y de su toxicidad en condiciones controladas, es deseable que los criterios de calidad de sedi-

mentos incluyan el efecto que producen sobre las comunidades bentónicas del ecosistema. La conveniencia de estudiar los efectos “in situ” sobre organismos bentónicos se plantea como consecuencia de la gran variabilidad que las condiciones hidrológicas, las características fisicoquímicas y la naturaleza de los aportes antropogénicos tienen en los sistemas litorales, y que “a priori” son difícilmente reproducibles en el laboratorio. Además existen otros procesos de tipo biológico, como la bioturbación, que puede potenciar en gran medida la transferencia de contaminantes entre las fases sólidas y el agua intersticial, y por lo tanto, su biodisponibilidad. La determinación de la toxicidad “in situ” de sedimentos marinos se realiza, fundamentalmente, mediante alguna de las siguientes técnicas:

- Cuantificación de la bioacumulación en tejidos de organismos capturados en la zona
- Estudios de daños patológicos en organismos
- Evaluación del grado de alteración de la estructura de las comunidades bentónicas

## MÉTODOS INTEGRADOS PARA EVALUAR LA CALIDAD AMBIENTAL

De una forma idealizada, un criterio de calidad de sedimentos debería recoger la mayor información posible sobre el estado del ecosistema, proveniente de medidas de concentración en sedimentos, bioensayos de toxicidad y perturbación de las comunidades bentónicas. En este sentido, se consideran métodos integrados aquellos que incluyen, al menos, dos de estos tres tipos de información. Aunque existan varios métodos integrados con una menor difusión (e.g., Cairns *et al.*, 1984; JRB, 1984; Neff, 1985; Mudroch *et al.*, 1986, Shea, 1988) en la actualidad se está potenciando el desarrollo de dos de ellos.

El método AET (“Apparent Effects Threshold”) (Long y Morgan, 1981; Tetra Tech., 1985) se basa en la utilización conjunta de niveles de contaminantes en el sedimento y alguna técnica que suministre información acerca de la biodisponibilidad o de los efectos biológicos que producen, y que puede ser cualquier tipo de bioensayo o medidas de toxicidad “in situ”. A partir de los resultados disponibles en la bibliografía se constituye una base de datos individual para cada contaminante y, mediante un tratamiento estadístico adecuado, se establecen los intervalos de concentraciones asociado a una cierta probabilidad de que causen daños biológicos. La base de datos así obtenida es muy heterogénea, admitiendo como test de toxicidad para un determinado contaminante ensayos realizados en sedimentos reales, mezclas de contaminantes o de forma individual, respuestas biológicas de muy diferente índole y ecosistemas muy distintos dentro de zonas muy amplias. Sería necesario ampliar enormemente esta base de datos para que los resultados obtenidos por el AET fueran representativos de una situación generalizada y por lo tanto, aplicable como criterio de calidad ambiental de un ecosistema cualquiera, una vez conocida la concentración de sustancias tóxicas en sus sedimentos. De hecho, en el estado actual en que se encuentra, su validez está siendo cuestionada por la comunidad científica (Krueger *et al.*, 1989; Adams *et al.*, 1992).

El segundo método integrado que puede ser utilizado como criterio de calidad de sedimentos es el TRIAD (“Sediment Quality Triad”). Chapman y Long (1983) sugieren la necesidad de considerar de forma globalizada toda la información que pueda contribuir a

ofrecer una visión del “estado” de los sistemas acuáticos, como única vía para establecer el grado de calidad ambiental. Esta idea se aplica por primera vez en un trabajo financiado por la EPA (Long y Chapman, 1985).

A diferencia del AET, que requiere la utilización de una base de datos toxicológica, el TRIAD establece la calidad ambiental de los sedimentos de una zona de forma experimental. Se basa en la integración de la información que se obtiene a partir de tres tipos de medidas:

1. Concentración de contaminantes en sedimentos.
2. Bioensayos de toxicidad en sedimentos.
3. La alteración de las comunidades bentónicas, aunque los autores no descartan la utilización de otro tipo de estudios, como los daños histopatológicos o bioacumulación.

La información que suministra cada componente del TRIAD es única y complementaria, y su combinación es necesaria ya que cada componente por separado sólo suministra una visión parcial del grado de deterioro ambiental. En este sentido, la concentración de contaminantes no aporta información sobre su toxicidad, los bioensayos de toxicidad sobre sedimentos se realizan en el laboratorio y no recogen la situación real del ecosistema, mientras que la alteración de la macrofauna bentónica puede ser debida a fenómenos naturales, tales como la competición, predación, tipo de sedimento o temperatura (Warwick *et al.*, 1987; Gray *et al.*, 1988; Austen *et al.*, 1989; Ferraro *et al.*, 1991).

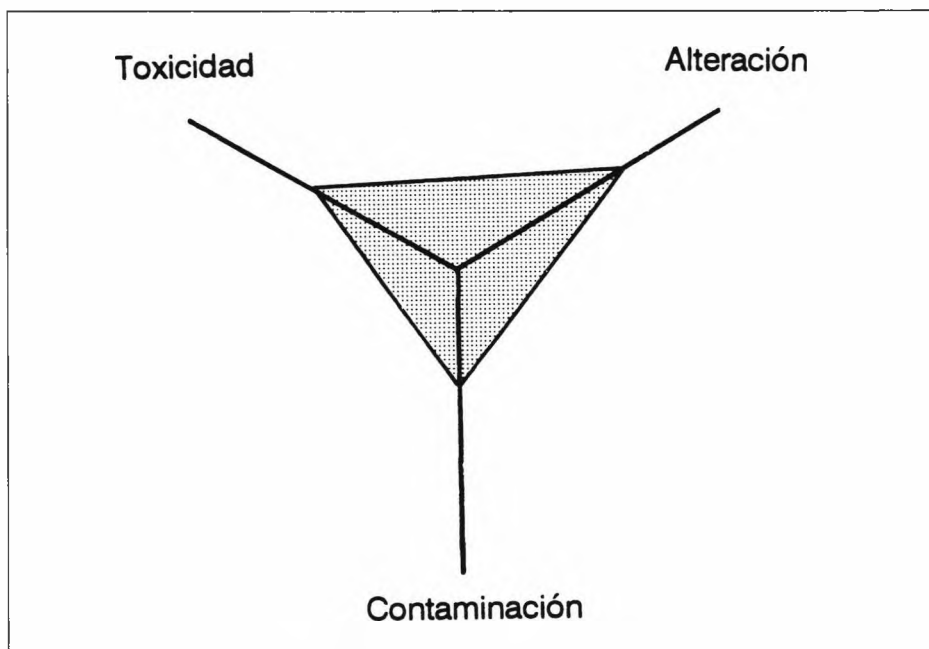
El TRIAD puede utilizarse de dos formas diferentes. Por una parte, permite profundizar en el estudio de las relaciones ecológicas que existen entre las características del sedimento y la biota, determinando las concentraciones de contaminantes que presentan daños biológicos. En este sentido la información obtenida podría incluirse dentro de la base de datos de métodos más predictivos como el AET. Aparte del interés científico de esta cuestión, la principal utilidad del TRIAD, es su aplicación como criterio de calidad de sedimentos, ya que permite clasificar, mediante una medida cuantitativa, el grado de deterioro ambiental de un ecosistema. De esta forma se puede establecer un programa de prioridades para futuras acciones de recuperación o predecir, mediante seguimientos temporales, el riesgo a que está expuesto un ecosistema.

Es evidente que para poder realizar esta cuantificación es necesario referir la información disponible a los valores obtenidos en una zona no contaminada, que constituye la zona de referencia. En este sentido, se obtienen los valores normalizados con respecto a esta zona de referencia de todas las determinaciones individuales como el cociente de los valores obtenidos en una zona o estación “i” y los de la zona de referencia.

$$RTR_i = X_i / X_{referencia}$$

De esta forma, los valores RTR (“Ratio To Reference”) son adimensionales, tienen generalmente valores mayores a 1 y aumentan a medida que el sistema se encuentra más degradado.

De forma operativa, la determinación de contaminantes, la realización de bioensayos de toxicidad y el análisis de la estructura bentónica deben realizarse sobre distintas alícuotas de una misma muestra de sedimento superficial bien homogeneizada. Toda la información que se obtiene se dispone sobre unos ejes isométricos, de forma que en cada uno de estos ejes se representa el valor medio de los RTR de todos los parámetros determinados en cada una de las tres partes del TRIAD (Fig. 1). El resultado final es la obtención de un triángulo, cuya superficie constituye una medida cuantitativa del grado de deterioro ambiental del sedimento. La forma de los triángulos suministra una información adicional sobre el comportamiento del sistema. Las situaciones extremas que pueden encontrarse son las siguientes. En la Fig. 2 se discuten las principales causas que originan las situaciones límites de las representaciones TRIAD (Chapman, 1990).



**Figura 1.** Representaciones TRIAD: La información disponible sobre los niveles de contaminantes en el sedimento, su toxicidad en base a bioensayos de laboratorio y la alteración de la macrofauna bentónica de los ecosistemas estudiados se dispone en ejes independientes.

Como parte del eje de contaminación deben incluirse, todos aquellos compuestos que poseen un compartimento potencialmente tóxico. A este respecto, en la tabla 1 se recogen los parámetros y sustancias propuestas por Chapman *et al.* (1991). Dentro de los contaminantes inorgánicos se incluyen los metales, fundamentalmente, el As, Fe, Cr, Cu, Cd, Pb, Hg, Ni, Ag, Se y Zn. Los contaminantes orgánicos suelen dividirse en cuatro grandes grupos: los hidrocarburos aromáticos de bajo peso molecular (LPAH), los hidrocarburos aro-

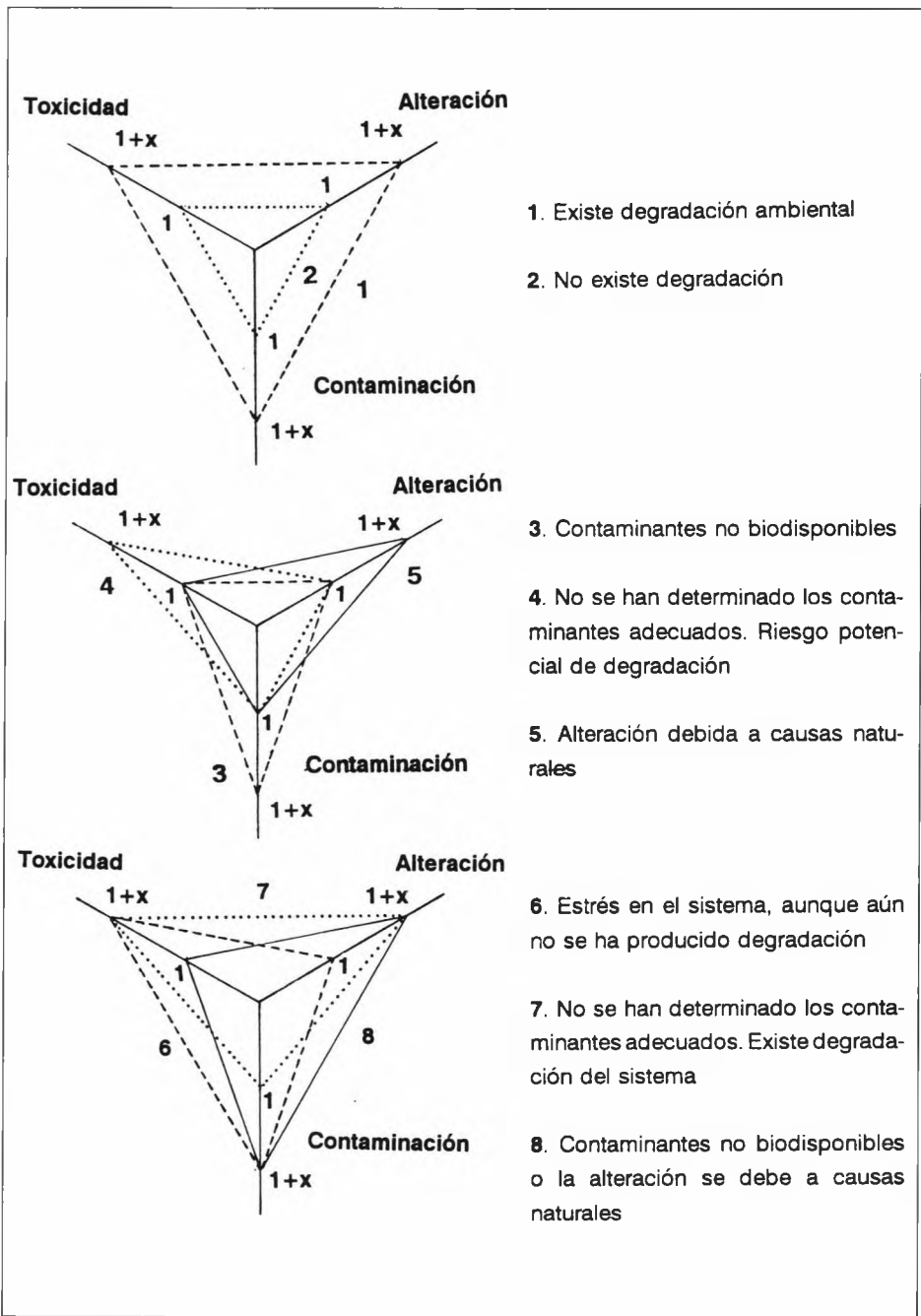


Figura 2. Esquema de las situaciones límite de las representaciones TRIAD (adaptado de Chapman, 1990).

máticos de alto peso molecular (HPAH), los pesticidas y otros hidrocarburos, donde generalmente se incluyen mezclas complejas de hidrocarburos derivados del petróleo.

A medida que aumenta el número de compuestos analizados, mayor es también la certeza de que se hayan incluido aquellos que producen efectos tóxicos en un determinado ecosistema. La determinación de la granulometría y del contenido del carbono orgánico total permiten la normalización de los datos con objeto de que puedan compararse distintos tipos de sedimentos. A este respecto, los análisis de los diferentes compuestos se realizan sobre la fracción limo-arcilla (inferior a 63  $\mu\text{m}$ ), y los valores RTR de cada parámetro individual es normalizado con respecto al contenido de materia orgánica en los sedimentos estudiados.

Granulometría del sedimento Carbono orgánico total	<b>Hidrocarburos aromáticos de alto peso molecular (HPAH)</b>
<b>METALES</b>	Pireno
Arsénico	Benzopireno
Hierro	Criseno
Cromo	Benzoantraceno
Cobre	Dibenzantraceno
Cadmio	Fluorantano
Plomo	<b>Otros hidrocarburos</b>
Mercurio	Bifenilos
Níquel	Coprostanol
Plata	<b>Hidrocarburos clorados</b>
Selenio	Aldrin
Zinc	Clordanos
<b>CONTAMINANTES ORGANICOS</b>	DDTs
<b>Hidrocarburos aromáticos de bajo peso molecular (LPAH)</b>	Dieldrin
Antraceno	Endrin
Naftaleno	Heptachlor
Naftalenos metilados	Hexaclorobenceno
Fluoreno	Lindano
Fenantreno	Mirex
Fenantrenos metilados	Bifenilos policlorados (PCBs)

**Tabla 1.** Relación de compuestos a determinar en estudios de contaminación de sedimentos marinos.



El eje de toxicidad se cuantifica mediante diferentes tipos de bioensayos. Las sustancias potencialmente tóxicas del sedimento pueden ponerse en contacto con los organismos a través de tres vías de exposición diferentes:

- *Fase sólida* cuando los organismos se ponen directamente en contacto con el sedimento
- *Fase disuelta* que consiste en una extracción de los contaminantes solubles en agua. Una vez filtrado, los bioensayos se realizarían sobre el extracto obtenido.
- *Agua intersticial* obtenida por centrifugación o extrusión del sedimento.

Las respuestas finales que se miden pueden ser de muy distinta naturaleza, ya bien efectos letales o subletales, relacionados con alteraciones del desarrollo, fisiológicas, etológicas o bioquímicas.

Interesa utilizar distintas clases de organismos que vivan, estén en contacto o se alimenten sobre el sedimento. En los bioensayos es aconsejable utilizar especies que pertenezcan a diferentes niveles dentro de la cadena trófica, en distinto estado de desarrollo y que sean sensibles a los gradientes de concentración. Otro requisito que deben cumplir los organismos empleados es que sean autóctonos.

Existen un número relativamente alto de bioensayos que reúnen estos requisitos. A modo de ejemplo, en la Fig. 3 se muestra la evolución temporal del porcentaje de enterramiento de una población juvenil de *Ruditapes philippinarum* cuando se somete a un gradiente de contaminación. Como zona de referencia se ha elegido sedimentos procedentes de las marismas del río Barbate, y se incluye el comportamiento en una estación sometida

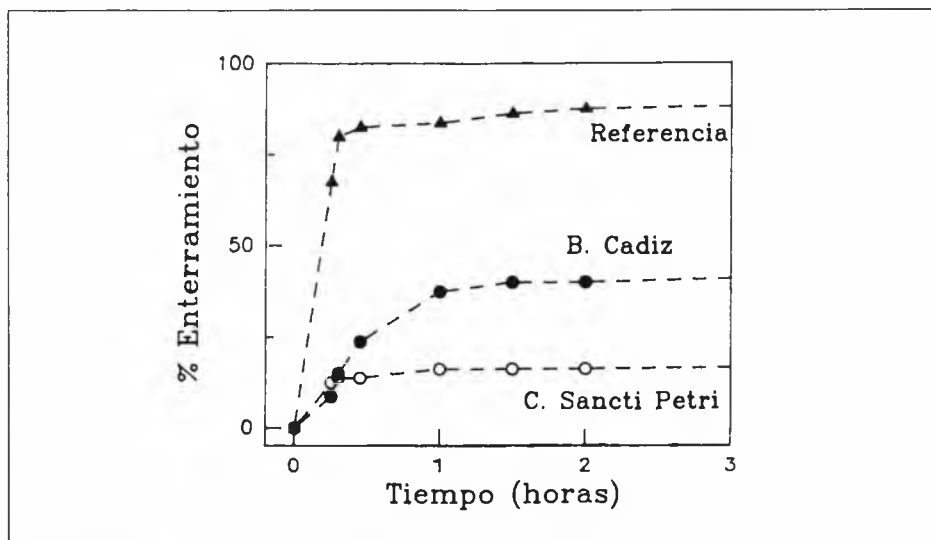


Figura 3. Variación del porcentaje de enterramiento en función del tiempo de *Ruditapes philippinarum* (bivalvo juvenil) en sedimentos de tres estaciones del golfo de Cádiz.

a un grado intermedio de contaminación en el saco interior de la Bahía de Cádiz y una zona muy contaminada en la parte central del caño de Sancti Petri.

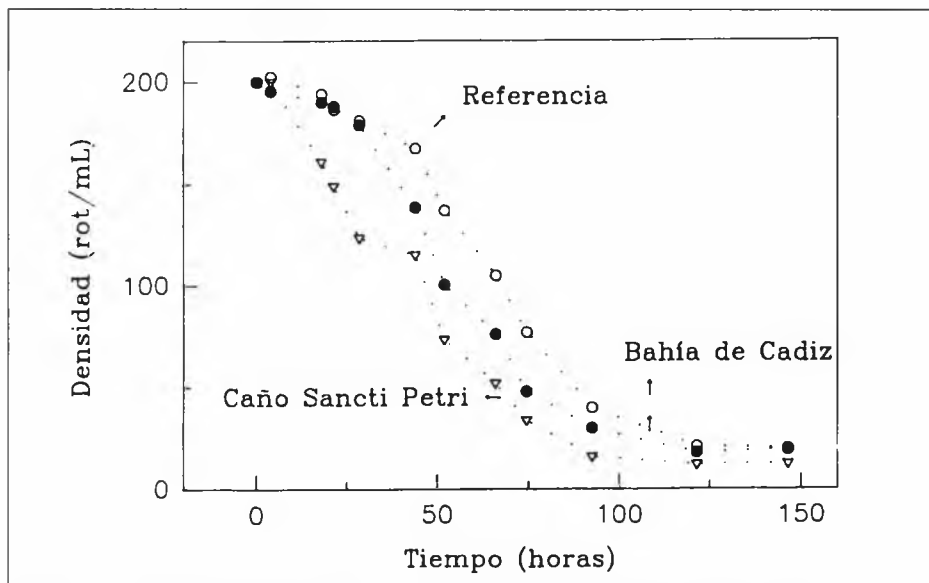


Figura 4. Decaimiento de poblaciones de *Brachionus plicatilis* (rotífero adulto) en contacto con el agua intersticial de sedimentos de tres estaciones del golfo de Cádiz.

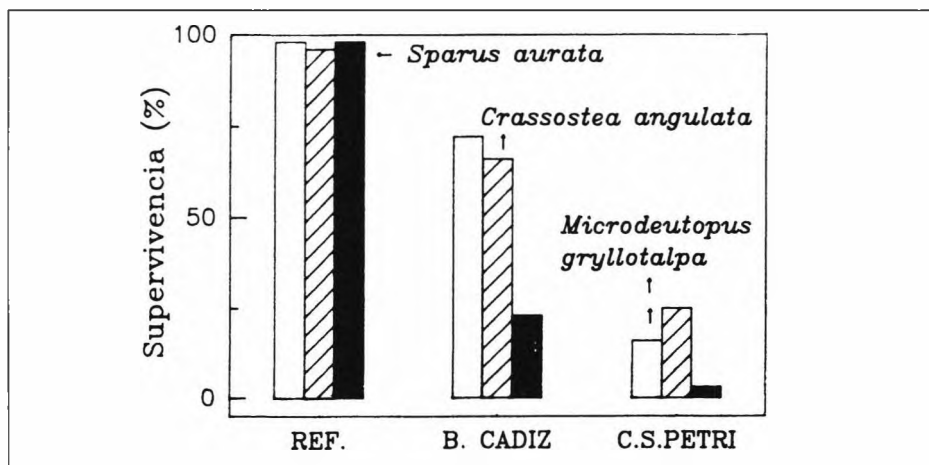


Figura 5. Resultados de los ensayos de supervivencia de *Sparus aurata* (espárido larva), *Crassostea angulata* (bivalvo larva) y *Microdeutopus gryllotalpa* (anfípodo adulto) en tres estaciones del golfo de Cádiz sometidas a un gradiente de contaminación.

También podría utilizarse como bioensayo el decaimiento de una población de rotíferos (*Brachionus plicatilis*) en agua intersticial (Fig. 4) o la mortandad de ejemplares adultos de rotíferos (*Microdeutopus gryllotalpa*) sobre sedimentos, larvas de ostión (*Crassostea angulata*) o de dorada (*Sparus aurata*) en fase disuelta. En la tabla 2 se muestra algunas de las características de estos ensayos y en la Fig. 5 los resultados obtenidos en las tres estaciones tipo comentadas anteriormente. Se observa como todos son sensibles a las variaciones de concentración de contaminantes en los sedimentos (DeValls, 1995).

Dado que es una técnica muy extendida y bien estandarizada, parece aconsejable utilizar como bioensayo la determinación de la luminiscencia de una población de *Photobacterium phosphoreum* en agua intersticial.

Especie	Fase	T. exposic.
Microdeutopus gryllotalpa (anfido adulto)	Sólida	10 días
Crassostea angulata (bivalvo larva)	Disuelta	48 horas
Sparus aurata (espárido larva)	A. intersticial	96 horas
Photobacterium Phosphoreum (bacteria)	A. intersticial	Minutos

**Tabla 2.** Fases de exposición y duración de algunos biossayos de toxicidad de sedimentos marinos.

El tercer eje, el eje de alteración, se basa en un hecho ampliamente conocido: Las comunidades bentónicas propias de un sistema acuático van a experimentar un cambio en su estructura ante la presencia de contaminantes orgánicos e inorgánicos (e.g., Rapport *et al.*, 1985). Conforme aumenta la presencia de contaminantes, las especies mejor adaptadas al ecosistema y, por tanto, menos tolerantes, acaban por desaparecer mientras que se produce una mayor dominancia por parte de algunas especies oportunistas de menor tamaño. El resultado final es una disminución de la abundancia total, así como de la riqueza específica del ecosistema. También se ha observado que estos cambios son detectables incluso trabajando a los niveles taxonómicos más altos. De esta forma, a medida que aumenta el grado de contaminación se experimenta un aumento progresivo de la dominancia de poliquetos, nematodos y moluscos en detrimento de los crustáceos y equinodermos.

Para la cuantificación de este eje del TRIAD es necesario realizar un análisis taxonómico lo más completo posible de las comunidades bentónicas. Posteriormente se promedian los valores RTR de la riqueza específica, abundancia total, algún índice de la diversidad, y el porcentaje de poliquetos, nematodos, moluscos, equinodermos y anfípodos, este último como crustáceo muy sensible a los niveles de contaminante (DeValls, 1995). Aquellos parámetros que disminuyen a medida que aumenta la toxicidad del sedimento, contribuyen a este eje como 1 partido de su valor.

Es evidente que abordar un estudio de contaminación aplicando el TRIAD como criterio de calidad ambiental no es una cuestión simple. Por una parte necesita de tres disciplinas científicas, la química analítica, la toxicología y la ecología, por lo que es necesario

un equipo de expertos en estos campos. En la mayoría de las aplicaciones realizadas hasta el momento, el trabajo experimental se ha desarrollado en distintos laboratorios universitarios de Estados Unidos, y los autores han interpretado los resultados finales.

Por otra parte, el coste global de este tipo de estudios es realmente elevado. En este sentido, Long (1989) estima que la aplicación del TRIAD en 9 estaciones de la Bahía de San Francisco tenía un costo de unos 100.000 dólares. De hecho, prácticamente todos los trabajos realizados hasta el momento han sido subvencionados por organismos reguladores como la EPA. Debido a estas razones, el TRIAD sólo se ha aplicado en algunos ecosistemas de Norteamérica (Tabla 3). También ha sido utilizado en aguas continentales, en concreto en los Grandes Lagos. En las costas europeas sólo se ha abordado este tipo de estudios, hasta el momento, en el Mar del Norte.

LUGAR	REFERENCIA
<b>Norteamérica</b>	
Bahía de Puget (WA)	Long y Chapman (1985)
<b>Bahía de San Francisco (CA)</b>	Chapman et al. (1986, 1987)
Golfo de México	Chapman (1991)
Estuario del Vancouver (BC)	Cross et al. (1993)
Grandes Lagos	Burton y Stemmer (1988) Burton et al. (1990)
<b>Europa</b>	
Mar del Norte	Chapman (1992)
Golfo de Cádiz	Del Valls (1995)

**Tabla 3.** Relación de las zonas donde se han realizado una aplicación del método TRIAD.

De entre ellos, quizás los trabajos realizados en la Bahía de San Francisco (Chapman *et al.*, 1986, 1987) sean los que suponen una aplicación más completa del TRIAD. Se compara la calidad ambiental de tres zonas bien diferenciadas: la Bahía de San Pablo, alejada de las fuentes de contaminación y que constituía la zona de referencia, las proximidades de la población de Oackland, considerada *a priori* como moderadamente contaminada, y las cercanías de las Islas Waterway, que reciben importantes vertidos urbanos e industriales. En cada una de las tres zonas se seleccionaron tres estaciones, donde se determinó la concentración de 21 metales, 20 hidrocarburos de bajo y alto peso molecular, 17 hidrocarburos clorados y 8 bifenilos policlorados. Se realizaron 4 bioensayos de toxicidad y un análisis taxonómico completo de las comunidades bentónicas en cada estación.

Toda la información obtenida se sintetiza en la Fig. 6, en la que puede observarse que efectivamente se confirma el gradiente de concentración previsto. De hecho, ha sido necesario ampliar enormemente la escala empleadas en los ejes para el caso de las estaciones de la zona de la Islas Waterway.

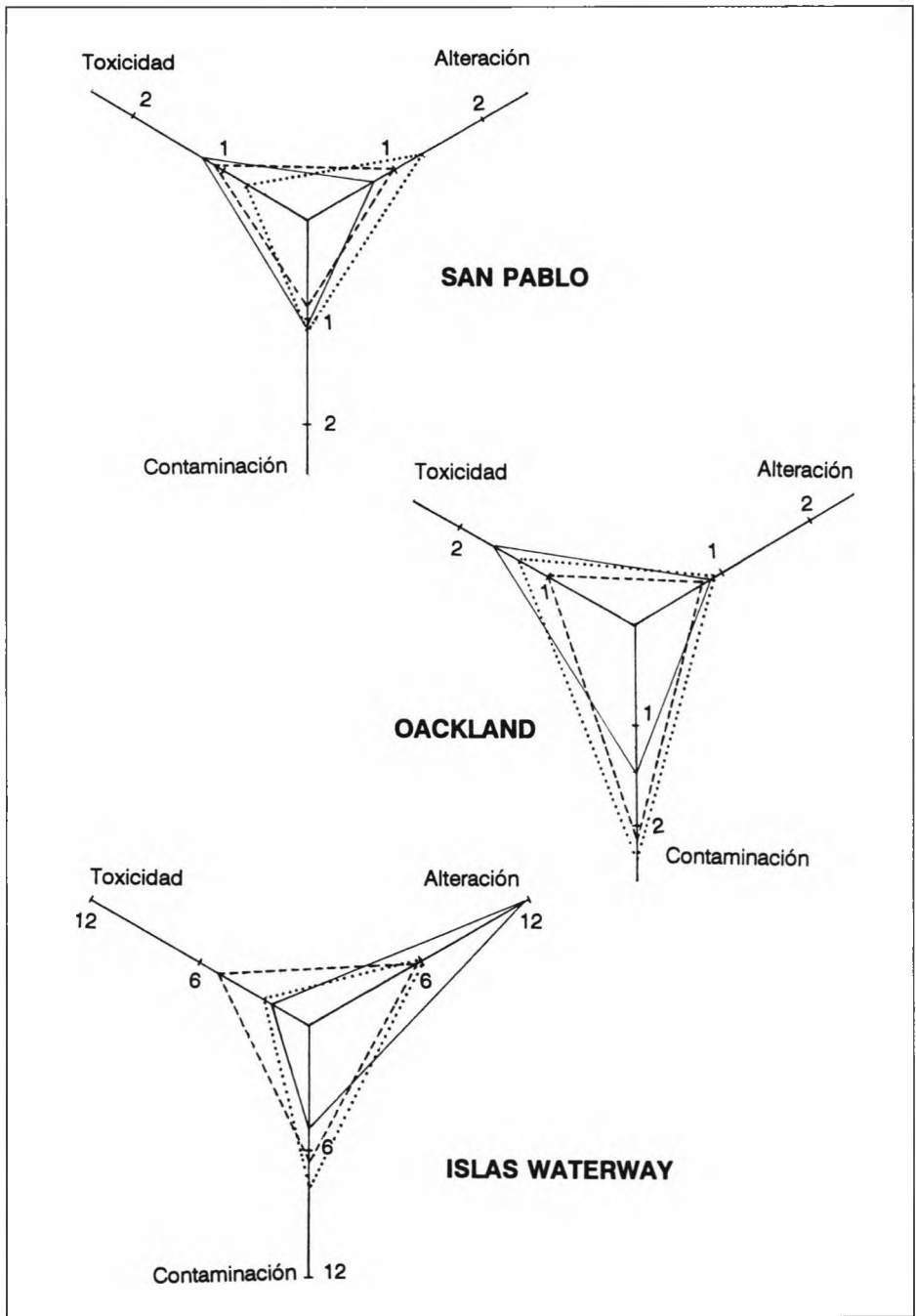


Figura 6. Ejemplo de la aplicación del método TRIAD a la bahía de San Francisco (USA, adaptado de Champan *et al.*, 1987).

Es indudable que el TRIAD es un método que permite sintetizar una gran cantidad de información y hacer una comparación rápida de la calidad ambiental de los sedimentos de distintas zonas.

## CONSIDERACIONES FINALES

La propia asimetría que se produce entre los ejes del TRIAD es una evidencia de su necesidad. Sus autores sugieren que, una vez establecida la relación que existe entre los 3 ejes de una determinada zona, la calidad ambiental de los sedimentos se podría evaluar midiendo uno cualquiera de ellos. Esta afirmación parece arriesgada, ya que esta relación puede tener importantes variaciones temporales, tanto debido a la evolución natural de distintos parámetros fisicoquímicos o biológicos, como a los propios cambios que puedan existir en la cantidad y composición del vertido, además de los diferentes tiempos de respuesta frente a estos cambios de los parámetros que se determinan en el TRIAD.

Para conseguir este objetivo, los esfuerzos tendrían que dirigirse en el sentido de aumentar la equilateralidad de las representaciones del TRIAD. En la actualidad, debe aún considerarse como un método abierto, donde podría incluirse la biodisponibilidad de compuestos en el eje de contaminación, utilizando sus correspondientes constantes de reparto y dando a cada contaminante el peso real que posee sobre el proceso de degradación ambiental, para lo cual, por ejemplo, podrían normalizarse los resultados en función de los intervalos a los que se produce una respuesta tóxica en alguna de las bases de datos disponible. También podrían incorporarse bioensayos con una respuesta más sensible a los gradientes de contaminación, o intentar discernir entre causas naturales o impacto ambiental dentro de las alteraciones de la macrofauna bentónica. Puede que la introducción de nuevas clases de organismos, como las bacterias, que presentan una distribución típica ante problemas de contaminación, pudiera ayudar a definir este eje de alteración "in situ" que parece ser la principal causa de asimetría entre los ejes del TRIAD.

En resumen, la complejidad de la realidad ambiental junto con el grado de desconocimiento actual de los mecanismos de acción de las sustancias tóxicas y su incidencia sobre los organismos vivos, hace que no exista todavía ningún criterio de calidad ambiental estrictamente válido. Dentro de los que actualmente se utilizan, es el TRIAD el que suministra una información más completa del problema y su filosofía permite que sirva de base para el establecimiento futuro de criterios más perfeccionados.

## BIBLIOGRAFIA

- Adams, W.J., Kimerle, R.A., Barnet, Jr., J.W. (1992) Sediment quality and aquatic life assessment. *Environ. Sci. Technol.*, **26**(10): 1865-1875.
- Arjonilla, M., Forja, J.M., Gómez-Parra, A. (1994). Sediment analysis does not provide a good measure of heavy metal bioavailability to *Cerastoderma glaucum* (Mollusca: Bivalvia) in confined coastal ecosystems. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **52**: 810-817.

- Austen, M.C., Warwick, R.M., Rosado, M.C. (1989). Meiobenthic and macrobenthic community structure along a pollution gradient in Southern Portugal. *Mar Poll. Bull.*, 20(8): 398-405.
- Cairns, M.A., Nebeker, A.V., Gakstatter, J.H., Griffis, W. (1984). Toxicity of copper-spiked sediments to freshwater invertebrates. *Environ. Toxicol. Chem.*, 3: 435-466.
- Campbell, P.G.C., Lewis, A.G., Chapman, P.M., Crowder, A.A. (1988). Biologically available metals in sediments. NRCC, div. of Chemistry Publication, Ottawa, 296 pp.
- Chapman, P.M. (1986). Sediment quality criteria from the sediment quality triad. An example. *Environ. Toxicol. Chem.*, 5: 957-964.
- Chapman, P.M. (1989). Current approaches to developing sediment quality criteria. *Environ Toxicol. Chem.*, 8: 589-599.
- Chapman, P.M. (1990). The sediment quality triad approach to determining pollution-induced degradation *Sci. Tot. Environ.*, 97-8: 815-825.
- Chapman, P.M. (1992). Pollution status of North Sea sediments: an international integrative study. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 91: 13-322.
- Chapman, P.M., Long, E.R. (1983). The use of bioassays as part of a comprehensive approach to marine pollution assessment. *Mar. Poll. Bull.*, 14: 82-84.
- Chapman, P.M., Barrick, R.C., Neff, R.C. Swartz (1987). Four independent approaches to developing sediment quality criteria yield similar values for model contaminants. *Environ Toxicol. Chem.*, 6: 723-725.
- Chapman, P. M., Long, E.R., Swartz, R.C., De Witt, T.H., Pastoroc, R. (1991). Sediment toxicity tests, sediment chemistry and benthic ecology do provide new insights into the significance and management of contaminated sediments-A reply to Robert Spies. *Environ. Toxicol. Chem.*, 10: 1-4.
- Davis, W.S. (1980). Predicting and avoiding degradation of natural waters bodies by the toxicological effects of relocating sediments. En: *Contaminants and sediments*, Vol.1 (R.A. Baker, ed.), pp. 289-296.
- Del Valls, T. A. (1995). Aplicación de un método integrado para la medida de la calidad ambiental en ecosistemas litorales del golfo de Cádiz. Tesis Doctoral. Universidad de Cádiz, 389pp.
- ECETOC (1987). Predictive methods to assess fate, behaviour and toxicity of chemicals adsorbed to sediments with reference to interstitial water and benthic organisms. Proceedings of Workshop, Bruselas, Octubre 1986.
- ECETOC (1990). Fate, behaviour and toxicity of organic chemicals associated with sediments. Technical Report nº 35, ISSN- 0773-8072-35. Bruselas, Enero 1990.
- Feltz, H.R. (1980). Significance of bottom material data in evaluating water quality. En: *Contaminants and sediments, Vol. 1*, (ed., R.A. Baker), pp. 271-287.
- Ferraro, S.P., Swartz, R.C., Cole, F.A., Schults, D.W. (1991). Temporal changes in the bent-

- hos along a pollution gradient: discriminating the effects of natural phenomena from sewage-industrial wastewater effects. *Estuar. Coast. Shelf. Sci.*, **33**: 383-407.
- Förstner, U., Wittman, G.T. (1981) Metal pollution in the aquatic environment. Springer-Verlag, London, 486 pp.
- GESAMP (1980). Monitoring biological variables related to marine pollution. Joint group of experts on the scientific aspects of marine pollution. Reports and Studies n° 11. UNESCO, Paris.
- GESAMP (1990) Long-term consequences of low-level marine contamination: an analytical approach. IMCO/FAO/UNESCO/WMO/WHO/IAEA/UNEP. Report series n° 40, FAO, Roma.
- Giesy, J.P., Hoke, R.A. (1990). Freshwater sediment quality criteria: toxicity bioassessment. En: *Sediments: Chemistry and Toxicity of In-Place Pollutants*. Ann Arbor, Boca Raton Boston, Lewis Publishers, Inc., pp. 265-348.
- J.R.B. Associates (1984). Background and review document on the development of sediment criteria. Report prepared for the USEPA and Standard Division, Washington, DC. JRB Associates, McLean, VA.
- Katz, B.M., Krizeck, R.J., Hummel, P.L. (1977). Composition of polluted bottom sediments in Great Lakes harbors. En: *Chemistry of marine sediments*. (T.F. Yen, ed.), pp. 111-123.
- Krizek, R.J., Raphaelian, L.A. (1977). Fate of pesticides in bottom sediments during dredging and disposal cycle. En: *Chemistry of marine sediments* (T.F. Yea, ed.), pp. 157-162
- Krueger, C.C., Barrick, R.C., Beller, H.R. (1989). Developing sediment quality values for use in managing contaminated sediments in Puget Sound. *Proc. 10<sup>th</sup> National Conference Of The Coastal Society (Estuarine and Coastal Management: Tools Of The Trade)*, New Orleans, Louisiana, 1988.
- Long, E.R., Morgan, L.G. (1991). The potential for biological effects of sediment-sorbed contaminants tested in the national status and trends program. USNOAA Technical Memorandum NOS/OMA 52, 2nd Printing, 228 pp.
- Long, E.R. (1989). The use of the sediment quality triad in classification of sediment contamination. En: *Contaminated marine sediment - Assessment and Remediation*. National Academy Press. Washington, D.C., pp. 78-99.
- Lu, J.C.S., Chen, K.Y. (1977). Migration of chemical constituents in sediment-seawater interfaces. En: *Chemistry of marine sediments* (T.F. Yend, ed.), pp. 181-221.
- Luoma, S.N., Johns, C., Fisher, N.S., Steinberg, N.A., Oremland, R.S., Reinfelder, J. (1992). Determination of selenium bioavailability to a benthic bivalve from particulate and solute pathways. *Environ. Sci. Technol.*, **26**: 485-491.
- Luoma, S.N. (1983). Bioavailability of trace metals to aquatic organisms. A review. *Sci. Total Environ.*, **28**: 1-22.



- Luoma, S.N. (1989) Can we determine the biological availability of sediment bound trace elements. *Hidrobiologia*, 176-177: 79-396
- Luoma, S.N. (1990). Processes affecting metal concentrations in estuarine and coastal marine sediments. En: *Heavy metals in the marine environment* (Furness, R.W., Rainbow, P.S. , eds.). CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, pp. 51-66.
- Luoma, S.N., Ho, K.T. (1992). The appropriate uses of marine and estuarine sediment bioassays. En: *The Handbook of Ecotoxicology* (P. Calow, ed), pp.193-226.
- Meiggs, Th. O. (1980) The use of sediment analysis in forensic investigations and procedural requirements for such studies. En: *Contaminants and sediments* (R.A. Baker ed.), pp. 271-287.
- Mudroch, A.L., Sarazin, L., Leaney-East, A., Lomas, T., de Barros, C. (1986). Report on the progress of the revision of the MOE guidelines for dredged material open water disposal, 1984/1985. Environmental Canada, Inland Waters Directorate, Environmental Contaminants Division, 15 pp.
- Neff, J.M., Word, J.Q., Gulbransen, T.C. (1985). Recalculation of screening level concentrations for non-polar organic contaminants in marine sediments. USEPA, Office of Water Regulations and Standards, Criteria and Standards Division, Washington, D.C. (unpublished report). Citado en Giesy & Hoke, 1990.
- Rapport, D.J., Regier, H.A., Hutchinson, T.C. (1985). Ecosystem behavior under stress. *Am. Nat.*, 125: 617-640.
- Salomons, W., de Rooij, N.M., Kerdijk, H., Brill, A. (1987). Sediments as a source for contaminants. *Hidrobiologia*, 149: 13-30.
- Shea, D. (1988). Developing national sediment quality criteria. *Environ. Sci Technol.*, 22: 1256-1261.
- Stebbing, A.R.D., Dethlefsen, V., Carr, M. (1992). Biological effects of contaminants in the North Sea. Results of the ICES/IOC Bremerhaven Workshop. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 91 (1-3): 361.
- Tetra Tech (1985). Commencement Bay nearshore/tideflats remedial investigations. Report prepared for the Washington Departments of Ecology and USEPA, Seattle, WA. EPA-910/9-85-134b. Tetra Tech, Bellevue, WA
- Warwick, R.M., Pearson, T.H., Ruswahyuni, L. (1987). Detection of pollution effects on marine macrobenthos: further evaluation of the species abundance/biomass method. *Mar. Biol.*, 95: 193-200.

**COMUNICACIONES**



# EVOLUCIÓN DE LOS NIVELES DE DIVERSOS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS EN LAS AGUAS DE LA BAHÍA DE ALGECIRAS (1.979-1.993).

*Luna Doña, C.; Manuel Vez, M.P.*

Departamento de Química Analítica, E.U.P.A., Universidad de Cádiz.

## PALABRAS CLAVES.

Evolución, calidad, contaminación, agua de mar, Bahía de Algeciras.

## RESUMEN.

El objetivo de este trabajo es evaluar la evolución de la calidad del agua de mar en la Bahía de Algeciras, en base a cinco trabajos realizados por diversos autores. Estos trabajos han sido realizados durante los años 1.979, 1.980, 1.985, 1.989 y 1.993.

De acuerdo con estas premisas, han sido seleccionados diferentes parámetros físico-químicos tales como Temperatura, Salinidad, Sólidos en Suspensión, pH, Demanda Química de Oxígeno, Grasas, Materia activa aniónica, Nitritos y Fosfatos.

Las estaciones de toma de muestra se han establecido a lo largo de la Bahía, agrupándolas en seis zonas, en lo posible de acuerdo con zonas de interés (industrias, desembarcadura de río, etc...).

Se ha realizado el estudio mediante la evolución en el tiempo de los parámetros estudiados de cada zona.

Finalmente, las diversas zonas se han comparado para establecer sus diferencias significativas.

## SUMMARY.

The aim of this work is to evaluate the quality evolution of seawater in the Bay of Algeciras, on the basis of five works that have been carried out by several authors. These works have been realised along years 1.979, 1.980, 1.985, 1.989 and 1.993.

According to these premises, different physical and chemical parameters haven been selected, such as Temperature, Salinity, Suspended Solids, pH, Oxigen Chemical Demand, Fats, Anionic Materials, Nitrites and Phosphates.

The sampling stations have been established along the Bay, grouping them into six zones, as far as possible, according to interesting zones (industries, river mouth, etc...).

A study taking into account the evolution in time of every parameter in every zone have been carried out.

Finally, the results obtained in several zones has been compared to establish their significant differences.

## INTRODUCCIÓN.

La Bahía de Algeciras se encuentra situada en el rectángulo que determinan los paralelos 36°6'0" y 36°11'0" de latitud Norte y los meridianos 5°26'45' y 5°21'0" de longitud Oeste.

La Bahía de Algeciras por su situación geográfica, puente de unión entre Europa y Africa, y por su desarrollo industrial a partir de 1.970, es de interés por lo que se ha estudiado la evolución de la calidad de sus aguas.

Para ello, se ha realizado una revisión bibliográfica de los trabajos realizados sobre las aguas de esta Bahía entre los años 1.979 y 1.993.

Los parámetros que se emplearon para evaluar la calidad de las aguas de la Bahía fueron relativamente diferentes en cada uno de los estudios realizados.

Para una visión global de la evolución del conjunto de la Bahía de Algeciras en este período de tiempo, se han seleccionado los parámetros físico-químicos que "a priori" son más significativos.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

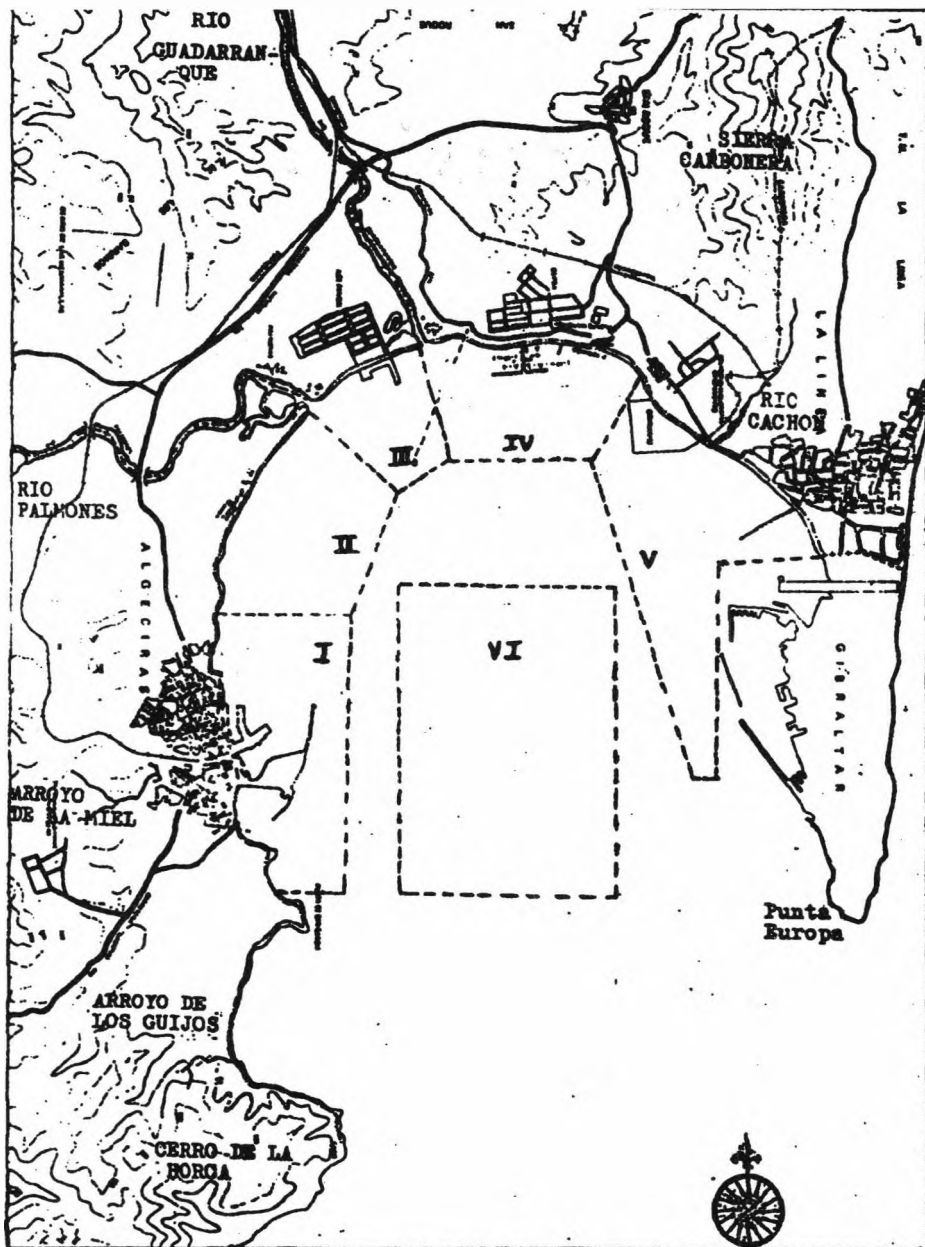
En los distintos estudios, el criterio empleado para la elección de la localización de las estaciones de muestreo se realizó de acuerdo con las siguientes premisas:

– Singularidad del conjunto de lugares o estaciones establecidas, de forma que sean representativas de la Bahía en toda su extensión.

– Las estaciones seleccionadas han de estar situadas geográficamente en zonas que "a priori" presentaran mayor interés debido a la presencia de efluentes urbanos, industriales o fluviales, así como las que presumiblemente presentasen un mínimo de contaminación.

- Que las estaciones elegidas pudiesen ser localizadas fácilmente mediante referencias en tierra o en mar.

Por tanto, las estaciones establecidas se encuentran distribuidas a lo largo de toda la costa y del interior de la Bahía de Algeciras (ver Figura).



Debido a que en cada una de los distintos estudios que se evaluaron las estaciones de muestreo se establecieron en lugares cercanos, para estudiar la evolución del conjunto de la Bahía de Algeciras, se han seguido los siguientes criterios:

1) La Bahía de Algeciras se ha dividido en zonas, atendiendo a los principales factores contaminantes posibles: urbano e industrial.

2) Cada zona se caracteriza por los valores que presenten los distintos parámetros, en el conjunto de las estaciones que se encuentran dentro de ella.

El valor que se considera para cada parámetro en una zona viene dado por el promedio de los valores que presente dicho parámetro en cada una de las estaciones.

3) Dentro de cada estación el valor de cada parámetro viene dado por el promedio de los resultados obtenidos en varias tomas.

Los parámetros seleccionados para estudiar la evolución de la Bahía de Algeciras en su conjunto, han sido los siguientes: Temperatura (T), Salinidad (S), Sólidos en suspensión (S.S.), pH, Demanda química de oxígeno (D.Q.O.), Grasas (G), Materia activa aniónica (M.A.), Nitritos ( $\text{NO}_2^-$ ) y Fosfatos ( $\text{PO}_4^{3-}$ ).

En distintos estudios realizados en la Bahía se han empleado métodos de análisis diversos para la determinación de dichos parámetros. En dichos casos, para poder comparar resultados se han referido los distintos valores a las unidades seleccionadas para cada parámetro y estas son:

T ( $^{\circ}\text{C}$ ); S (‰); S.S. (mg(S.S.)/l); pH (unidades de pH); D.Q.O. (mg( $\text{O}_2$ )/l); G (mg(grasa)/l); M.A. (mg(DDBSNa)/l);  $\text{NO}_2^-$  (mg( $\text{NO}_2^-$ )/l);  $\text{PO}_4^{3-}$  (mg( $\text{PO}_4^{3-}$ )/l).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Los valores obtenidos para los parámetros seleccionados en cada uno de los años estudiados aparecen recogidos en las Tablas nº 1 a 6 correspondientes a cada una de las zonas en las que se ha dividido la Bahía.

En general, la evolución de los valores obtenidos para los distintos parámetros es similar en todas las zonas estudiadas; esto nos permite agruparlos según la evolución observada:

**1) Parámetros que han experimentado disminución en sus valores con el tiempo.** A este grupo pertenecen parámetros como Temperatura, Salinidad, Sólidos en suspensión, Grasas y Materia activa aniónica.

La velocidad con la que disminuyen los valores encontrados es diferente para cada uno de estos parámetros. Se ha observado un gran descenso en los valores correspondientes a:

– **Sólidos en suspensión.**– El descenso producido ha permitido pasar de niveles del orden de 190 mg/l hasta llegar a estar incluso por debajo del límite establecido en aguas continentales aptas para la vida de los peces (25 mg/l). La única zona en la que no se llegó (hasta 1989) a estar por debajo de este límite es la zona correspondiente a la parte central de la Bahía.

**TABLA 1.** Valores que toman los parámetros estudiados en el período de tiempo revisado para la Zona I.

PARÁM.	1.979	1.980	1.985	1.989	1.993	VALOR CEE
T	22,7	18,6	18,7	–	–	–
S	34,9	34,5	31,7	–	29,3	28 a 35
S.S.	–	191,1	54,5	20,9	–	< 25
pH	8,0	8,0	8,1	–	8,0	7,5 – 8,4
D.Q.O.	5,63	33,49	–	58,50	–	–
G	–	588,1	44,8	2,4	–	≤ 0,3
M.A.	–	0,279	0,138	<0,050	–	≤ 0,3
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0,028	0,056	0,052	–	0,040	≤ 0,03
PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	0,181	0,273	2,465	–	2,486	< 0,095

Nota: T (°C); S (%); Resto de parámetros expresados en mg/l

**TABLA 2.** Valores que toman los parámetros estudiados en el período de tiempo revisado para la Zona II.

PARÁM.	1.979	1.980	1.985	1.989	1.993	VALOR CEE
T	21,6	18,7	18,9	–	–	–
S	36,7	35,7	33,2	–	32,7	28 a 35
S.S.	–	127,9	49,8	19,8	–	< 25
pH	8,1	8,1	8,2	–	8,1	7,5 – 8,4
D.Q.O.	1,38	37,40	–	61,00	–	–
G	–	315,0	4,4	1,5	–	≤ 0,3
M.A.	–	0,391	0,039	<0,050	–	≤ 0,3
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0,004	0,020	0,048	–	0,010	≤ 0,03
PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	<0,003	0,531	0,969	–	3,889	< 0,095

Nota: T (°C); S (%); Resto de parámetros expresados en mg/l



**TABLA 3.** Valores que toman los parámetros estudiados en el período de tiempo revisado para la Zona III.

PARÁM.	1.979	1.980	1.985	1.989	VALOR CEE
T	21,9	18,8	19,0	–	–
S	36,2	34,9	30,9	–	28 a 35
S.S.	–	149,0	53,9	18,1	< 25
pH	8,0	8,1	8,2	–	7,5 – 8,4
D.Q.O.	1,71	19,30	–	47,00	–
G	–	546,1	47,5	1,1	≤ 0,3
M.A.	–	0,255	0,133	<0,050	≤ 0,3
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0,014	0,015	0,054	–	≤ 0,03
PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	<0,003	0,090	0,530	–	< 0,095

Nota: T (°C); S (%); Resto de parámetros expresados en mg/l

**TABLA 4.** Valores que toman los parámetros estudiados en el período de tiempo revisado para la Zona IV.

PARÁM.	1.979	1.980	1.985	1.989	VALOR CEE
T	22,5	20,0	24,1	–	–
S	35,6	35,2	30,7	–	28 a 35
S.S.	–	150,9	51,6	21,1	< 25
pH	8,1	8,2	8,1	–	7,5 – 8,4
D.Q.O.	1,25	15,40	–	56,50	–
G	–	352,0	33,8	1,2	≤ 0,3
M.A.	–	0,242	0,045	<0,050	≤ 0,3
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0,003	0,025	0,046	–	≤ 0,03
PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	0,006	0,094	0,509	–	< 0,095

Nota: T (°C); S (%); Resto de parámetros expresados en mg/l

**TABLA 5.** Valores que toman los parámetros estudiados en el período de tiempo revisado para la Zona V.

PARÁM.	1.979	1.980	1.985	1.989	VALOR CEE
T	22,3	17,4	19,9	–	–
S	36,3	36,1	32,7	–	28 a 35
S.S.	–	117,5	38,6	20,9	< 25
pH	8,1	8,2	8,2	–	7,5 a 8,4
D.Q.O.	2,11	16,85	–	40,50	–
G	–	294,8	19,9	0,5	≤ 0,3
M.A.	–	0,208	0,011	<0,050	≤ 0,3
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0,008	0,016	0,046	–	≤ 0,03
PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	0,205	0,023	0,079	–	< 0,095

Nota: T (°C); S (‰); Resto de parámetros expresados en mg/l  
C.E.E. = COMUNIDAD ECONOMICA EUROPEA, 1976.

**TABLA 6.** Valores que toman los parámetros estudiados en el período de tiempo revisado para la Zona VI.

PARÁM.	1.979	1.980	1.985	1.989	VALOR CEE
T	21,4	17,0	19,5	–	–
S	36,6	36,4	33,1	–	28 a 35
S.S.	–	123,9	32,8	26,5	< 25
pH	8,1	8,2	8,2	–	7,5 – 8,4
D.Q.O.	1,06	16,50	–	54,50	–
G	–	347,2	13,2	1,0	≤ 0,3
M.A.	–	0,270	0,002	<0,050	≤ 0,3
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0,001	0,006	0,046	–	≤ 0,03
PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	<0,003	0,003	–	–	< 0,095

Nota: T (°C); S (‰); Resto de parámetros expresados en mg/l

– **Grasas.**– A través del descenso producido se ha podido pasar de niveles mayores de 580 mg/l hasta llegar en algunos casos a niveles de 0,5 mg/l (en 1989). En ningún caso se ha conseguido rebajar el límite de grasas permitidas para aguas de baños, fijados en 0,3 mg/l.

– **Materia aniónica.**– En cada zona, el descenso con el tiempo de los valores encontrados ha sido diferente pero en todas las zonas se llegaron a conseguir los mismos niveles de contenido de materia aniónica en las aguas de mar; en el año de 1.989 fueron menores de 0,05 mg/l. En la mayoría de las zonas los valores hallados entre los años 1.985 y 1.989 están en el mismo rango. El valor máximo permitido para aguas de baños por la Comunidad Europea es 0,3 mg/l.

La variación de los valores correspondientes a los otros dos parámetros incluidos en este grupo, ha sido:

– **Salinidad.**– Los valores observados indican un descenso gradual y suave con el tiempo. Si comparamos con el rango habitual en agua de mar, generalmente están dentro de los límites permitidos ya que se acepta variaciones de salinidad del 28 al 32 ‰ y en el caso de aguas superficiales puede subir hasta el 35 ‰.

– **Temperatura.**– Las variaciones de temperatura han sido pequeñas y no son significativas. En algunos casos estas diferencias son debidas a las variaciones estacionales. En ninguna de las estaciones de muestreo situadas en los polígonos industriales de la Bahía se han encontrado valores especialmente altos en la temperatura del agua.

## 2) Parámetros en los que se ha producido aumento en sus niveles con el tiempo.

Este aumento puede ser muy diferente debido a que los niveles usuales de los parámetros que conforman este grupo son muy distintos, por lo que conllevan variaciones de distinta índole que pueden ir desde cambios en centésimas hasta en muchas unidades enteras, según sea el parámetro que se mida. Los parámetros incluidos en este grupo son:

– **D.Q.O.**– En todas las zonas es progresivo el aumento de los valores encontrados para este parámetro. Debido a que los métodos por los que se determina dicho parámetro establecen unas condiciones experimentales muy diferentes, a pesar de haber referido todos los valores a las mismas unidades, los datos presentados no se pueden comparar directamente, pero sí es significativo que se mantiene una tendencia de crecimiento continuo en todas las zonas de la Bahía. (NOTA: D.Q.O. realizada con  $MnO_4^-$  en 1979; D.Q.O. realizada con  $Cr_2O_7^{2-}$  en 1980 y 1989).

– **Fosfatos.**– En la mayoría de las zonas los valores hallados supone un crecimiento continuo de fosfato en este período. Sólo en la Zona V ha descendido el nivel de fosfatos desde 1.979 hasta 1.985; en la Zona VI no se puede evaluar bien este parámetro ya que sólo tenemos dos datos.

El valor de fosfato empleado como referencia es de 0,095 mg ( $PO_4^{3-}$ )/l correspondiente a un valor normal en agua de mar (López, 1.992). Los valores obtenidos de fosfatos suelen ser mayores que el de referencia y estas diferencias suelen ser más grandes en las Zonas I y II, situadas en el litoral del casco urbano de la ciudad de Algeciras.

– **Nitritos.**– Los contenidos de nitritos obtenidos suelen crecer durante el período observado a excepción de las Zonas I y II en las que se produce una estabilización de los valores en un rango próximo a 0,05 mg/l.

El pH medido no ha experimentado ninguna variación significativa durante el período de tiempo estudiado.

## CONCLUSIONES.

### – Salinidad.

La presencia de núcleos de población e industrias por una parte y de ríos o riachuelos por otro, dan lugar a un aporte continuo y relativamente importante de agua dulce (y depurada) a la Bahía. Esto provoca que las estaciones de muestreo situadas cercanas a la línea costera puedan presentar valores bajos de salinidad.

### – Sólidos en suspensión.

El descenso de sólidos en suspensión presentes en las aguas de la Bahía puede ser debido a dos causas principalmente: mejora en la depuración de las aguas residuales y descenso pluviométrico debido a los cambios climatológicos.

### – Grasas.

La mejora en los métodos aplicados a tratamientos de residuos, tanto urbanos como industriales, puede ser la causante de la disminución de los valores de grasas existentes en las aguas de la Bahía.

### – Materia aniónica.

A pesar del auge que los detergentes han experimentado en los últimos años (López, 1.992) se ha observado un descenso de los valores encontrados, que puede explicarse tal vez por una mejora en el tratamiento de los residuos.

### – Fosfatos.

La tendencia observada en los valores de este parámetro es al alza. Estos valores están de acuerdo con los estudios dirigidos por F. Xavier Niell (Clavero V.,1994) en el sedimento del Río Palmones en los que se pone de manifiesto la eutrofización de los sedimentos del estuario.

## BIBLIOGRAFÍA.

Comunidad Económica Europea. Directiva del Consejo del 8 de Diciembre de 1975 relativa a la calidad de aguas de baño (76/160/CEE). Publicado en el *Diario Oficial de la Comunidad Europea* el 5 de Febrero de 1976.

Comunidad Económica Europea. Directiva del Consejo de 18 de Julio de 1978 relativa a la calidad de las aguas continentales que requieren protección o mejora para ser aptas para la vida de los peces (78/659/CEE). Publicado en el *Diario Oficial de la Comunidad Europea* el 14 de Agosto de 1978.

- Clavero, V.; García-Vallejo, P.; Jiménez, C.; Niell, F.X. 1994. *Eutrofización del sedimento del estuario del Río Palmones debido a inundaciones*. VII Seminario de Química Marina. Cádiz, Enero de 1994.
- Dekker, M. 1971. *Water and water pollution handbook*. Vol.1. Ed. L. L. Ciaccio Inc. New York.
- Escuela Superior de Ingenieros Industriales (E.S.I.I.). Sección de Medio Ambiente. Universidad de Sevilla. 1989. Comunicación privada.
- Estudio de la calidad de las aguas superficiales de la provincia de Cádiz*. 1986. Dpto. Química Técnica. Universidad de Cádiz.
- Grasshoffs, K.; Ehrhardt, M.; Kremling, K. 1983. *Methods of sea water analysis* 2nd Ed. Verlay Chemie. Weinheim.
- López Ruiz, J. 1992. *Fundamentos de química oceanográfica*. Apuntes del curso.– Seminarios y cursos de química marina. U.N.E.D. Cádiz.
- Luna, C; Manuel, M.P.; López, J. 1994. *Evaluación de parámetros Físico-Químicos en aguas costeras de la Bahía de Algeciras*. Cuadernillos de Química Oceanográfica, 2, 31-42.
- Mánuel Vez M.P. y col, 1979. *Estudio de parámetros Físico- Químicos en el agua de la Bahía de Algeciras*. Cátedra de Química Analítica. E.U.I.T.I. Algeciras. Universidad de Sevilla.
- Mánuel Vez, M. P. 1980. *Aportación al conocimiento del estado actual de las aguas de la Bahía de Algeciras*. Tesis de Licenciatura. Universidad de Sevilla.
- Pèrés, J. M. 1976. *La pollution des eaux marines*. Gauthier- Villars. París.
- Weihaupt, J. G. 1984. *Exploración de los océanos. Introducción a la oceanografía*. C.E.C.S.A.

# CONTAMINACIÓN DEL MAR POR EFLUENTES URBANOS TRATADOS: EFECTO DEL ALQUIL BENCENO SULFONATO LINEAL (LAS) SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE MATERIA ORGÁNICA VERTIDA

*Pérez García, M.; Romero García, L.I.; Sales Márquez, D.; Nebot Sanz, E.; Quiroga Alonso, J.M.*  
Dpto. Ingeniería Química, Tecnología de Alimentos y Tecnologías del Medio Ambiente.  
Facultad de Ciencias del Mar. Universidad de Cádiz.

## RESUMEN

El LAS (Alquilbenceno Sulfonato Lineal) es el principal agente contaminante sintético contenido en las aguas residuales domésticas y en algunos casos puede comportarse como inhibidor del crecimiento bacteriano. Las aguas residuales domésticas contienen altas concentraciones de material orgánico adicionado a su paso por los núcleos urbanos. Estas aguas son finalmente vertidas al medio marino, generalmente sometidas a algún tratamiento depurativo previo de índole microbiológico. Sin embargo, las estaciones depuradoras de aguas residuales no se diseñan para la eliminación de tensioactivos. El objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto del LAS sobre el proceso de biodegradación aerobia de la materia orgánica presente en las aguas residuales y que será determinante, dado su carácter inhibidor, de la concentración final de ambas, materia orgánica y LAS vertidas al medio.

## ABSTRAC

LAS (linear alkylbenzene sulphonate) continues being the main surfactant used in formulates detergent products and it is an important component of domestic wastewater. This compound has been reported toxics effects on the microorganisms present in natural ecosystems and must therefore be eliminated before reaching the collector channels. Microbiological process have shown to be the most adequate for the purifying both orga-

nic compounds and surfactants. However, wastewater treatment plants are not designed to eliminate surfactants presents in. This paper reports the effect of surfactants on the depuration efficiency of aerobic treatment plants.

**Palabras clave:** Biodegradación, tratamientos aerobios, LAS.

## 1. INTRODUCCION

El principal agente contaminante del medio marino son las aguas residuales urbanas que acceden al mismo de forma directa o bien indirecta a través de los ríos. Este tipo de vertidos genera una contaminación que se suele denominar de tipo orgánico, dadas las altas concentraciones de material orgánico presentes en dichos efluentes. El aumento del nivel de materia orgánica en el mar provoca que los microorganismos existentes de forma natural en el mismo utilicen altas cantidades del Oxígeno disuelto en el medio para degradar este tipo de compuestos. Este fenómeno provoca una drástica disminución de la concentración de éste hasta niveles no aptos para la vida de la mayoría de las especies marinas. En consecuencia, el aporte masivo de materia orgánica al medio induce una modificación del ecosistema natural del cauce receptor.

El desarrollo de una microflora degradativa, principalmente microbiana, tiene lugar ya en el sistema de canalización urbana de las aguas domésticas. Como consecuencia de la fuerte dilución que se produce con agua limpia, las aguas domésticas tienen sólo una concentración reducida de sustancias disueltas o en suspensión, que contienen alrededor de un 30% de ácidos grasos, 18% de hidratos de carbono, 10% de proteínas, 9% de grasas, 4,5% de detergentes aniónicos (fosfatos y otros productos para lavar) y 1,6% de aminoácidos. El resto corresponde a otros compuestos nitrogenados de bajo peso molecular y a fragmentos no disueltos de celulosa y lignocelulosa. Sin embargo, para una degradación total de los contaminantes serían necesarios 100-300 mg/L de O<sub>2</sub>, cantidad muy superior a la que existe disuelta en las aguas de vertido (0-4 mg/L de O<sub>2</sub>) (Jagnow, 1991).

Esta problemática ha generado que, en la actualidad, se proceda a la instauración masiva de plantas de tratamiento de aguas residuales (EDAR) y así, la depuración biológica de aguas residuales se presenta como una técnica fundamental para la conservación del medio ambiente.

Sin embargo, además de material orgánico, estas aguas contienen determinadas sustancias que pueden inhibir o modificar el conocido proceso de biodegradación de biodegradación en las plantas de depuración. Entre estas sustancias destacan los agentes tensioactivos en general, y el LAS en particular, que es el tensioactivo de mayor producción y consumo. El LAS, como compuesto orgánico que es, se puede considerar como una fuente de carbono (alimento) para los microorganismos, aunque en algunos casos puede comportarse como inhibidor del crecimiento bacteriano. Así, al aumentar la concentración de tensioactivo en el medio se observa un aumento significativo del período de adaptación y una disminución generalizada de la velocidad de biodegradación. Esto se atribuye a la interacción bacteria-tensioactivo y a la disminución de la solubilidad de oxígeno en el medio (Painter, 1988). Los efectos más significativos que se producen son los siguientes:

- altas concentraciones de tensioactivos inhiben o dañan las bacterias de modo que la degradación es más lenta que a bajas concentraciones.
- las bacterias pueden separar el tensioactivo por adsorción, originando un error en la medida de la biodegradabilidad del mismo.
- concentraciones muy elevadas de tensioactivo ponen de manifiesto el efecto tóxico y/o inhibidor de éste y potencian la actividad superficial característica de estas sustancias (Verbeek, 1987). Este fenómeno incide negativamente sobre el proceso de biodegradación de la materia orgánica del medio.

Además, muchos tensioactivos son, en determinadas condiciones, poderosos anti-sépticos y desinfectantes aunque, aún así, pueden ser atacados y degradados por las bacterias (Inaba, 1992).

El objetivo del presente trabajo es evaluar la influencia que ejerce el LAS sobre el proceso de biodegradación aerobia de la materia orgánica presente en las aguas residuales y que determinará, dado su carácter inhibitor/tóxico, la concentración final de ambas, materia orgánica y LAS, vertidas finalmente al medio marino.

## 2. PROCESO EXPERIMENTAL

Para la consecución del fijado objetivo se llevaron a cabo un conjunto de experimentos en los que se estudió la degradación aerobia de la materia orgánica de un agua residual sintética inoculada con lodos activos procedentes de una depuradora de aguas residuales urbanas.

### 2.1. Equipo

Los ensayos se realizaron en unidades de digestión aerobia con una capacidad total de 2L y un volumen útil de 1,8L. Cada reactor está equipado de una tapa provista de varias bocas, una de las cuales se utiliza para la extracción de muestra y otra para la oxigenación del medio. La temperatura de trabajo se mantiene constante a 25°C. Los reactores se disponen sobre agitadores que facilitan la homogeneización del medio y se conectan aireadores, con un caudal volumétrico constante, y difusores que favorecen la transferencia de oxígeno en el medio de ensayo.

Las alimentaciones utilizadas son de naturaleza sintética y de composición perfectamente conocida preparadas a partir de una solución nutriente mineral (según recoge el método oficial español para la determinación de la biodegradación de tensioactivos; BOE num. 260, pag. 34266), una fuente de Carbono (glucosa) y diferentes concentraciones de la sustancia bajo estudio (LAS). El porcentaje de homólogos del LAS utilizado fue: C<sub>10</sub>=3,9%; C<sub>11</sub>=37,4%; C<sub>12</sub>=35,4%; C<sub>13</sub>=23,1%; C<sub>14</sub>=0,2%, presentando una longitud media ponderada de la cadena de 11,7 átomos de Carbono.

Para la inoculación se utilizó un efluente procedente del reactor secundario de una planta de tratamiento biológico para aguas residuales urbanas (EDAR), ubicada en Puerto



Real (Cádiz, España). Esta planta opera según el proceso denominado de lodos activos. En el momento de la toma del inóculo la planta se encontraba trabajando en perfectas condiciones. La cantidad de inóculo adicionada a cada reactor supone el 5% del volumen total de éste (100 mL).

## 2.2. Técnicas analíticas utilizadas

Para el seguimiento detallado del proceso de degradación se determinaron, periódicamente, los siguientes parámetros: pH, mediante un electrodo combinado; DQO (Demanda Química de Oxígeno), en mg O<sub>2</sub>/L, por dicromatometría y posterior detección espectrofotométrica; Sólidos Totales en Suspensión (STS), y volátiles (SVS) de acuerdo con los "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewaters" (Clesceri, 1989), en g/L; la concentración de ácidos grasos volátiles (mg/L) determinada por cromatografía de gases.

El LAS se determina por HPLC, mediante una columna Lichrosorb rp-8, 10m, de dimensiones 25/0.4 cm; el eluyente empleado es metanol:agua (80:20) + 10 g/l de perclorato sódico; caudal de flujo: 1 mL/min; presión de la columna: 1100 psi.; temperatura ambiente; detección fluorimétrica (( emis = 225 nm, ( excit = 295 nm); volumen de muestra inyectado: 50 mL; columnas rellenas de octil-sílice, de las características especificadas anteriormente; precolumnas de filtración C-8; régimen isocrático.

## 2.3. Plan de trabajo

El presente trabajo contempla el estudio de la descomposición biológica de la materia orgánica en experimentos de biodegradación llevados a cabo con idéntica concentración de materia orgánica (10 gDQO/L) y diferentes cantidades iniciales de LAS en el medio.

Inicialmente se montaron siete experimentos, con concentraciones de LAS comprendidas en el rango de 5 a 35 ppm, y dejando evolucionar libremente el pH del medio. Basándonos en los resultados obtenidos de estos ensayos, se adoptó como condición operativa la neutralización diaria del medio de ensayo. Con este criterio, se montaron nuevos ensayos de biodegradación (0, 25, 35, 50, 70, 100, 200 y 400 ppm de LAS) para evaluar la influencia de la concentración de LAS sobre el proceso de biodegradación aerobia de la materia orgánica presente en las aguas residuales.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSION

### 3.1. Efecto de la acidez del medio sobre la biodegradación.

Este estudio se desarrolló sobre medios inicialmente neutros (debido a la presencia de una disolución tampón en la alimentación sintética mineral utilizada) con concentraciones iniciales de 0, 5, 10, 20, 25, 30 y 35 ppm de LAS.

Los datos más relevantes de estos ensayos se recogen a continuación:

## A) Evolución del pH y actividad degradativa

Cuando las concentraciones de LAS son inferiores a 20 ppm, los medios de ensayo presentan una tendencia inicial a la acidificación. Posteriormente los sistemas se neutralizan espontáneamente y el pH se estabiliza en valores próximos a 8.

Sin embargo, cuando las concentraciones de LAS en el ensayo superan las 20 ppm, se observa un descenso brusco del pH del medio que, a diferencia de los estudios anteriores, se mantiene hasta estabilizarse en valores límites de pH dentro del rango 3-4. Este fenómeno repercute notablemente sobre la actividad y viabilidad microbiana y, por tanto, sobre la eficacia depurativa del sistema.

Por otro lado, la degradación del sustrato, reflejada en la evolución de la DQO, es análoga en todas las experiencias con  $[LAS]_0 < 20$  ppm. Inicialmente se observa un etapa que corresponde al período de adaptación de la flora al medio y a continuación se produce un descenso brusco de los valores de este parámetro que coincide con el momento de la neutralización espontánea del medio. En cambio, en los experimentos con concentraciones de LAS superiores, se observa la influencia que ejerce la acidez del medio sobre la cinética de utilización de sustrato: la biodegradación de la materia orgánica se ralentiza indicando que la flora bacteriana se encuentra inhibida en estas condiciones de pH para estas concentraciones de LAS.

Estos resultados sugirieron la necesidad de forzar la neutralidad en el medio y, en un determinado instante (163 horas desde el inicio de la experiencia) se procedió a adicionar la cantidad necesaria de NaOH 3N para llevar el pH a neutralidad. A partir de este momento, la capacidad degradativa del sistema aumentó bruscamente y los valores de DQO descendieron.

La representación gráfica de este fenómeno se recoge en las Figuras I y II para los experimentos realizados.

En consecuencia, la experimentación con concentraciones de LAS superiores a las 20 ppm requiere una neutralización externa del medio.

## 3.2. Evolución temporal de la DQO

La influencia del LAS sobre el proceso de biodegradación de la materia orgánica se ha estudiado para experimentos con 25, 35, 50, 70, 100, 150, 200 y 400 ppm de LAS iniciales y neutralización diaria del medio de ensayo.

En la Figura III se representa la evolución temporal de la DQO en estas experiencias (porcentaje de DQO eliminada (en mg/L) frente al tiempo de incubación). En todas las curvas se presenta un período inicial en el que la eliminación de la DQO es despreciable, correspondiente al período de adaptación de la flora al sustrato. Esta etapa aumenta con la concentración de LAS añadida, efecto que puede ser explicado en base a fenómenos de aclimatación de la flora. Este fenómeno es más acusado cuando las concentraciones iniciales de LAS en el medio superan las 70 ppm de LAS, presentándose tiempos de latencia aproximados de 70 horas. En este sentido, los datos bibliográficos indican que el nivel

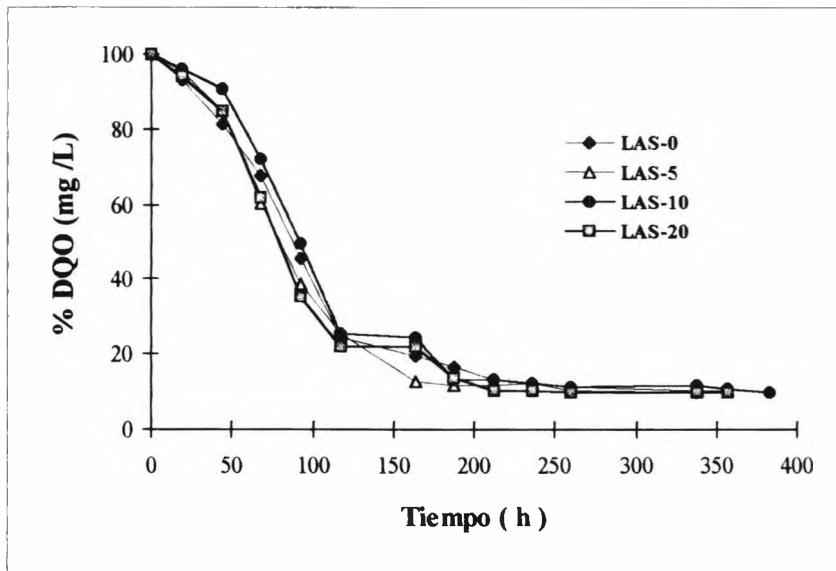
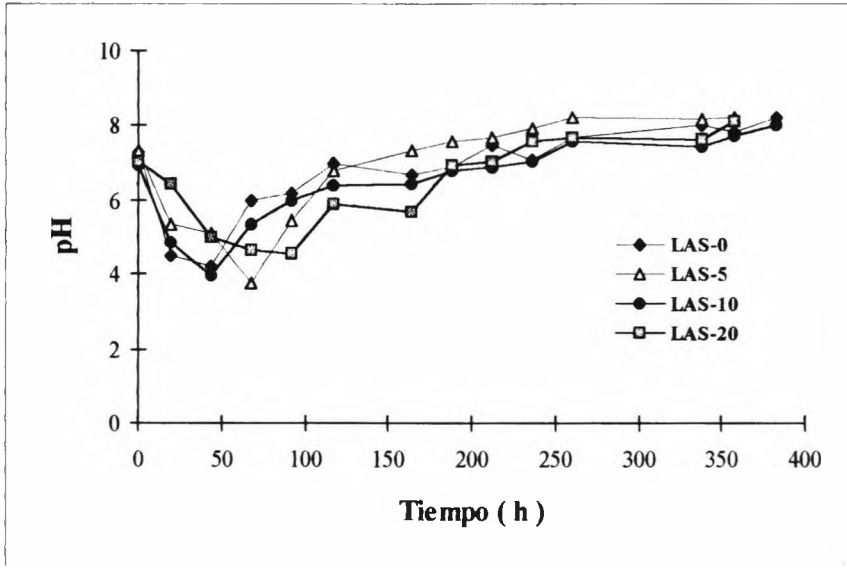


Figura I. Evolución temporal del pH y actividad degradativa en los experimentos realizados con concentraciones iniciales de 0, 5, 10, 20 ppm de LAS.

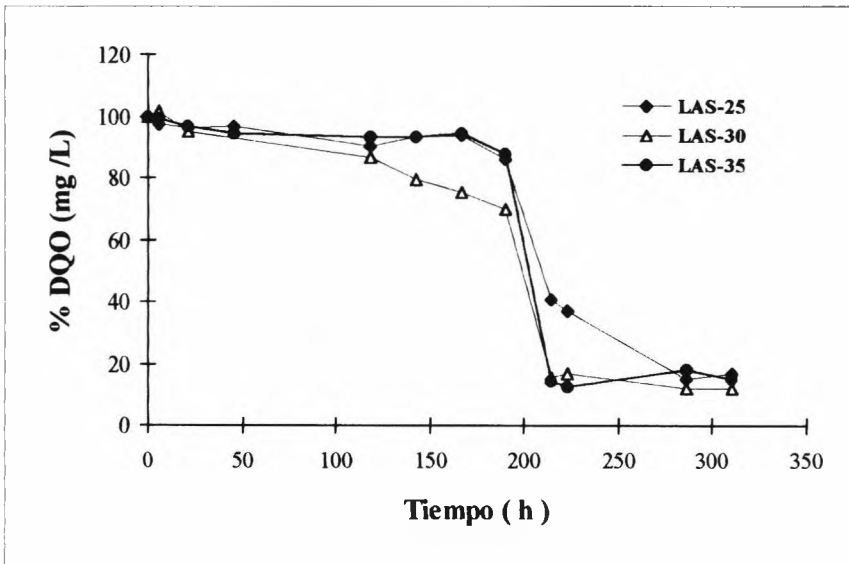
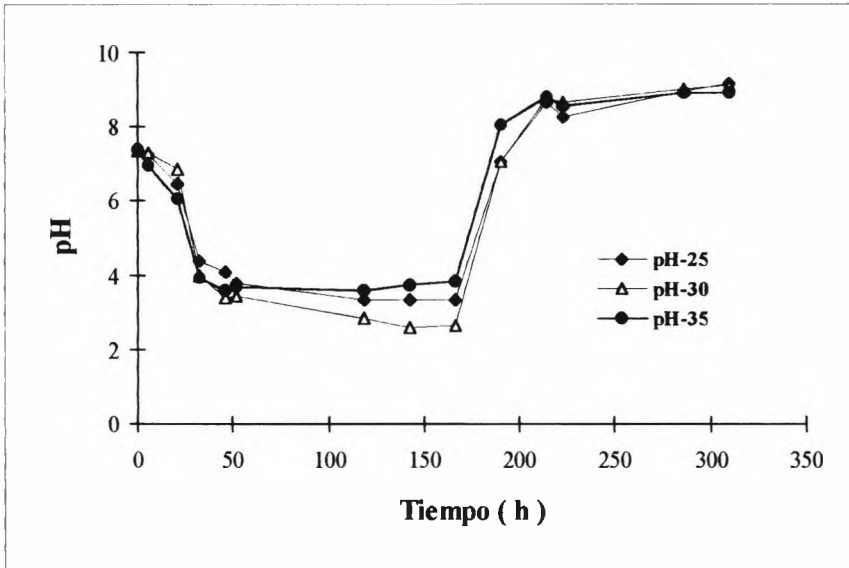


Figura II. Evolución temporal del pH y actividad degradativa en los experimentos realizados con concentraciones iniciales de 25, 30 y 35 ppm de LAS.

medio de tensioactivos (LAS) que diariamente acompañan a los vertidos residuales urbanos oscila en torno a 20 ppm (Berna, 1989), por lo que los microorganismos de las EDAR's están aclimatados a esta concentración de tensioactivos.

Tras el inicial período de adaptación se observa un decaimiento casi lineal de la concentración de sustrato con el tiempo, que se ralentiza progresivamente a medida que aumenta la concentración inicial de LAS en el medio de ensayo.

Finalmente se recoge un período de estabilización temporal de la concentración de sustrato en el medio y se admite que este valor corresponde a la concentración de material no biodegradable en el medio de ensayo (DQO<sub>nb</sub>). Es importante analizar la dependencia de esta concentración de sustrato remanente con la concentración de LAS inicial en el ensayo.

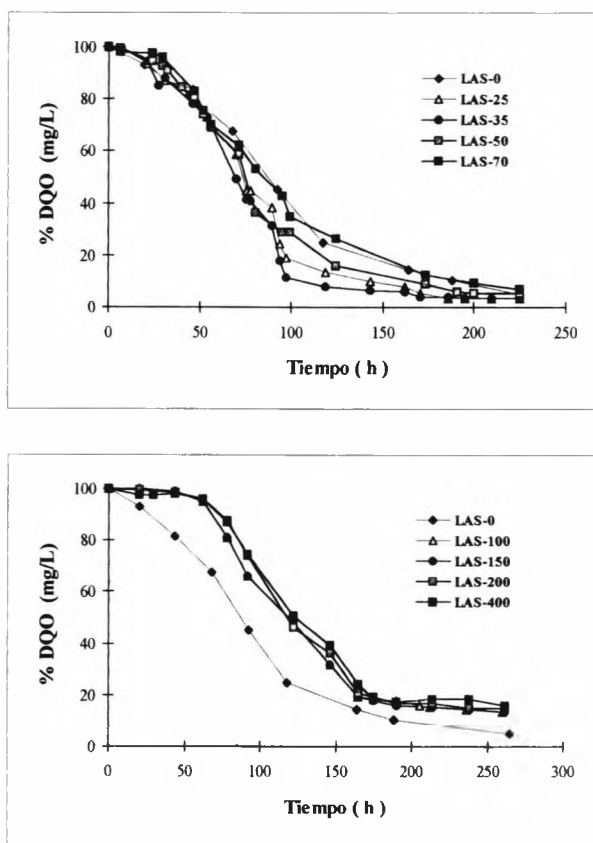


Figura III. Evolución temporal de la DQO en experimentos con concentraciones iniciales de 25, 35, 50, 70, 100, 150, 200 y 400 ppm de LAS.

La curva que define la evolución de sustrato no biodegradable (en % de DQO no biodegradable) con respecto al LAS alimentado (Figura IV) presenta dos tendencias definidas. Al principio se observa una dependencia casi lineal de los parámetros representados que se mantiene hasta concentraciones de 100 ppm LAS. Posteriormente los porcentajes de % DQO residual (mg DQO/L) comienzan a estabilizarse aproximadamente en torno a valores de 0,15 independientemente de la concentración inicial de LAS en el ensayo.

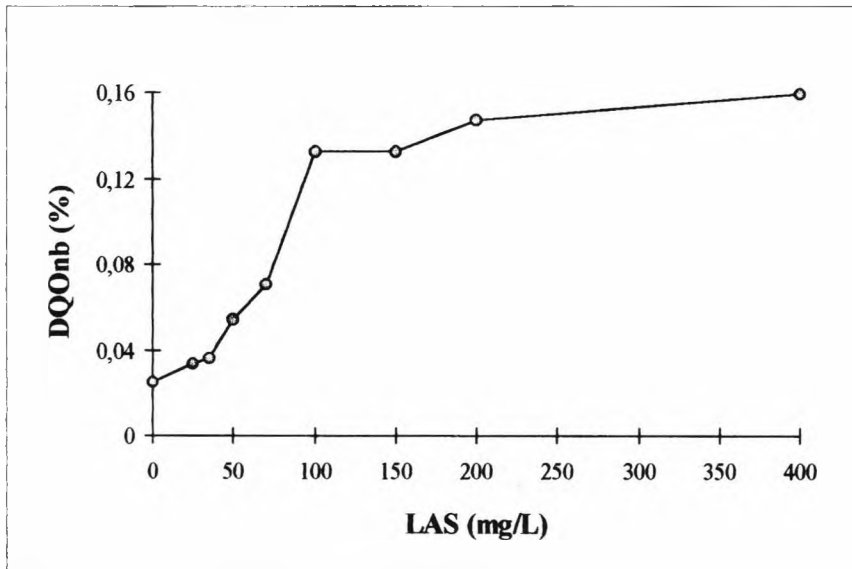


Figura IV. Relación entre el sustrato no biodegradable y la concentración de LAS en cada experimento

#### 4. CONCLUSIONES

\* El alquilbenceno sulfonato lineal (LAS) influye sobre la capacidad de autorregulación del pH en la degradación aerobia de la materia orgánica. Concentraciones iniciales de LAS inferiores a 20 mg/L no afectan la evolución del pH y la propia actividad de los microorganismos consigue neutralizar el medio al igual que ocurre en medios carentes de LAS. En cambio, concentraciones iniciales de LAS superiores a 20 mg/L no permiten la autorregulación del pH. En estos casos, los medios de fermentación se acidifican espontáneamente y la actividad microbiana se detiene. Los datos bibliográficos (Bailey, 1977; Bu'lock, 1991; Aiba, 1973) indican que el tensioactivo se absorbe sobre la membrana celular dificultando la transferencia de

materia célula-medio. En consecuencia, el CO<sub>2</sub> procedente de la respiración celular no es capaz de disolverse en el medio y, por tanto, no se forma el tampón CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>/CO<sub>3</sub>H que mantiene el pH del medio en valores próximos a neutralidad.

\* La neutralización externa del medio posibilita el desarrollo del proceso de degradación de la materia orgánica independientemente de la concentración de LAS añadida provocando un rápido descenso de la DQO.

\* En medios neutralizados, el Alquilbenceno Sulfonato Lineal (LAS) afecta a la normal evolución del proceso de biodegradación: el período de adaptación se hace más largo, la biodegradación se ralentiza y la concentración final de sustrato carbonado (glucosa) se hace dependiente de la concentración de LAS en el medio. Así, cuando las concentraciones iniciales de LAS son bajas, inferiores a 20 mg/L, el LAS no influye sobre la capacidad degradativa del proceso, ya que los microorganismos aerobios inoculados proceden de una EDAR y están aclimatados a concentraciones de este orden de magnitud. Para concentraciones iniciales de LAS superiores a 20 mg/L, se observa una dependencia lineal del porcentaje de materia orgánica residual con la concentración de LAS que se mantiene hasta 100 ppm. A partir de estas concentraciones los valores comienzan a estabilizarse aproximadamente en torno a 0,15 independientemente de la concentración inicial de LAS en el ensayo.

## 6. BIBLIOGRAFIA

1. Aiba, S.; Humphrey, E.; Millis, N. (1973), *Biochemical Engineering*, Academic Press, New York & London.
2. Bayley, J.M., Ollis, D.F. (1977), "Biochemical Engineering Fundamentals". Ed. McGraw-Hill, Inc. New York.
3. Bu'lock, J.; Kristiansen, B. (1991), *Bioteconología Básica*. Cap. 2, pags: 29-32, Ed. Acribia, S.A., Zaragoza.
4. Clesceri, L.S.; Greenberg, A.E., Rodhes Trussell, Eds., (A.P.H.A.; A.W.W.W.A.; W.P.C.F.). "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater". 17<sup>th</sup> Edition, Washington, (1989).
5. Inaba Kazuho (1992), "Quantitative assessment of natural purification in wetland for linear alkylbenzenesulfonates". *Wat. Res.* Vol. 26, 7, 893-898.
6. Jagnow, G.; Dawid, W. (1991), en "Bioteconología. Introducción con experimentos modelo". Ed. Acribia. Zaragoza.
7. Painter, H.A.; Zabel, T.F. (1987), *Review of the Environmental Safety of LAS*. Waters Resears Center, Henley Road, Medmenham, CO 1659/1/EV 8658, August.
8. Verbeek, H. (1987), "Historical Review", en "Surfactants in Consumer Products", J. Falbe Ed., Springer Verlag, Heidelberg, p.1.

# CONCENTRACIONES DE ALQUILBENCENO LINEAL SULFONATO (LAS) EN AGUAS Y SEDIMENTOS EN DIVERSOS ECOSISTEMAS LITORALES DEL GOLFO DE CÁDIZ

*E. González-Mazo<sup>1</sup>, A. Gómez-Parra<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Dpto de Química Física, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad de Cádiz, 11510 Puerto Real (Cádiz).

<sup>2</sup> Dpto de Oceanografía. Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (C.S.I.C.), 11510 Puerto Real (Cádiz).

## RESUMEN

Se han determinado los niveles de concentración de LAS en los sedimentos y en agua en distintos ecosistemas de la costa de Cádiz.

En general las concentraciones encontradas difieren mucho de una zona a otra, dependiendo de la densidad de población, la existencia o no de plantas depuradoras de aguas residuales, la granulometría de los sedimentos y la tasa de renovación de las aguas.

Se ha constatado que los sedimentos actúan como un sumidero para el LAS, especialmente en las proximidades de los lugares de descarga de los efluentes urbanos no tratados.

## SUMMARY

Levels of LAS were measured in waters and sediments of the coastal ecosystems of the gulf of Cadiz.

The observed concentration of linear alkylbenzenesulfonate (LAS) in some coastal ecosystems of the Gulf of Cadiz are a function of the lack of sewage treatment plants, the water depth and the rate of renewal of the receiving water course.

The results suggest that the adsorption is the main mechanism involved in the remove of LAS from water column in marine ecosystems.



## INTRODUCCIÓN

El alquilbenceno lineal sulfonato es el tensioactivo más ampliamente utilizado en el mundo, tanto en formulaciones detergentes sólidas o líquidas, ya sea con fines domésticos e industriales.

La mezcla comercial del LAS está constituida por un conjunto de homólogos, en los que la longitud de la cadena alquílica unida al grupo fenilo varía desde 10 átomos de carbono hasta 14. Cada homólogo presenta a su vez un conjunto de isómeros posicionales que difieren entre sí por la posición de enlace del grupo fenilo sobre la cadena alquílica. Esta puede unirse desde el carbono en posición 2 hasta la posición central. En la figura 1, se representa la estructura química del isómero 4-C<sub>12</sub>-LAS.

Desde que se generalizara su utilización como agente detergente doméstico e industrial, la presencia de tensioactivos sintéticos en el mar es un hecho habitual en las aguas costeras de los países desarrollados. En términos generales, la presencia de agentes tensioactivos

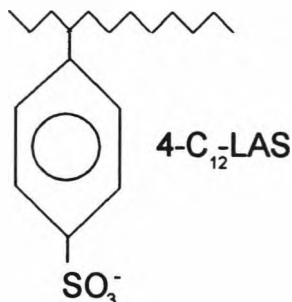


Fig. 1. Estructura química del LAS (Alquilbenceno lineal sulfonato).

en el mar, procede mayoritariamente del aporte crónico y creciente de vertidos residuales domésticos e industriales. En las ciudades costeras, la mayoría de los detergentes consumidos son descargados a la red de alcantarillado, para ser sometidos a un proceso de depuración. En muchos casos, estos vertidos residuales se realizan directamente al mar. Sin embargo, existen pocos estudios publicados sobre el comportamiento de estos compuestos xenobióticos en estuarios y aguas costeras (Hon-Nami & Hanya, 1980; Kikuchi *et al.*, 1986; Marcomini *et al.*, 1989; Stalmans *et al.*, 1990; Takada & Ogura, 1992; Takada *et al.*, 1992; Terzic *et al.*, 1992; Terzic & Ahel, 1993; Matthijs & Stalmans, 1993; Prats *et al.*, 1993).

La determinación de las concentraciones de alquilbenceno lineal sulfonato en aguas y sedimentos marinos se ha realizado por cromatografía líquida en fase reversa.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### ZONAS DE ESTUDIO

El estudio se ha llevado a cabo en la Bahía de Cádiz que comprende tres zonas claramente diferenciadas (Fig 2), el Caño de Sancti Petri, el saco interno, y la zona externa.

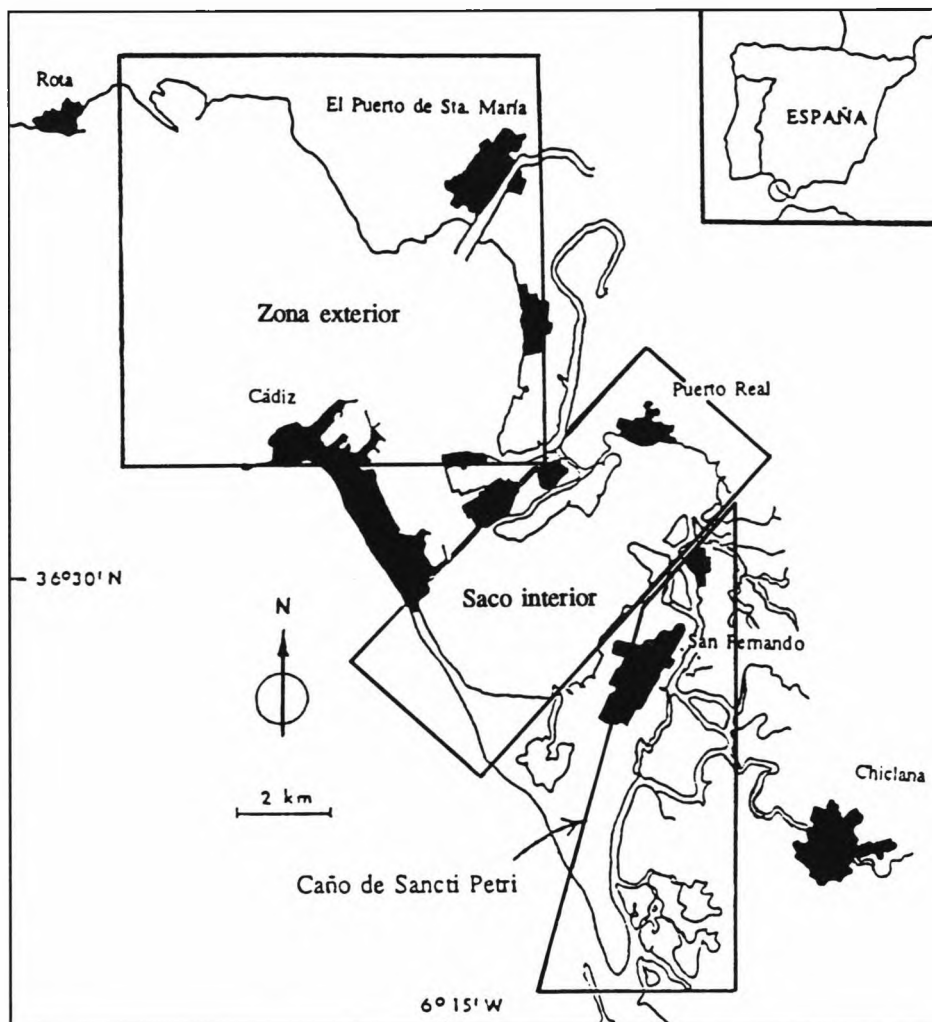


Fig. 2. Esquema de la bahía de Cádiz

El caño de Sancti Petri es la principal arteria de comunicación que pone en contacto las aguas libres del océano con las interiores de la Bahía a lo largo de un sinuoso recorrido de 18 Km de longitud. Tanto su anchura como su profundidad son muy pequeñas frente a su longitud, por lo que a efectos de dispersión puede considerarse como un sistema monodimensional. Recibe directamente los efluentes urbanos sin depurar de una población superior a los 120.000 habitantes.

El saco interno de la Bahía ocupa el espacio comprendido por el estrecho de Puntales, el Istmo de Cádiz y las zonas de marismas que se extienden al sur y al este de la Bahía. Es una zona poco profunda que tiene una extensión de 36.6 Km<sup>2</sup>, de los que el 49%

corresponde a la zona intermareal. La zona está afectada por fuertes corrientes de marea, lo que hace que la renovación de sus aguas sea elevada. Recibe los efluentes de la planta depuradora de aguas residuales de Puerto Real.

La zona exterior se extiende desde el estrecho de Puntales hasta la línea que une la población de Rota con la ciudad de Cádiz. Es la zona más profunda de la Bahía y sus aguas tienen características más oceánicas. Recibe de manera directa los vertidos de Rota y de manera indirecta, a través del río Guadalete los de Jerez de la Frontera y El Puerto de Santa María. Ambas ciudades evacuan sus aguas residuales sin depurar.

Las zonas estudiadas fueron muestreadas en cuatro situaciones de marea (pleamar, decreciente, bajamar y creciente).

Las muestras del agua superficial se tomaron con botellas Ruttner lavadas con ácido (referencia), y se transfirieron a botes de polietileno a los que se añadió formaldehído en cantidad suficiente para obtener una concentración 0.3 M (- 1% w/w de HCHO). Las muestras se mantuvieron en la oscuridad a 4°C hasta su análisis. Los sedimentos superficiales se muestrearon usando una draga tipo Van Veen, de 240 cm<sup>2</sup> de superficie que penetra hasta una profundidad entre 7 y 15 cm. Fueron trasladados al laboratorio a 4°C, se secaron a 80°C en estufa con circulación de aire, y posteriormente se molturaron (molino de bolas) y se tamizaron a través de 160µm.

## PROCEDIMIENTO ANALÍTICO

Las muestras de agua (250 mL), se acidificaron a un pH 3 y fueron purificadas y concentradas por extracción en fase sólida, mediante una minicolumna de tipo hidrófobo C<sub>18</sub> utilizada en primer lugar seguida de una de intercambio aniónico fuerte SAX. Una alícuota de aproximadamente 15g de sedimento se dispuso sobre un cartucho de extracción Soxhlet y el tensioactivo fue extraído durante 16 horas con metanol. Seguidamente el extracto metanólico fue evaporado a sequedad en un rotavapor y el residuo seco fue redisolto con 200 mL de agua caliente en un baño de ultrasonido para ser procesado posteriormente de manera idéntica a las muestras de agua.

La separación y cuantificación de los homólogos del LAS se realizó por cromatografía líquida en fase reversa con detector de fluorescencia siguiendo la metodología empleada por González–Mazo *et al.* (1993).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La concentración media de LAS en agua y sedimento a lo largo del caño de Sancti Petri para todos los muestreos realizados se muestra en la figura 3. La situación de las estaciones está referida a un origen arbitrario que se situó en el lugar en que se encuentran fondeadas las luces de demarcación del canal de acceso al puerto de Sancti Petri.

En cuanto a las concentraciones de LAS en agua, las estaciones localizadas en ambos extremos del caño presentan valores entre 10 y 30 ppb de LAS similares a los obtenidos por

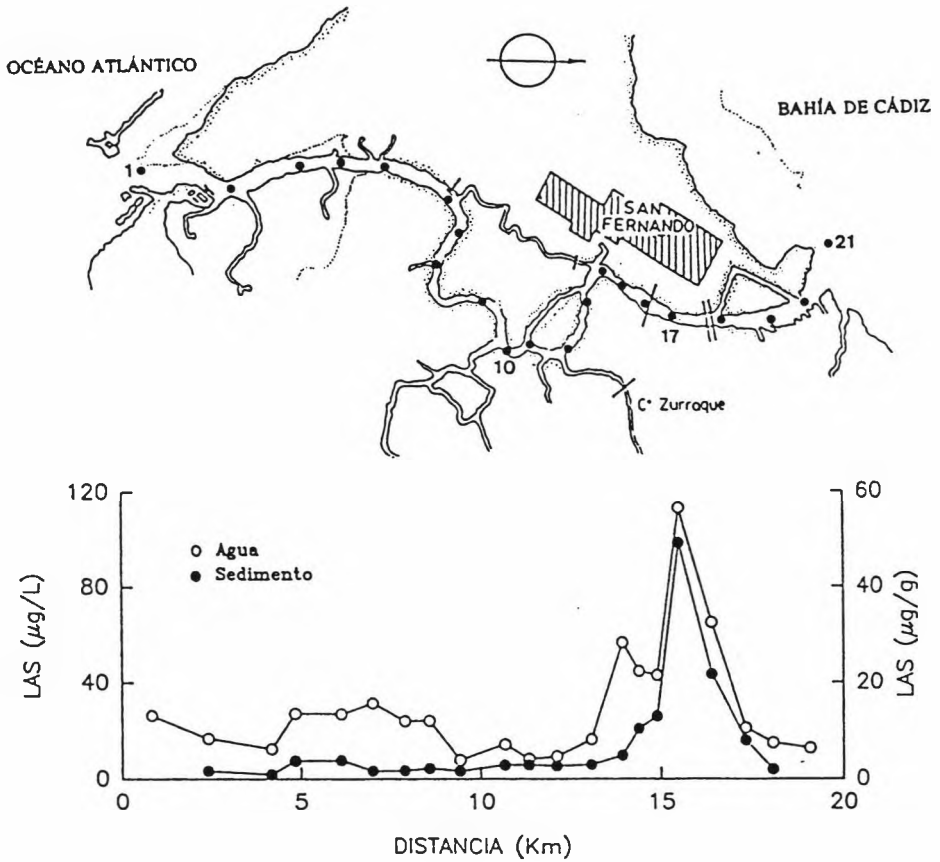


Fig. 3. Distribución espacial a lo largo del Caño de Sancti Petri de la concentración media de LAS en agua y en sedimento para todos los muestreos realizados.

Hon-Nami y Hanya, 1980 y Kikuchi *et al.*, 1986, en aguas exteriores de la Bahía de Tokio. El vertido directo de las aguas residuales urbanas de una población superior a los 120.000 habitantes al caño, define una zona de elevada concentración de LAS con valores que varían de una manera regular desde 50 ppb a 1.5 Kilómetros del efluente hasta 120 ppb en las

proximidades del mismo. El LAS es transportado, debido al efecto de dispersión de las mareas, hacia ambos lados del punto de vertido. La dispersión es mucho más efectiva hacia la bahía, debido a la mayor profundidad de esa parte del caño y a la mayor intensidad de corrientes de marea. Hacia el interior del caño la disminución de la concentración del LAS, es menos marcada lo que en parte se debe a la existencia de vertidos ocasionales procedentes de un aliviadero de la red de alcantarillado. En definitiva ésta zona presenta las concentraciones más elevadas de LAS en agua para el Caño de Sancti Petri en su conjunto, si bien el problema podríamos considerarlo de impacto local debido a los pequeños valores encontrados a una cierta distancia del vertido. La zona central del caño, que coincide con el lugar donde se produce el encuentro de la onda de marea procedente de ambos extremos del caño, es la que presenta una menor profundidad. Las concentraciones medias de LAS en ésta zona son bajas, inferiores a las encontradas en zonas más alejadas del punto de vertido, y por tanto menores a las esperadas como consecuencia del efecto de dispersión de las mareas. En esta zona central poco profunda el agua tiene un tiempo de residencia mayor, lo que explica que el descenso de la concentración de LAS es causado no sólo por el fenómeno de dispersión sino por procesos de eliminación específicos tales como la biodegradación y sedimentación del material particulado.

Las concentraciones encontradas en los sedimentos son bastante más elevadas que en agua como consecuencia de la intensa incorporación del LAS asociado al material particulado, debido a la escasa profundidad de la zona, de la naturaleza arcillosa de los sedimentos y del intenso aporte de LAS que recibe la zona.

En la estación cercana al punto de vertido, se alcanzan concentraciones de hasta 49 ppm, que son incluso más elevadas que las encontradas en zonas muy contaminadas de la laguna de Venecia (Marcomini et al., 1988) o del estuario de Tamagawa en la Bahía de Tokio (Takada y Ogura., 1992), y sus valores disminuyen de forma progresiva hacia ambos lados del caño. La secuencia de disminución de la concentración de LAS en sedimento con la distancia a los efluentes se mantiene para todo el caño. La evolución de la concentración de LAS en los sedimentos, denota la existencia de una zona situada al norte que difiere sensiblemente del resto. En esta zona la concentración en los sedimentos guarda una relación directa con la concentración que tiene como promedio el agua sobrenadante. Sin embargo para el resto del caño no se ha observado una covariación entre la concentración de LAS en ambos compartimentos ambientales. Esto puede estar motivado por la influencia que tiene en la acumulación del tensioactivo al sedimento, las características hidrodinámicas y fisicoquímicas de las aguas. Estos factores que son muy variables en amplias zonas del caño, afectan al transporte de LAS y a su biodegradación, y con ello a su disponibilidad para ser transferido al fondo.

Como una valoración general para todo el caño, se observa que la concentración de LAS está regida por la distancia del lugar considerado al punto donde se produce la entrada de LAS en el sistema, por la capacidad de dispersión de las corrientes de marea, así como por procesos de biodegradación y adsorción.

En la figura 4, se representa por diagramas de barras las concentraciones de LAS en agua y en sedimentos para las estaciones localizadas en el saco interno y en la zona exterior de la Bahía.

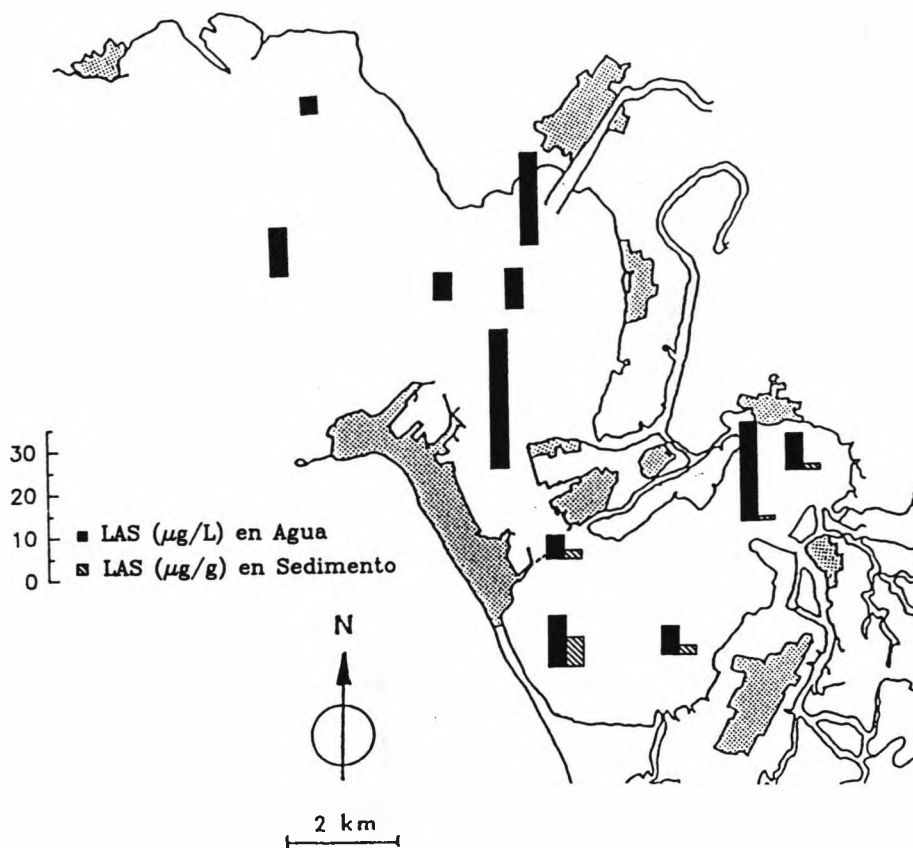


Fig. 4. Concentraciones medias de LAS en agua y en sedimentos para las estaciones localizadas en el saco interno y en la zona exterior de la Bahía.

Los valores encontrados son bajos, similares a los obtenidos por Marcomini *et al.*, (1988), en aguas exteriores de la laguna de Venecia, y por Matthijs y Stalmans (1993), en el estuario de Westerscheldt (Mar del Norte). La zona situada al norte y al este del saco interno presenta las concentraciones en agua más elevadas, debido a que los vertidos de San

Fernando acceden a la Bahía a través de ese lugar. No ocurre lo mismo para los sedimentos debido a que la elevada velocidad de las corrientes de marea en esta zona impide la sedimentación del LAS asociado al material particulado que es transportado hacia otras zonas más remansadas en las que se produce su incorporación al fondo (estaciones localizadas en la parte suroeste del saco interno de la Bahía).

La zona externa de la Bahía presenta unas concentraciones de LAS muy bajas, a excepción de algunas estaciones situadas cerca de los lugares por los que puede producirse una entrada de LAS, con independencia de que correspondan a vertidos directos en la línea de costa o sean transportados por el río Guadalete, y de que se traten de efluentes depurados o sin depurar. La mayor concentración de LAS se encuentra en las proximidades del efluente de la planta de tratamiento de aguas residuales urbanas de la ciudad de Puerto Real.

## CONCLUSIONES

Las concentraciones encontradas en la bahía de Cádiz difieren mucho de una zona a otra, dependiendo de la densidad de población, la existencia o no de plantas depuradoras de aguas residuales, la granulometría de los sedimentos y la tasa de renovación de las aguas. Los mayores valores se encuentran en el sur de la Bahía (Caño de Sancti Petri) y decrecen progresivamente al pasar al saco interno y la zona externa.

Los sedimentos presentan elevadas concentraciones de LAS, especialmente en las proximidades de los lugares de descarga de los efluentes urbanos no tratados. Las concentraciones de LAS en sedimento, del orden de ppm, frente a las encontradas en agua, del orden de ppb, hacen suponer que los sedimentos actúan como un sumidero para el LAS.

**Agradecimientos.** Este trabajo ha sido realizado dentro de un Programa de Investigación suscrito por Petroquímica Española S.A. con el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (Ref 3897/91) y la Universidad de Cádiz (ref.8/91). Deseamos expresar nuestro agradecimiento a D<sup>a</sup> María F. Osta Fort y a D. Pablo Vidal Ostenero por su ayuda en el trabajo de campo y de laboratorio.

## BIBLIOGRAFÍA

- González-Mazo, E., Quiroga, J.M., Sales, D., Gómez-Parra, A. (1993). Determinación de alquilbenceno lineal sulfonato en aguas y sedimentos marinos por cromatografía líquida de alta resolución. *Series de Química Oceanográfica*, Serie II, vol 2/3: 60–76.
- Hon-nami, H., Hanya, T. (1980). Difference in the Composition of Linear Alkylbenzene Sulfonate Homologues in River Sediment and River Water. *Jap. J. Limnol.*, 41(1): 1–4.
- Kikuchi, M., Tokai, A., Yoshida, T. (1986). Determination of trace levels of linear alkylbenzenesulfonates in the marine environment by high-performance liquid chromatography. *Wat. Res.*, 20(5): 643–650.
- Marcomini, A., Pavoni, A., Sfriso, A., Orio, A. A. (1988). Aromatic Surfactants in the marine environment: analysis and occurrence of LAS, NPEO, and NP. En:

Proceedings of the 3rd International Conference on Environmental Contamination, Venecia.

- Marcomini, A., Stelluto, S., Pavoni, B. (1989). Determination of Linear Alkylbenzenesulphonates and Alkylphenol Polyethoxylates in Commercial Products and Marine Waters by Reversed- and Normal- Phase HPLC. *Inter. J. Environ. Anal. Chem.*, **35**: 207–218.
- Matthijs, E., Stalmans, M. (1993). Monitoring of LAS in the North Sea. *Tenside Surf. Det.*, **30**(1): 29–33.
- Prats, D., Ruiz, F., Vázquez, B., Zarzo, D., Berna, J.L., Moreno, A. (1993). LAS homolog distribution shift during wastewater treatment and composting: ecological implications. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **12**: 1599–1608.
- Stalmans, M., Matthijs, E., de Oude, N.T. (1990). Fate and effect of detergent chemicals in the marine and estuarine environment. En: North Sea Pollution: Technical Strategies For Improvement. Amsterdam, September, 10–14.
- Takada, H., Ogura, N. (1992). Removal of linear alkylbenzenesulphonates (LAS) in the Tamagawa Estuary. *Marine Chemistry*, **37**: 257–273.
- Takada, H., Ishiwatari, R., Ogura, N. (1992). Distribution of Linear alkylbenzenes (LABs) and Linear alkylbenzenesulphonates (LAS) in Tokyo bay sediments. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **35**: 141–156.
- Terzic, S., Hrsak, D., Ahel, M. (1992). Enrichment and Isolation of Linear Alkylbenzenesulphonate (LAS) Degrading Bacteria from Estuarine and Coastal Waters. *Marine Pollution Bulletin*, **24**(4): 199–204.
- Terzic, S., Ahel, M. (1993). Determination of Linear Alkylbenzene Sulphonates in the Krka River Estuary. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **50**: 241–246.





## TOXICIDAD DE SEDIMENTOS MARINOS DEL GOLFO DE CADIZ SOBRE UNA POBLACION DEL ROTIFERO *Brachionus plicatilis* CULTIVADOS EN AGUA INTERSTICIAL

T.A. DelValls<sup>1</sup>, J.M. Forja<sup>1</sup>, L. Lubián<sup>2</sup>, A. Gómez-Parra<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dpto. De Química Física, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad de Cádiz, 11510 Puerto Real (Cádiz)

<sup>2</sup>Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía, C.S.I.C., Apartado Oficial, 11510 Puerto Real (Cádiz)

### RESUMEN

Se ha medido la toxicidad de los sedimentos de siete lugares de la bahía de Cádiz y de la marisma del río Barbate por medio de un bioensayo en el que se estudia el comportamiento de una población de rotíferos *Brachionus plicatilis* cultivada en el agua intersticial. La duración del bioensayo es de siete días y la respuesta medida es la alteración de la tasa de decrecimiento de la población de rotíferos en inanición. Los valores de los TL<sub>50</sub> (tiempo en el que el número inicial de rotíferos se reduce al 50%) se establece por medio del método "probit" de linealización de la curva logística de decrecimiento de la población.

Los resultados obtenidos han puesto de manifiesto que el bioensayo desarrollado es sensible y tiene una buena reproducibilidad. Estos resultados están, por otra parte, en concordancia con los distintos niveles de contaminación existentes en los distintos lugares estudiados.

### SUMMARY

The toxic effects of sediment samples collected from seven stations selected in two littoral ecosystems from the Gulf of Cadiz (five at the Bay of Cadiz and two at the saltpond

of the Barbate River) were tested using the population decline of the rotifer *Brachionus plicatilis*, in starvation conditions, when are exposed to interstitial waters extracted from those sediment. The time required for 50% of inoculated population to die (TL<sub>50</sub>) was the end-point selected to describe the decline process of the population during seven days of test duration. The TL<sub>50</sub> was calculated by linear regression of log toxicant time on decline probit values, using a probit analysis. The results obtained have demonstrate that the toxicity test described is a sensitive test to measure sediment toxicity because the good correlations between the adverse biological effect measured and the chemical concentrations in sediments.

## INTRODUCCION

La evaluación de la toxicidad de sedimentos es una cuestión compleja ya que en este tipo de estudios se mide la respuesta de los organismos al conjunto de los contaminantes que se encuentran en el medio, por lo que contempla de una manera implícita los posibles efectos sinérgicos o antagónicos que puedan existir. Es conocido que el agua intersticial puede almacenar cantidades importantes de contaminantes orgánicos e inorgánicos que pueden considerarse como biodisponibles (Luoma y Ho, 1992). Existen numerosos trabajos en los que se ha utilizado agua intersticial para evaluar la toxicidad de sedimentos, por ejemplo con larvas de poliquetos *Arenicola marina* y *Dinophilus gyroxiliatus* (Carr *et al*, 1989; Walsh *et al*, 1986), larvas de bivalvos *Mytilus edulis* y *Crassostrea virginica* (Williams *et al*, 1986; Cherr *et al*, 1990), larvas de erizo de mar *Strongylocentrotus purpuratus* (Long *et al*, 1990) e incluso embriones y/o espermatozoides de *Arbaica punctulata* (Nacci *et al*, 1986).

La utilización del grupo rotatoria dentro de los ensayos de toxicidad ha sido descrita por diversos autores (Besch, 1982; Sladeczek, 1983; Fernández-Casalderrey *et al*, 1991; Snell y Persoone, 1989; Weiss *et al*, 1992) Estas son sus principales características: i) Son cosmopolitas y representan un eslabón importante en la cadena trófica del sistema acuático; ii) tienen un ciclo de generación corto (3-4 días); iii) las condiciones de cultivo permanente en el laboratorio son poco exigentes; iv) al reproducirse partenogenéticamente pueden ser mantenidos como clones y v) el espectro de tamaños (0,04-2 mm) permite la utilización de un elevado número de individuos para volúmenes pequeños de muestra.

En este trabajo se estudia el efecto del agua intersticial extraída de diferentes sedimentos recogidos en el golfo de Cádiz, sobre una población de rotíferos de la especie *Brachionus plicatilis*.

## MATERIAL Y METODOS

### Descripción de la zona de estudio

Las estaciones elegidas se encuentran en dos zonas del golfo de Cádiz: la bahía de Cádiz y la marisma del río Barbate. Todas las estaciones están sometidas a un régimen de marea semidiurno de intensidad apreciable. El criterio seguido en la elección de las esta-

ciones fue el que estuvieran sometidas en distinto grado a contaminación de origen urbano e industrial. Los sedimentos fueron recogidos con una draga tipo Van Veen, e introducidos en una nevera. Una vez en el laboratorio se mantuvo en oscuridad a 4°C, tras homogeneizar el sedimento hasta que no se apreciaron variaciones en su color y en su textura. Transcurridas 24 h después de la recolección del sedimento, se tomó una alícuota de la muestra de sedimento y se procedió a la extracción del agua intersticial por centrifugación a 2600 g, durante 2 horas y a una temperatura de 2°C.

### Obtención de los organismos

Los individuos sobre los que se desarrolló el bioensayo fueron obtenidos, mediante cultivo, en las instalaciones del Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (C.S.I.C.). El bioensayo se realizó con una población que permaneció en inanición las 24 horas previas al inicio. Los inóculos utilizados contenían 200 ejemplares ml<sup>-1</sup> con tamaños comprendidos entre 180 y 200 µm.

### Desarrollo del bioensayo:

El bioensayo se desarrolló siguiendo el procedimiento estandarizado propuesto por la "American Society for Testing and Materials" (ASTM, 1991) y Chapman (1988). Los controles de toxicidad negativa (ausencia de toxicidad) fueron dos: agua de mar oceánica filtrada a 0,45 µm (AM) y agua intersticial obtenida de un sedimento tomado en un lugar exento de contaminación (CN). Los ensayos se realizaron por duplicado en frascos de vidrio (Pyrex) con una capacidad de 50 ml (45 ml de agua intersticial más 5 ml del cultivo de rotíferos). La temperatura seleccionada 25°C corresponde a la óptima para el crecimiento de la especie utilizada (Yúfera *et al*, 1987; Snell y Persoone, 1989). Durante el bioensayo no se suministró alimentación ni se utilizó ningún sistema de aireación. La iluminación (150 µE.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>) se mantuvo constante durante todo el ensayo. La salinidad se midió al inicio y al final del bioensayo y osciló entre 33-35 para todas las estaciones. El pH y la concentración de oxígeno no varió de manera apreciable para las distintas estaciones muestreadas y sus valores estuvieron comprendidos entre 7,5-8,0 y 4-6 mg O<sub>2</sub>.ml<sup>-1</sup>, respectivamente.

El recuento de los rotíferos supervivientes se realizó tres veces al día utilizando 0,5 ml de muestra los primeros días de ensayo y 1 ml al final del ensayo. El recuento se realizó en dos fases, en una primera se contaban los individuos muertos y, posteriormente, todos los individuos tras ser fijada la muestra utilizando formaldehído al 3%. Se tomó como criterio para dar por válido el bioensayo la existencia de una diferencia menor del 10% entre los resultados del control negativo de contaminación y los que se obtienen en un cultivo de *Brachionus plicatilis* sometido a inanición (Pozuelo, 1975). Un esquema de las condiciones generales de desarrollo del bioensayo se reflejan en la Tabla 1.

### Análisis químicos

En los sedimentos se determinó la cantidad de carbono orgánico, LAS y 7 metales pesados (Fe, Mn, Zn, Cu, Pb, Cd y Cr). El carbono orgánico se analizó mediante la técnica

**Tabla 1.** Condiciones generales del desarrollo del bioensayo que utiliza poblaciones del rotífero *Brachionus plicatilis* cultivadas en agua intersticial.

**Objetivo:** El diseño del test se ha realizado para evaluar la toxicidad de los contaminantes que se encuentran en sedimentos recogidos *in situ* en diferentes estaciones del golfo de Cádiz a través de la evaluación de la respuesta tóxica de una población de rotíferos expuesta a agua intersticial extraída de estos sedimentos.

**Especie:** Rotatoria: *Brachionus plicatilis*, cepa S-1. Tamaño de 180-200µm.

**Temperatura:** 25.1°C

**Luminosidad:** 150 µE.m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>, constante.

**Medio de cultivo:** Agua intersticial extraída mediante centrifugación a 2600 g durante 2 horas y una temperatura de 2°C. Volumen mínimo 100 ml por estación.

**Sistema de exposición:** Frascos de vidrio (pyrex) cerrados y sin aireación con una capacidad de 50 ml. Durante el ensayo no se les suministró alimento.

**Tiempo de exposición:** 7-8 días (Ciclo completo de decrecimiento de una población de rotíferos de estas características - Pozuelo, 1975-).

**Variable utilizada para determinar la toxicidad:** El tiempo que transcurre hasta que disminuye el 50% de la población inoculada (TL<sub>50</sub>).

**Cálculo del TL<sub>50</sub>:** Análisis probit ("EPA probit analysis v. 4.1.")

**Procedimiento de control de calidad del ensayo:** Utilización de controles de toxicidad: i) Control negativo agua de mar oceánica, filtrada 0,45 µm y agua intersticial procedente de sedimento con ausencia de contaminación. Determinación de la salidad, el pH y el oxígeno disuelto al inicio y al final del bioensayo. Criterio de validez del ensayo mortalidad igual o menor al 10% en el control negativo.

**Nota:** El método ha sido desarrollado para la evaluación de la toxicidad de sedimentos del golfo de Cádiz y está en fase de mejora, por lo que no ha sido utilizado de forma rutinaria en el estudio de toxicidad de sedimentos. Por otro lado, incorpora la evaluación de una respuesta tóxica que hace referencia a un ciclo completo de una población perteneciente a una especie marina.

ca de Gaudette *et al.*, (1974), utilizando la modificación El-Rayis (1985). El LAS fue determinado por HPLC (Gonzalez-Mazo *et al.*, 1994). La determinación de los metales pesados se realizó por espectrofotometría de absorción atómica con llama, salvo para el Cd y Pb, que se utilizó horno de grafito, tras someter la muestra de sedimento a un ataque ácido con HCl y HNO<sub>3</sub> (calidad Suprapur) en proporción 4:1 v/v.

### Tratamiento de los datos

La determinación del TL<sub>50</sub>, se realizó mediante una transformación probit de la curva de decrecimiento de la densidad de rotíferos, utilizando un programa de cálculo suminis-

trado por la EPA. El  $TL_{50}$  representa el período de tiempo que tarda en disminuir el 50% de la población inicial de rotíferos que fue inoculada.

La discriminación de la toxicidad se realizó mediante un análisis normal de la varianza ( $P < 0,01$ ), y para evaluar la homogeneidad entre estaciones se utilizó el test multiparamétrico de Newman y Keuls ( $P < 0,05$ ).

## RESULTADOS

En la tabla 2 se muestran los resultados obtenidos en los análisis químicos para las distintas estaciones estudiadas. El valor medio de carbono orgánico total en sedimentos fue de  $2,03 \pm 0,79$ . El valor máximo se encontró en la estación SP16, que se encuentra cerca del punto de vertido de los efluentes urbanos de la ciudad de San Fernando, y el valor mínimo se encontró en la estación BA0, la marisma del río Barbate. En lo que respecta a las concentraciones de metales pesados, se observa que, en líneas generales los valores encontrados en las estaciones CT06, SP20 y SP16 son más altos que en el resto de estaciones. Existen algunas diferencias acusadas en la concentración de determinados metales en las zonas estudiadas. Destacan, por sus valores excepcionalmente altos, las concentraciones de Cr en la estación CT06. Por otra parte las concentraciones del tensioactivo LAS en el sedimento son relativamente bajas, a excepción de la estación SP16.

En la figura 1 se representan las curvas de decrecimiento de la población de rotíferos para cada uno de los duplicados y los valores medios obtenidos para cada una de las estaciones que se evaluaron. En estas curvas, el punto de inflexión es aquel que determinaría el

**Tabla 2.** Resultados de los análisis de sedimentos recogidos en las estaciones seleccionadas en este estudio.

	SP02	SP16	SP20	SBPR	CT06	BA01	BA05
$C_{org.}(\%)$	1,39	2,96	2,21	1,82	2,46	0,59	1,86
LAS (ppm)	0,95	49,0	7,97	1,30	1,2	1,41	0,79
Metales pesados:							
Fe (%)	2,41	3,69	2,73	3,31	1,6	2,88	3,16
Mn ( $\mu\text{g/g}$ )	373	291	356	356	411	262	334
Zn ( $\mu\text{g/g}$ )	122	194	247	166	105	60,6	98,4
Cu ( $\mu\text{g/g}$ )	21	49	41	40	46	24,6	37,5
Pb ( $\mu\text{g/g}$ )	39	86	74	71	56,1	29,4	33,5
Cd ( $\mu\text{g/g}$ )	1,52	2,29	1,98	1,55	0,81	1,10	0,68
Cr ( $\mu\text{g/g}$ )	45,5	75,1	51,1	32,2	249,3	27,5	88,2

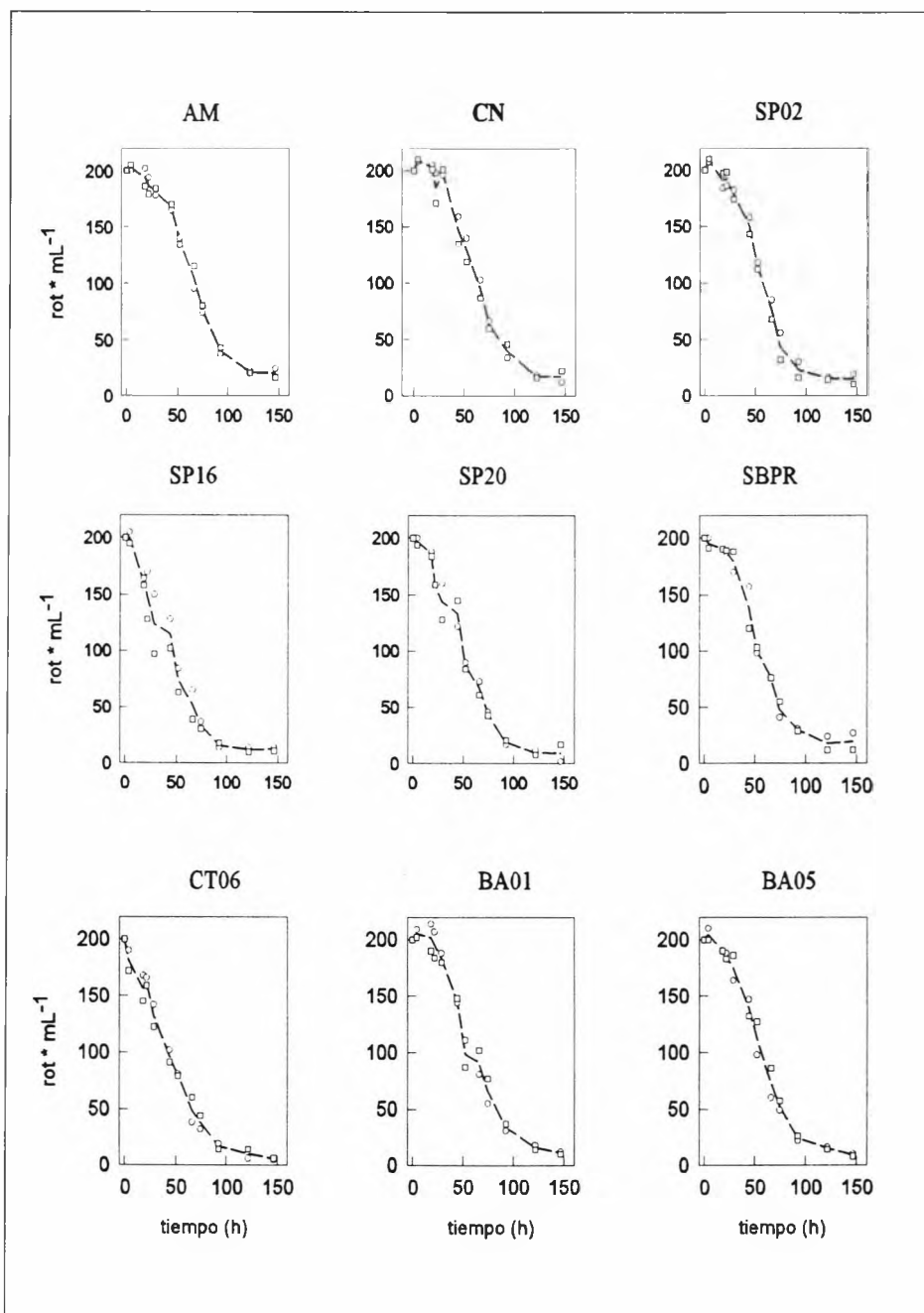


Figura I. Variación temporal de la densidad de *Brachionus plicatilis* en los dos controles de toxicidad negativos (AM y CN) y en el agua intersticial de los sedimentos de las estaciones estudiadas.

período en el cual se alcanza el valor medio de la población de rotíferos. Aunque se aprecian diferencias entre los puntos de inflexión de las curvas correspondientes a las estaciones SP16 y CT06 y el resto de las estaciones, se calculó  $TL_{50}$  para cada una de éstas (Tabla 3). En la figura 2 se muestra, a modo de ejemplo, el método probit de cálculo del período que tarda la población inoculada en disminuir un 50% y de linealización de la curva de decrecimiento de la densidad de rotíferos para las estaciones SBPR y CT06.

Los valores de  $TL_{50}$  calculados para los controles de toxicidad negativa CN y AM fueron, los mayores que se registraron. Los resultados obtenidos concordaron con los obtenidos para *Brachionus plicatilis* sometidos a condiciones de inanición en otros estudios (Pozuelo, 1975). El valor más pequeño del tiempo letal del 50% de la población inoculada lo presentó la estación CT06.

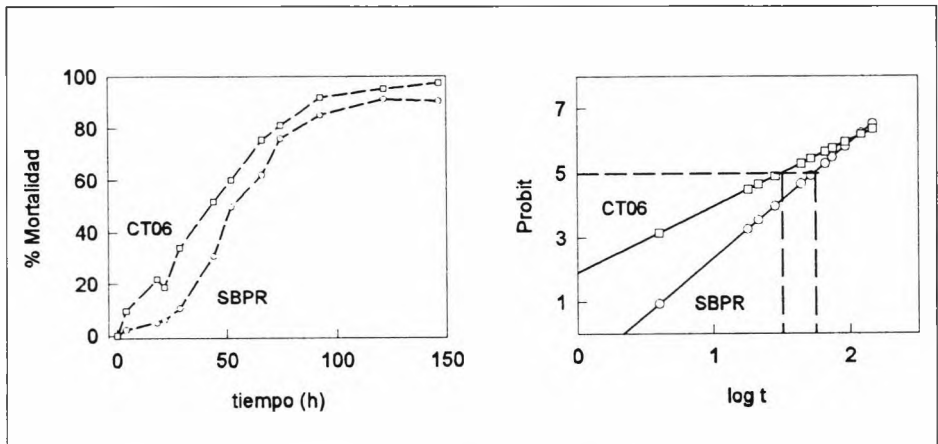


Figura II. Ejemplo de transformación “probit” de los datos obtenidos para las estaciones CT06 y SBPR.

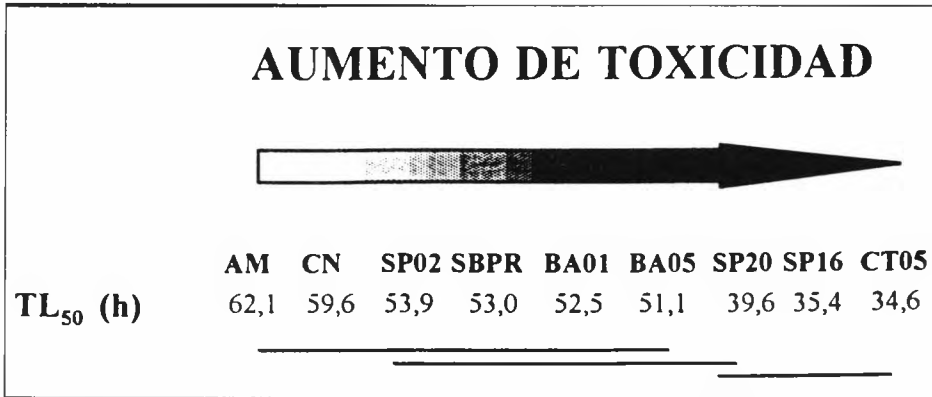
Tabla 3. Valores de  $TL_{50}$  (en horas), obtenido para cada duplicado y la media por estación y en los controles de toxicidad negativa CN y AM.

	CN	AM	SP02	SP16	SP20	SBPR	CT06	BA01	BA02
$TL_{50}$	62,5	62,2	56,7	40,7	38,1	52,5	39,1	56,4	49,1
	56,7	62,1	51,2	30,1	41,1	53,5	30,2	48,6	53,1
	59,6	62,1	53,9	35,4	39,6	53,0	34,6	52,5	51,1



## DISCUSION

En líneas generales las concentraciones de los contaminantes analizados en las estaciones estudiadas en la bahía de Cádiz se encuentran comprendidas dentro de las variaciones normales descritas para otros ecosistemas costeros (Sadiq, 1992). Los resultados obtenidos para los niveles de metales pesados en sedimentos son similares a los encontrados anteriormente por Gómez-Parra *et al.* (1990) en sedimentos de la bahía de Cádiz y sus caños circundantes. Cabe señalar el valor elevado del nivel de Cr en sedimentos en la estación CT06 que debe guardar relación con la intensificación de la actividad industrial en esa zona de la bahía. Por otro lado, el valor de Fe medido en la estación BA01 se encuentra por debajo de los valores registrados en la bibliografía anteriormente mencionada, esto puede estar motivado, en parte, por el elevado contenido en arena de sus sedimentos. Los valores del tensioactivo LAS son extremadamente elevados en la estación SP16 motivados fundamentalmente por el aporte de aguas residuales urbanas, sin depurar, provenientes de la ciudad de San Fernando.



**Figura III.** Resultados del análisis comparativo entre estaciones para los TL<sub>50</sub> obtenidos en el ensayo de toxicidad. Las líneas por abajo de los valores de TL<sub>50</sub> indican a aquellas estaciones no distinguibles estadísticamente para P≤0.05 (Test de Newman-Keuls).

El análisis normal de la varianza (ANOVA) y el análisis de similitud entre estaciones de los resultados obtenidos en el ensayo de toxicidad (TL<sub>50</sub>) muestra la existencia de diferencias significativas entre los controles de toxicidad negativa y algunas de las estaciones evaluadas (Fig.3). Las estaciones que presentaban niveles de contaminantes bajos (SP02, SNPR, BA01 y BA05), forman un grupo cuya respuesta es similar a la observada en los controles (AM y CN). Por el contrario, las estaciones SP20, SP16 y CT06 (con altos niveles de contaminación) constituyen un grupo diferente, en el que no se aprecia similitud con ninguno de los controles, por lo que puede considerarse que sus sedimentos son tóxicos. Esta toxicidad debe considerarse moderada para la estación SP20. La falta de medidas de toxicidad de los sedimentos en las zonas estudiadas utilizando bioensayos estandarizados no permite establecer la sensibilidad del ensayo que se propone. No obstante, la validez de los

resultados del test puede inferirse de la capacidad de discriminación para las distintas estaciones establecidas y por la coincidencia de las respuestas medidas en los controles de toxicidad negativa con los períodos de decrecimiento de poblaciones de *Brachionus plicatilis*, sometidas a inanición.

**Agradecimientos.** Este trabajo ha sido realizado dentro del proyecto AMB94-0291 de la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología.

## BIBLIOGRAFIA

- ASTM (1991). Standard Guide For Collection, Storage, Characterization And Manipulation Of Sediment For Toxicological Testing. ASTM Publ.E 1391-90
- Besch, W.K. (1982). "Kritische Bewertung der Rolle von toxikologischen Test bei der Gewässerüberwachung". *Decheniana-Beihefte*, **26**: 67-77
- Burton, G.A. Jr. (1989). "Evaluation of seven sediment toxicity test and their relationships to stream parameters". *Tox. Assess*, **4**: 149-159
- Carr, R.S.; J.W. Williams; C.T.B. Fragata (1989). "Development and Evaluation of a Novel Marine Sediment Pore Water Toxicity Test with the Plychaete *Dinophilus gyrociliatus*". *Environ. Toxicol. Chem.*, **8**: 533-543
- Chapman, P.M. (1988). "Marine sediement toxicity test". In: *Chemical and Biological Characterization of Sludges, Sediments, Dredge Spoils and Drilling fluids* (J.J. Lichtenberg; F.A. Winter, C.I. Weber and L. Fradkin, eds.) STP 976. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, pp 391-402
- Chapman; P.M. (1990). The Sediment Quality Triad approach to determining pollution-induced degradation. *Sci. Tot. Environ.* **97-8**: 815-825
- Cherr, G.N.; J. Shoeffner-McGee; J.M. Shenker (1990). "Methods for assesing fertilization and embryonic/larval development in toxicity test using the california mussel *Mytilus californianus*". *Environ. Toxicol. Chem.* **9**: 1137-1145
- El-Rayis, O.A. (1985). Re-assessment for the titration method for determination of organic carbon in recent sediments. *Rapp. Comm. Int. Mer. Medit.*, **29**: 45-47
- Fernández-Casalderrey, A.; M.D. Ferrando; E. Andreu-Moliner (1991). "Demographic parameters of *Brachionus plicatilis* Pallas (Rotifera) exposed to sublethal endosulfan concentrations". *Hydrobiologia*, **223**: 103-110
- Gaudette, H.E., Flight, W.R., Torner, L. Y Folger, D.W. (1974). An inexpensive titration method for the determination of organic carbon in recent sediments. *J. Sedim. Petrol.*, **44**: 249-253
- Gómez-Parra, A.; J.M. Forja; J. Blasco; R. Establier (1990). Evolution of heavy metals concentration in superficial sediments from the Bay of Cadiz during 1980-1989. *Proc. 4 International Conference on Environmental Contamination*. Barcelona, October 1990

- Gonzalez-Mazo, E.; A. Gómez-Parra (1994). Niveles de alquilbencenosulfonatos lineales (LAS) en agua, sedimento y material en suspensión en diversos ecosistemas del litoral de Cádiz. *Sem. Qui. Mar.* 6. (En prensa)
- Harries, H.P.; P.E. Sager, H.A. Regier; G.R. Francis (1990). "Ecotoxicology and ecosystem integrity: the great lages examined". *Environ. Sci. Technol.*, 24: 598-603
- Long, E.R.; M.F. Buchman; S.M. Bay; D.J. Breteler; P.M. Chapman; J.E. Hose; A.L. Lissner; J. Scott; D.A. Wolfe (1990). Comparative evaluation of five toxicity tests with sediments from S. Francisco Bay and Tomales Bay, California. *Environ. Toxicol. Chem.*, 9: 1193-1214
- Luoma, S.N.; K.T. Ho (1992). The appropriate uses of marine and estuarine sediment bioassays. In: *The Handbook of Ecotoxicology* Ed. P. Calow. **Cap. 11:** 193-226
- McGee, B.L.; Ch.E. Schlekat; E. Reinharz (1993). "Assesing sublethal levels of sediment contamination using the estuarine amphipod *Leptocheirus plumulosus*". *Environ. Toxicol. Chem.*, 12: 577-587
- Nacci, D.E.; E. Jackim; R. Walsh (1986). Comparative evaluation of three rapid marine toxicity test: sea urchin early embryo growth test, sea urchin sperm cell toxicity test and Microtox. *Environ. Toxicol. Chem.*, 5: 521-526
- Pozuelo, M. (1975). Cultivo del rotífero *Brachionus plicatilis* obtención de un zooplancton artificial. *Publ. Tec. Dcon. Gral. Pesca Marítima*. Ministerio de Comercio. 11: 401-416
- Sadiq, M. (1992). Toxic metal chemistry in marine environments arcel Dekker, Inc. New York. 390 pp.
- Sladecék, V. (1983). "Rotifer as indicator of water quality". *Hydrologia*, 100: 169-201
- Snell, T.W.; G. Persoone (1989). "Acute toxicity bioassays using rotifers. I. A test for brackish and marine environments with *Brachionus plicatilis*". *Aquatic Toxicology*, 14: 65-80
- Walsh, G.E.; M.K. Louie; L.L. McLaughlin; E.M. Lores (1986). "Lougworm *Arenicola cristata* larvae in toxicity tests: survival and development when exposed to organotins". *Environ. Toxicol. Chem.*, 5: 749-754
- Weiss, K.; J.P. Lay; A. Goepfel; R. Lang (1992). "The rotifer toxicity test". *Chemosphere*, 25(4): 517-524
- Williams, L.G.; P.M. Chapman; T.C. Ginn (1986). "A comparative evaluation of marine sediment toxicity using bacterial luminescence, oyster embryo and amphipod sediment bioassays". *Marine Environ. Res.*, 19: 225-249
- Yúfera, M.; L.M. Lubián; E. Pascual (1987). Efecto de cuatro algas marinas sobre crecimiento poblacional de dos cepas de *Brachionus plicatilis* (Rotifera: Brachionidae) en cultivo. *Inu. Pesq.*, 42(2): 325-337

# APORTE DE ALQUIL BENCENO SULFONATO LINEAL (LAS) AL MEDIO MARINO POR VERTIDOS DE EFLUENTES URBANOS TRATADOS EN PLANTAS DEPURADORAS

*Pérez García, M.; Romero García, L.I.; Sales Márquez, D.; Nebot Sanz, E.; Quiroga Alonso, J.M.*  
Dpto. Ingeniería Química, Tecnología de Alimentos y Tecnologías del Medio Ambiente.  
Facultad de Ciencias del Mar. Universidad de Cádiz.

## RESUMEN

El principal agente contaminante del medio marino son las aguas residuales urbanas. Además de material orgánico estas aguas contienen determinadas sustancias que pueden inhibir o modificar el conocido proceso de biodegradación en las plantas de depuración. Entre estas sustancias destaca el LAS, tensioactivo de mayor producción y consumo. Las plantas de tratamiento no se diseñan para la degradación de tensioactivos y el LAS puede acumularse o ejercer fenómenos de inhibición. Resulta, por tanto, interesante abordar un estudio completo de la degradación aerobia de tensioactivos en plantas de tratamiento y evaluar la cantidad que finalmente será vertida al mar.

## ABSTRACT

The main source of synthetic chemical substances discharged into marine ecosystem are the surfactants present in detergent formulations. Microbiological processes have been shown to be the most adequate for removing both organic compounds and surfactants. However, wastewater treatment plants are not designed to eliminate surfactants present, even though their inhibiting effects on microorganisms responsible for microbiological treatments are well-known. Therefore, it is very interesting to study the effect of LAS on microorganisms in microbiological treatment units to determine the residual LAS concentration that is reaching the collector channels. The present paper discusses the effect of LAS

on the purification efficiency of aerobic treatment plants, and LAS biodegradation itself in such plants.

**Palabras clave:** Degradación, tratamientos aerobios, LAS.

## 1. INTRODUCCION

Los componentes que forman la parte principal en la formulación de los detergentes y a los que éstos deben sus propiedades más características son los tensioactivos, materia activa de los mismos. El LAS (Alquilbenzeno Sulfonato Lineal) es el principal contaminante sintético contenido en las aguas residuales domésticas. Las aguas residuales urbanas son vertidas finalmente al mar, bien directamente o bien sometidas a algún tipo de tratamiento depurativo previo.

Numerosos investigadores han evaluado el efecto nocivo de estas sustancias sobre los microorganismos presentes en los ecosistemas naturales (Marchetti, 1964, 1965, 1968; Muller, 1980). Dichos efectos son aún más acentuados sobre la fauna marina ya que la sal favorece la acumulación de tensioactivos en la interfase líquido-aire de la disolución provocando un fuerte descenso de la tensión superficial (valores inferiores a 40 mN/m son letales en la mayoría de las especies y pueden llegar a alcanzarse con tan sólo concentraciones de 2 a 2.5 mg/L de LAS). En consecuencia, es necesario evitar que el LAS se vierta directamente o se acumule en el medio acuático marino. Los procesos habitualmente utilizados para la depuración de aguas residuales urbanas (tratamiento aerobio por lodos activados) no están diseñadas para la eliminación de LAS sino de materia orgánica. Por tanto, las aguas residuales urbanas tratadas en E.D.A.R. pueden seguir conteniendo cantidades apreciables de LAS no degradado. No obstante, se han observado efectos nocivos de estos compuestos sobre la flora responsable de los procesos naturales de biodegradación a partir de concentraciones de materia activa de 15 ó 20 mg/L (Abbot, 1968), concentraciones que suelen ser las habituales en aguas residuales domésticas antes de su tratamiento en plantas depuradoras.

Por tanto, resulta interesante abordar un estudio completo de la degradación aerobia de tensioactivos procesos de tratamiento y evaluar la cantidad que finalmente será vertida al mar.

En consecuencia, el objetivo del presente trabajo es evaluar el proceso de la biodegradación aerobia de un agente tensioactivo aniónico comercial, LAS, en aguas residuales sintéticas y determinar la concentración final de éste resistente a dicho proceso.

## 2. PROCESO EXPERIMENTAL

Para la consecución del fijado objetivo se llevaron a cabo un conjunto de experimentos en los que se estudió la degradación aerobia del LAS en un agua residual de naturaleza sintética inoculada con lodos activos procedentes de una depuradora de aguas residuales urbanas.

## 2.1. Equipo

Los ensayos se realizaron en unidades de digestión aerobia con una capacidad total de 2L y un volumen útil de 1,8L. Cada reactor está equipado de una tapa provista de varias bocas, una de las cuales se utiliza para la extracción de muestra y otra para la oxigenación del medio. La temperatura de trabajo se mantiene constante a 25°C. Los reactores se disponen sobre agitadores que facilitan la homogeneización del medio y se conectan aireadores, con un caudal volumétrico constante, y difusores que favorecen la transferencia de oxígeno en el medio de ensayo.

Las alimentaciones utilizadas son de naturaleza sintética y de composición perfectamente conocida preparadas a partir de una solución nutriente mineral (según recoge el método oficial español para la determinación de la biodegradación de tensioactivos; BOE num. 260, pag. 34266), una fuente de Carbono (glucosa) y diferentes concentraciones de la sustancia bajo estudio (LAS). El porcentaje de homólogos del LAS utilizado fue: C<sub>10</sub>=3,9%; C<sub>11</sub>=37,4%; C<sub>12</sub>=35,4%; C<sub>13</sub>=23,1%; C<sub>14</sub>=0,2%, presentando una longitud media ponderada de la cadena de 11,7 átomos de Carbono.

Para la inoculación se utilizó un efluente procedente del reactor secundario de una planta de tratamiento biológico para aguas residuales urbanas (E.D.A.R.), ubicada en Puerto Real (Cádiz, España). Esta planta opera según el proceso denominado de lodos activos. En el momento de la toma del inóculo la planta se encontraba trabajando en perfectas condiciones. La cantidad de inóculo adicionada a cada reactor supone el 5% del volumen total de éste.

## 2.2. Técnicas analíticas

Para el seguimiento detallado del proceso de degradación se determinaron, periódicamente, los siguientes parámetros: pH, mediante un electrodo combinado; DQO (Demanda Química de Oxígeno), en mg O<sub>2</sub>/L, por dicromatometría y posterior detección espectrofotométrica; Sólidos Totales en Suspensión (STS), y volátiles (SVS) de acuerdo con los "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewaters" (Clesceri, 1989), en g/L; la concentración de ácidos grasos volátiles (mg/L) determinada por cromatografía de gases.

El LAS se determina por HPLC, mediante una columna Lichrosorb rp-8, 10m, de dimensiones 25/0.4 cm; el eluyente empleado es metanol:agua (80:20) + 10 g/L de perclorato sódico; caudal de flujo: 1 mL/min; presión de la columna: 1100 psi.; temperatura ambiente; detección fluorimétrica ( $\lambda$  emis = 225 nm,  $\lambda$  excit = 295 nm); volumen de muestra inyectado: 50 mL; columnas rellenas de octil-sílice, de las características especificadas anteriormente; precolumnas de filtración C-8; régimen isocrático.

## 2.3. Plan de trabajo

El presente trabajo contempla el estudio de la descomposición biológica del LAS en ocho experimentos de biodegradación llevados a cabo con idéntica concentración de materia orgánica (10 gDQO/L) y diferentes cantidades iniciales de LAS (25, 35, 50, 70, 100,

200 y 400 ppm de LAS). Todos estos estudios se realizaron a las mismas condiciones de operación e incluyendo un blanco en cada grupo de experiencias que permitía comprobar el correcto funcionamiento del sistema.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSION

En la Figura I se muestran las evoluciones temporales del LAS (en ppm) para las diferentes experimentos realizados con diferentes concentraciones iniciales de LAS en el medio de ensayo.

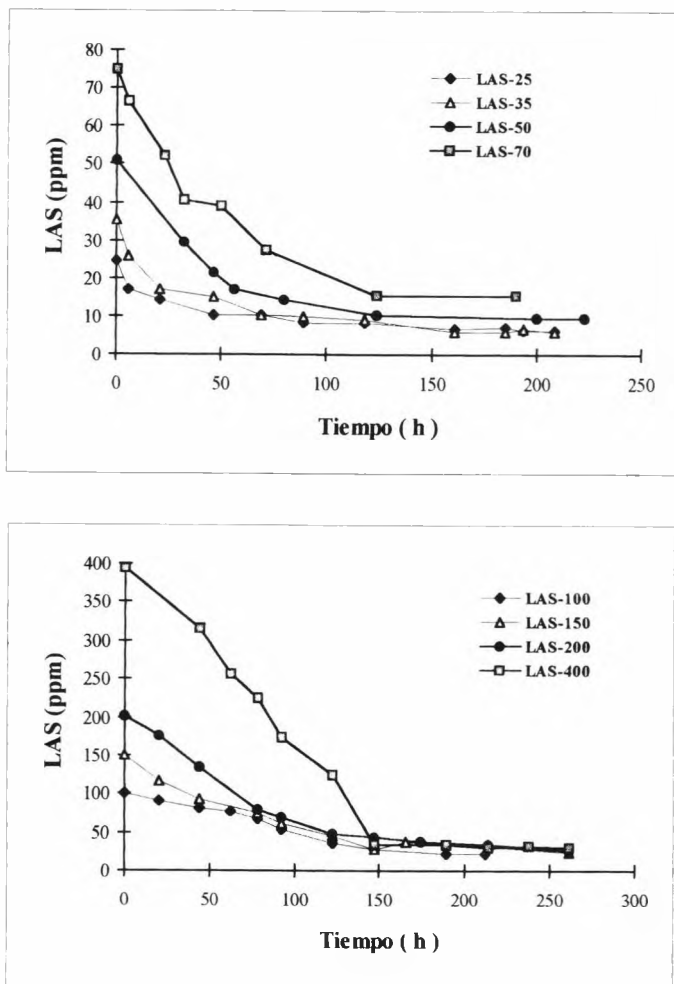


Figura I. Evolución temporal del LAS en experimentos con concentraciones iniciales de 25, 35, 50, 70, 100, 150, 200 y 400 ppm de LAS.

Como se puede observar en dichas gráficas, las curvas de biodegradación del LAS representadas se asemejan a exponenciales decrecientes correspondientes a cinéticas de primer orden (como sugieren algunos autores; Hrsak, 1981, Terzić, 1992). No obstante, un aumento en la concentración inicial de LAS en el medio provoca mayores tiempos de adaptación de la flora al sustrato (LAS) y, en consecuencia, las curvas de biodegradación se modifican sensiblemente adaptándose a la forma de las curvas propuesta por Sales y Quiroga (1991, cinética de degradación polinómica), que recogen dicho período de latencia o aclimatación flora-sustrato.

Así por ejemplo, en el experimento con un contenido inicial de 25 ppm de LAS, el proceso de biodegradación concluye en un tiempo aproximado de 50 horas. La velocidad del proceso se ralentiza progresivamente al aumentar la concentración de LAS de forma que para las experiencias con 200-400 ppm de LAS son necesarias 150 horas para la conclusión del mismo.

Tras la fase de consumo de sustrato, los valores de DQO se estabilizan y la curva adopta una pendiente prácticamente nula y el proceso de biodegradación se puede considerar finalizado. Estos datos finales, que además son constantes, coinciden con la concentración de material no biodegradable en el medio (en este caso responden a la concentración de LAS residual en el medio, LASnb).

La evolución del LAS residual analizado en cada experiencia (expresado en % de LAS no biodegradable) en función de la cantidad inicial de LAS en el ensayo problema se recoge en la Figura II. En esta gráfica se observa una evolución linealmente creciente de ambos parámetros hasta concentraciones aproximadas de 100 ppm de LAS inicial. Así, los valores de LAS residual comienzan a estabilizarse aproximadamente en torno a concentraciones de 25-30 ppm de LAS independientemente de la concentración inicial de LAS en el ensayo.

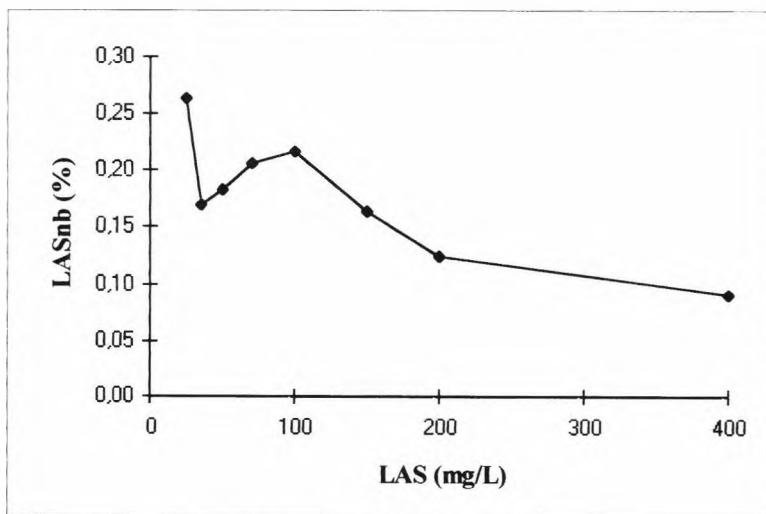


Figura II. Evolución del LAS no biodegradable en función de la concentración inicial alimentada en cada ensayo.



Como se comentó previamente, algunos autores (Abbot, 1986) sugieren que el LAS puede inhibir la flora bacteriana presente en los cauces receptores para concentraciones superiores a 15 ppm. De la Figura II se deduce que dichas concentraciones de LAS remanentes en el medio, tras el tratamiento depurativo de las aguas residuales urbanas, se alcanzarían sólo para concentraciones iniciales de este compuesto superiores a 100 ppm.

En cuanto a la evolución de los distintos homólogos (Figuras III a X) se observa que, para los experimentos con bajas concentraciones de LAS, las curvas descritas por los diferentes homólogos, C-10, C-11, C-12 y C-13, son similares a las encontradas para la evolución del LAS total, ajustándose todas ellas a exponenciales decrecientes. Cuando la concentración inicial de LAS aumenta, las curvas que reflejan la biodegradación de éstos se asemejan a las descritas por Sales y Quiroga (1991).

Para cada homólogo en particular se observa una evolución distinta dependiendo de la concentración inicial de LAS. Aunque el homólogo C-10 se encuentra en un pequeño porcentaje con respecto al LAS inicial total alimentado a cada experiencia (3,9%), la curva que define su evolución mantiene una constancia en el valor inicial alimentado, indicando una pequeña o nula degradación de este homólogo en cualquier caso.

Por tanto, los resultados obtenidos muestran que las aguas residuales urbanas tratadas en EDAR's presentan concentraciones de LAS total pequeñas y que no han sido descritas como inhibidoras de la flora natural del cauce receptor. No obstante, los homólogos de cadena más corta (C-10 fundamentalmente) se muestran muy resistentes al proceso de biodegradación y pueden ser los causantes descritos para el LAS global.

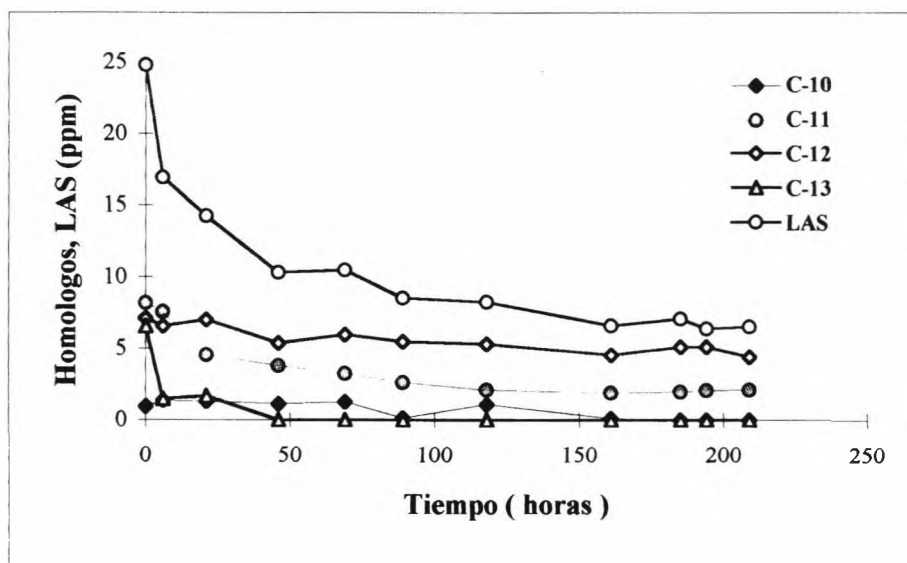


Figura III. Evolución del LAS y homólogos en el ensayo con 25 ppm de LAS.

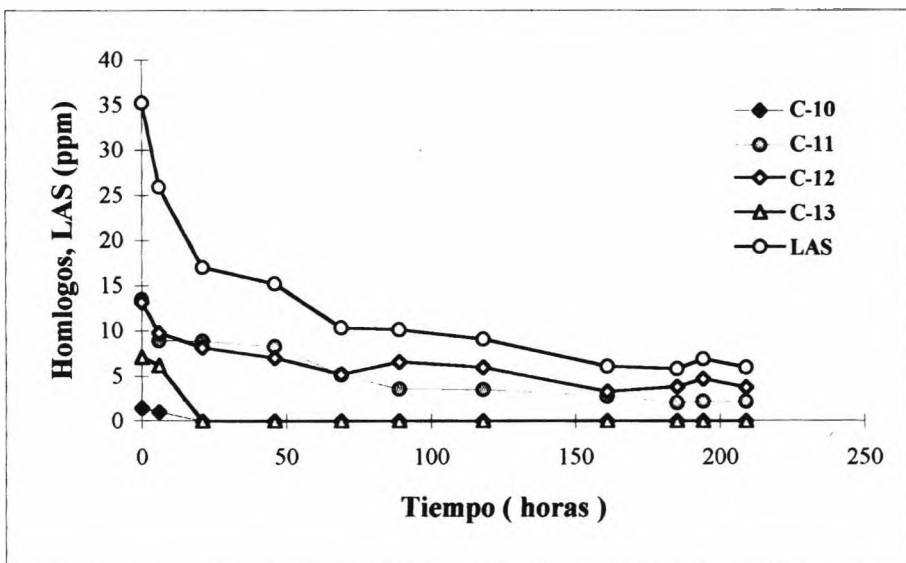


Figura IV. Evolución del LAS y homólogos en el ensayo con 35 ppm de LAS.

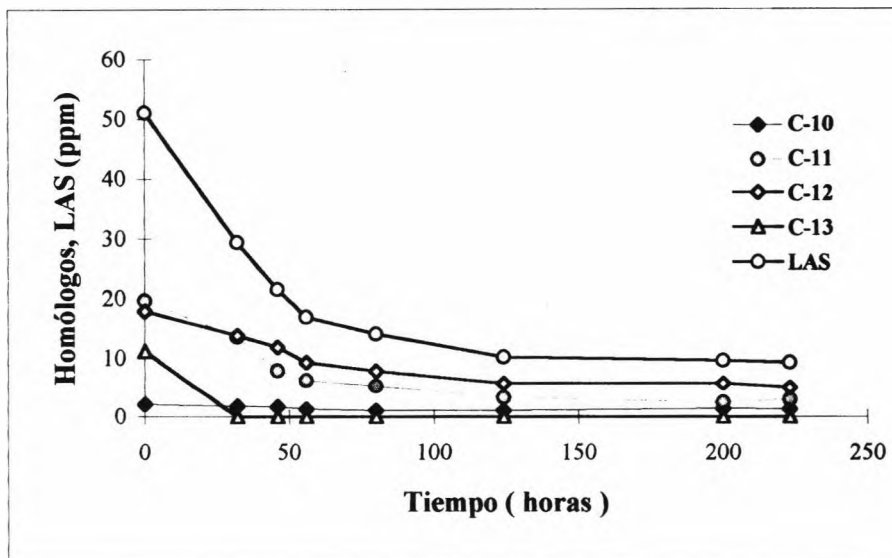


Figura V. Evolución del LAS y homólogos en el ensayo con 50 ppm de LAS.

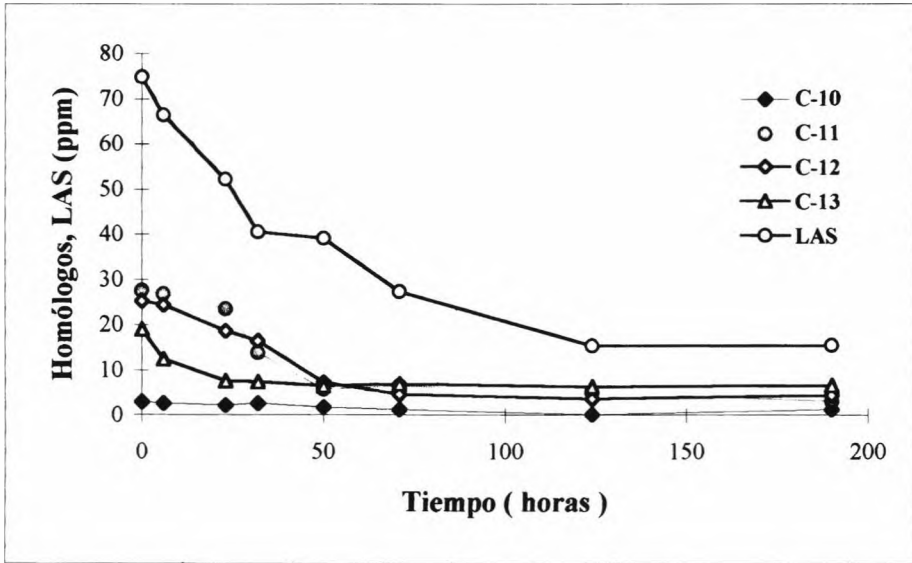


Figura VI. Evolución del LAS y homólogos en el ensayo con 70 ppm de LAS.

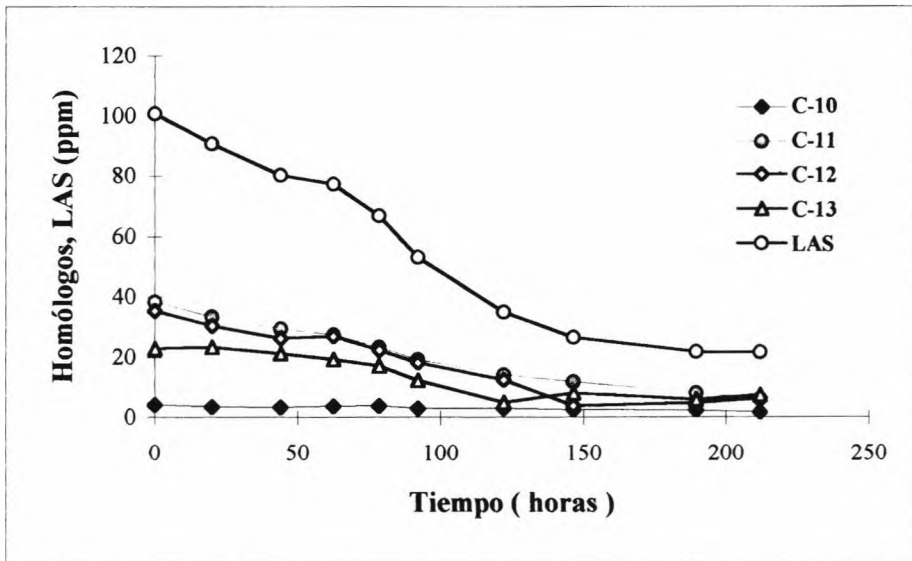


Figura VII. Evolución del LAS y homólogos en el ensayo con 100 ppm de LAS.

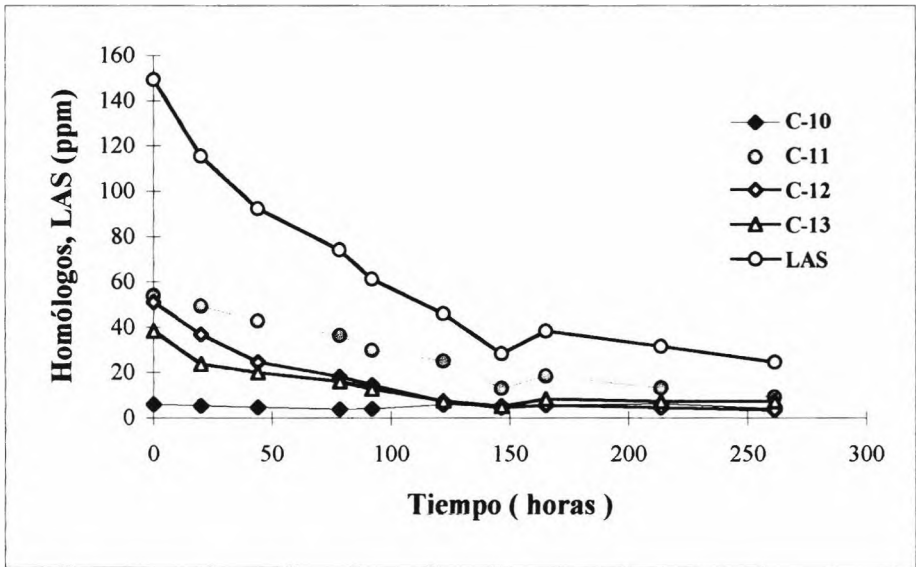


Figura VIII. Evolución del LAS y homólogos en el ensayo con 150 ppm de LAS.

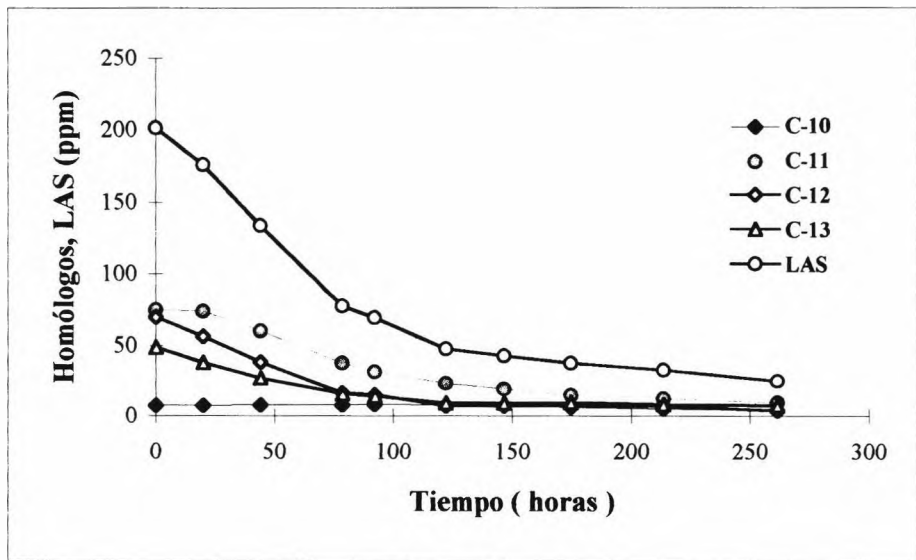


Figura IX. Evolución del LAS y homólogos en el ensayo con 200 ppm de LAS.

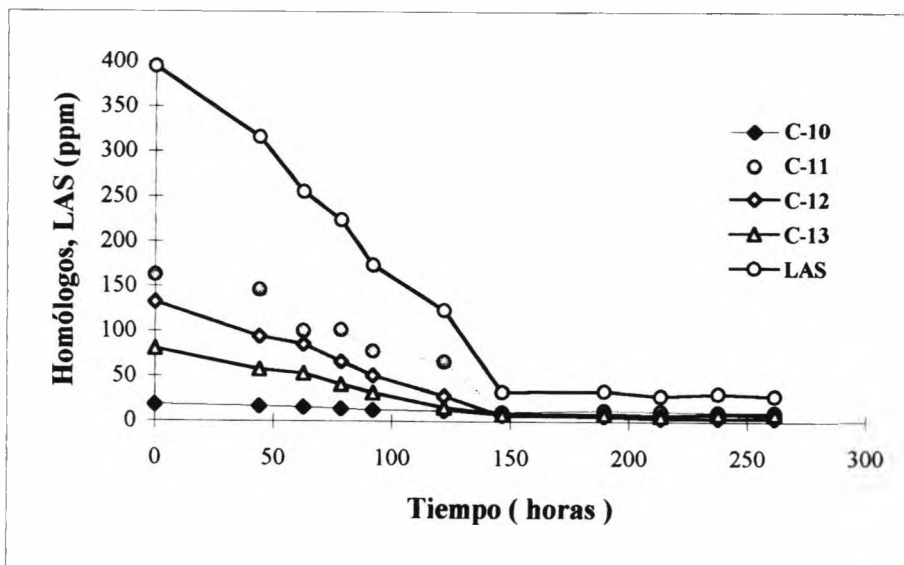


Figura X. Evolución del LAS y homólogos en el ensayo con 400 ppm de LAS.

#### 4. CONCLUSIONES

El LAS (Alquil benceno Sulfonato Lineal) es biodegradable, y su evolución se ajusta bien a exponenciales decrecientes cuando la concentración en el medio es baja, o bien, a cinéticas de degradación polinómica que implican períodos de aclimatación flora-sustrato. La biodegradación se ralentiza paulatinamente al aumentar la concentración inicial de LAS en el medio.

La concentración inicial de LAS añadida al medio determina, por tanto, la capacidad de asimilación del mismo.

El LAS inicial en el medio determina la cantidad de LAS remanente, considerado como no biodegradable. Al aumentar la concentración inicial se observa un aumento de la cantidad de LAS no biodegradable final en el ensayo, bien por inhibición de la flora o bien por efectos de disminución de la tasa de oxigenación del medio.

Los homólogos del LAS presentan una evolución similar a éste, siendo el C-12 el que aporta más cantidad al LAS remanente cuando trabajamos a bajas concentraciones y el C-11 cuando partimos de altas.

De los cuatro homólogos presentes en el LAS (C-10, C-11, C-12 y C-13), se comprueba que los de menor longitud de cadena alquílica (C-10 y C-11) son los que presentan un efecto tóxico más acusado y su concentración inicial es la que determina la concentración de LAS no biodegradable en el medio.

## 5. BIBLIOGRAFIA

1. Abbot, B.J.; Casida, L.E. (1968), *Journ. Bacteriol*, **96**, 925-30.
2. Bayley, J.M., Ollis, D.F. (1977), "Biochemical Engineering Fundamentals". Ed. McGraw-Hill, Inc. New York.
3. Clesceri, L.S.; Greenberg, A.E., Rodhes Trussell, Eds., (A.P.H.A.; A.W.W.W.A.; W.P.C.F.). "Standard Methods for the Examination Of Water and Wastewater". 17<sup>th</sup> Edition, Washington, (1989).
4. Hrsak, D.; Bosnjak, M. ; Johanides, V. (1981), "Kinetics of linear alkylbenzene sulphonate and secondary alkane sulphonate biodegradation". *Tenside Detergents*, **18**.
5. Marchetti, R. (1964), "Indagini sulla tossicità di alcuno tensioattivi nei riguardi dei pesci". *La rivista italiana delle sostanze grasse*. Vol. XLI Ottobre, 533-542.
6. Marchetti, R. (1965), "Critical Review of the effects of synthetic detergents on aquatic life". General Fisheries Council of the Mediterranean, Studies and review N° 26, F.A.O., Rome.
7. Marchetti, R. (1968), "Effetti sub-letali dei tensioattivi nei riguardi dei pesci". Relaz. Giorn. Studio Acque Superficiali e Detergenti, Riv. Ital. *Sostanze grasse*. **45**, 27-34 .
8. Muller, R. (1980), "Fish toxicity and surface tension of nonionic surfactants: investigations of antifoam agents". *J. Fish Biol.* **16**, 585-589.
9. Quiroga, J.M. (1985), "Cinética de Biodegradación de Tensioactivos Aniónicos en el Medio Marino". Tesis Doctoral, Universidad de Cádiz.
10. Sales, D; Quiroga, J.M.; Gómez-Parra, A. (1987), "Primary Biodegradation Of Anionic Surfactant in Marine Environment". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **39**, 385-392.
11. Sales, D.; Quiroga, J.M. (1991), "Degradation Kinetics of Surfactants". *Tenside Surf. Det.* **28**,(1), 27-30.
12. Terzić, S.; Hrsak, D.; Ahel, M. (1992), "Primary biodegradation kinetics of linear alkylbenzene sulphonates in estuarine waters". *Wat. Res.*, **26**, 585-91.



## ACUMULACIÓN DE PIGMENTOS POR BACTERIAS MARINAS ASOCIADAS A CULTIVOS DE MICROALGAS

*Manuel A. González-del Valle, Olimpio Montero, Ignacio Moreno-Garrido y Luis M<sup>a</sup> Lubian*  
Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (CSIC), Pol. Río San Pedro S/N Apto. Oficial  
11510 Puerto Real, Cádiz

### RESUMEN

A partir de cultivos de las microalgas marinas *Tetraselmis suecica* y *Nannochloris maculata*, se han aislado colonias bacterianas de color rojo intenso. Dado el interés existente en la actualidad por los colorantes de origen biológico ( $\beta$ -caroteno, Cantaxantina, Astaxantina y otros) con aplicación en la industria alimentaria, farmacológica y cosmética, iniciamos el estudio de esta pigmentación con objeto de determinar la naturaleza de los pigmentos responsables del color de estas cepas bacterianas. Una vez aisladas las colonias se han realizado una serie de ensayos para la elaboración de un protocolo de extracción y separación, para proceder de este modo a la purificación del pigmento responsable del color. Se han medido los máximos de absorción de los extractos totales y de fracciones purificadas, en distintos disolventes y se ha realizado un análisis cromatográfico mediante HPLC. Los cromatogramas obtenidos han mostrado distintas fracciones de pigmentos.

### ABSTRACT

Bacterial colonies with an intense red colour were isolated from cultures of the marine microalgae *Tetraselmis suecica* and *Nannochloris maculata*. Owing to the interest of biological compounds ( $\beta$ -carotene, cantaxanthine, astaxanthine, and others) in the industry of food, pharmacy and cosmetic, a series of experiments was performed in order to determine the characteristics of the pigments, which were responsible for the reddish colour of



those bacterial strains. Following the different bacterial groups were isolated, and assays were performed to develop a convenient procedure for extraction and purification of the red pigment. Absorption maxima were measured spectrophotometrically in different solvents of the total extract as well as of all the fractions obtained by means of High Performance Liquid Chromatography.

**Palabras clave:** Carotenoides, Bacterias marinas, HPLC.

## INTRODUCCIÓN

En el curso de una serie de estudios sobre las interacciones entre la población de bacterias asociada a un cultivo mono-específico de microalgas y estas, se aislaron distintas series de cepas bacterianas. Entre los distintos aislados destacó un grupo que presentaban unas colonias de color rojo intenso. A su vez observamos que en medio líquido también producían una fuerte pigmentación roja. De entre los distintos aislados bacterianos de color rojo escogimos las cepas TSHR3, procedente del cultivo del microalga *T. suecica*, y Macu AR1, asociada a *N. maculata*. Ambas cepas bacterianas han sido identificadas como presuntas *Alteromonas sp.*

Para proceder al estudio de esta pigmentación característica, en primer lugar, tuvimos que desarrollar un sistema de extractantes adecuado para nuestro pigmento rojo. Posteriormente aplicamos sobre el extracto total las técnicas habituales en la identificación de pigmentos, como son máximos de absorción, coeficientes de partición, etc (Goodwin, 1980).

Por último realizamos un análisis cromatográfico, mediante HPLC y de este modo obtuvimos, una serie de cromatogramas en los que se podían distinguir varios grupos de pigmentos. Lo cual nos permitió un estudio más pormenorizado de cada uno.

Este trabajo es una primera aproximación a la composición de pigmentos de estas bacterias moderadamente halófilas, que esperamos ampliar posteriormente con otras técnicas, que nos permitan un estudio más profundo de estos pigmentos y de su producción.

## Material y Métodos

**Procedencia de las microalgas:** Los cultivos de microalgas empleados en este trabajo procedían de la Colección de Microalgas del Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (CSIC).

**Medios de cultivo bacterianos:** Para el aislamiento de las cepas bacterianas se utilizó el medio comercial Marine Agar 2216 de Difco. A su vez se utilizaron medios de cultivo líquido y sólido cuya composición se muestra en la Tabla 1. Este medio, es una modificación del medio de cultivo 2216E descrito por Zöbell (Austin, 1988) y el medio descrito por Márquez, Ventosa y Ruiz-Berraquero (1987).

**Condiciones de cultivo:** Todos los cultivos bacterianos se realizaron a 35°C y en condiciones de luz y oscuridad. Los cultivos en medio líquido se llevaron a cabo en matraces

Enlermeyer y en matraces esféricos de fondo plano indistintamente. La agitación se consiguió mediante un agitador orbital o inyectando aire en el cultivo.

**Caracterización de las cepas bacterianas:** Para la posible identificación de las cepas bacterianas del estudio se realizaron las siguientes pruebas: tinción Gram, catalasa,  $\text{SH}_2$ , nitrito y nitrato reducción, crecimiento en anisomicina, crecimiento a las salinidades 0%, 1%, 3.5%, 8%, 16%, 20%, (las salinidades se midieron con un refractómetro), actividad  $\text{DNA}_{335}$ , degradación del almidón y crecimiento en medio McConkey. A su vez inoculamos con nuestras cepas galerías API20 NE de Biomerieux.

**Densidad celular:** El número de células se determinó mediante el recuento de colonias viables, que aparecían en las placas de Petri, con medio de cultivo, después de extender sobre estas una alícuota de volumen conocido.

**Extracción de los pigmentos:** Los extractantes ensayados fueron, agua, metanol, n-hexano, éter de petróleo, éter dietílico, acetona, etanol, benceno, NN-DMF, diclorometano y triclorometano. También se ensayó un proceso de saponificación (Goodwin, 1976).

Ensayados los distintos extractantes finalmente se desarrolló el siguiente protocolo de extracción:

- 1.- Se cultivan las bacterias en medio líquido, durante 48 horas.
- 2.- Se centrifuga el cultivo 30 minutos a 3500 rpm.
- 3.- Se desecha el sobrenadante y se lavan las células con una solución isotónica de formiato amónico al 0.9% (P/V). En cada uno de los pasos de lavado se centrifuga durante 15 minutos a 4100 rpm. En el último centrifugado, se desecha el sobrenadante y el pellet se resuspende en triclorometano.
- 4.- Se sonica la mezcla hasta que toma un color homogéneo (rosa suave), teniendo la precaución de mantener la temperatura por debajo del punto de ebullición del disolvente.
- 5.- Se centrifuga el homogeneizado a 4100 rpm durante 3 minutos.
- 6.- Se recoge la fase orgánica (primer extracto) y se reserva el pellet se vuelve a tratar con acetona en frío y se deja durante una noche a  $-201^\circ\text{C}$ .
- 7.- Al día siguiente se decanta la mezcla y se extrae la fase orgánica con éter dietílico (segundo extracto), lavando varias veces con una solución salina saturada y secando con  $\text{SO}_2\text{Na}$ .
- 8.- Finalmente se mezclan los extractos y se evaporan obteniéndose de este modo el extracto total.

**Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC):** El análisis cromatográfico, mediante HPLC, fue llevado a cabo en un equipo Waters 600E, con detector de diodos en serie y columna de 15 cm Novapack C-18 (de fase inversa). El cromatograma se desarrollaba durante 30 minutos, utilizando el sistema de solventes en gradiente descrito por Mínguez-Mosquera *et al* (1990), tabla 2, a un flujo de 1 mL/min. La detección se realizó a 475 nm.

**Medida de máximos de absorción:** Los máximos de absorción del extracto total, así como de las fracciones purificadas mediante HPLC, se midieron en distintos disolventes,

en un Espectrofotometro Lambda 5 Perkin Elmer. Los máximos de absorción de fracciones no purificadas se obtuvieron a partir del procesado de datos del equipo de HPLC. Las medidas se realizaron en los siguientes disolventes: triclorometano, metanol, éter de petróleo, éter dietílico, n-hexano, benceno, sulfuro de carbono, piridina y acetona.

## Resultados y discusión

### Aislamiento y caracterización de las cepas bacterianas

Las cepas bacterianas TSHR3 y MacuAR1, se aislaron de colonias a partir de cultivos de *T. suecica* y *N. maculata*. Estas colonias de color rojo aparecían en otros cultivos de microalgas, pero se comprobó mediante cromatografía que en todos los casos la fracción de color rojo era la misma, por ello centramos nuestro estudio principalmente en la cepa TSHR3 y MacuAR1, cuyos cromatogramas se pueden ver en la figura 1. Como se puede apreciar ambos son muy similares, variando únicamente las proporciones relativas de pigmentos. A su vez los espectros de los picos son idénticos, por ello utilizamos una u otra cepa independientemente, aunque utilizamos con mucha más frecuencia la cepa TSHR3.

En la tabla 3 se muestran algunas características bioquímicas y de crecimiento de ambas cepas, apreciándose una gran similitud en ambas, en sus características. A su vez intentamos identificar las cepas con las galerías API20 NE de biomérieux, obteniéndose un resultado negativo y no pudiéndose por tanto identificar ninguna de ellas. Sin embargo aprovechando las características obtenidas a partir de las galerías y con las obtenidas por nosotros, las comparamos con las descritas en el manual Bergey para el género *Alteromonas* y las identificamos a nivel presuntivo como *Alteromonas sp.*

### Extracción y análisis espectrofotométrico y cromatográfico de los pigmentos bacterianos

Después de extraer los pigmentos de nuestras cepas bacterianas a través del procedimiento antes descrito, en un primer paso, medimos los máximos de absorción del extracto total, en los disolventes más frecuentes en la bibliografía y que se muestran en la tabla 4. Los máximos de absorción oscilan entre 470 y 500 nm.

El análisis cromatográfico reveló tres grupos de pigmentos (figura 2). Un primer grupo compuesto por los picos 1, 2a, 2b y 3, con tiempos de retención entre los minutos 12 a 16, que es de color rojo intenso. Otro alrededor del minuto 18 (pico 4), de color amarillo. Y finalmente el último grupo entre los minutos 20 a 25 (picos 5, 6 y 7), que son pigmentos minoritarios de color rojizo.

El grupo de pigmentos entre los minutos 12 a 16 presenta cuatro picos, cuyos espectros se muestran en la figura 2, el pico 1 del cromatograma es el mayoritario y el principal responsable del color rojo. Su espectro y máximo de absorción, obtenido mediante el HPLC, pueden verse en la figura 3a. En las figuras 3b y c se muestran los espectros de los picos 2a y 2b, con máximos de absorción idénticos, lo que les diferencia es un segundo máximo del pico 2b, que no se encuentra en el pico 2a. El pico 3, como se ve, posee un espectro y un máximo de absorción, figura 3d, muy similar al del pico 1.

En la figura 4a, se muestran el espectro y el máximo de absorción del pico 4 (fig.2), que corresponde a un pigmento de color amarillo. En las figuras 4 b, c y d se muestran los espectros y los máximos de absorción de los picos 5, 6 y 7, que son pigmentos minoritarios.

Posteriormente, purificamos mediante HPLC, los picos 1 y 4, de este modo pudimos medir sus máximos de absorción en una serie de disolventes, como se muestra en la tabla 4.

Dado el color de las colonias bacterianas y su procedencia nos planteamos inicialmente la posibilidad de que nuestro pigmento rojo fuese el Retinal, que es el pigmento constituyente de la Bacteriorodopsina, una molécula con capacidad fotosintética (Stockenius, 1976, Singh, y Caplan, 1980). Sin embargo mediante el análisis cromatográfico y espectrofotométrico comprobamos que no había coincidencia ni en los tiempos de retención ni en los máximos de absorbancia, por lo que esta posibilidad fue finalmente descartada. Igualmente comprobamos, comparando los máximos de nuestro pigmento rojo con los de la bibliografía, que no podía tratarse ni de la Prodigiosina ni de la Bacterioruberina, de hecho no hemos encontrado coincidencia con ninguno de los carotenoides descritos en la bibliografía.

En el caso del pico 4 si encontramos similitud con la 3,4,-3',4'-Tetrahidrobisanzhidrobacterioruberina, que según Norgard *et al* (1970), es igual o muy similar a la Lycoxantina, pero al no disponer de un patrón de estos pigmentos no hemos podido confirmar este punto.

Está previsto como el siguiente paso en la elucidación de la estructura de estos pigmentos realizar estudios de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de protón y carbono 13, espectrofotometría de infrarrojo y espectrometría de masas.

## Bibliografía

- Austin, B., 1988. *Marine Microbiology* Cambridge, University Press 222pp
- Bauman, P., Gauthier, M.J. and Bauman, L. 1972. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 8th edition, Williams and Wilkins, Baltimore, Maryland, 1:343-352
- Bramley, P.M., 1992. Analysis of carotenoids by High Performance Liquid Chromatography and diode-array detection. *Phytochemical Analysis* 3:97-104
- Darveau, R.P. and Lynch, D.L., 1977. The antibiotic activity of prodigiosin against certain blue-green and green algae. *Phycologia* 16(3): 349-351
- Goodwin, T.W., 1980 *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*. 2nd.Edition, Academic Press, London.
- Kelly, M., Norgard, S., Liaanen-Jensen, S., 1970. Bacterial carotenoids: XXXI, \*C50-carotenoids of *Halobacterium salinarum*, especially Bacterioruberin. *Acta Chem. Scand.* 24:2169-2182
- Márquez, M.C., Ventosa, A., Ruiz-Berraquero, F., 1987. A taxonomic study of the heterotrophic halophilic and non halophilic bacteria from a solar saltern. *Journal of general microbiology* 133: 45-46

- Mínguez -Mosquera, M.I., JarJn-Galán, M., Gandul-Rojas, B., and Fiestas-Ros de Ursinos, J., 1990. Chlorophyll and carotenoid composition of the algal flora developed under immobilized conditions-Influence of the support. *Biom and Bioen.* 6:347-353
- Norgard, S., Aesen, J.A., Liaanen-Jensen, S., 1970. Bacterial carotenoids: XXXII, \*C50-carotenoids. Carotenoids from *Corynebacterium poinsentiae*. Including four new C-50 diols. *Acta Chem. Scand.* 24:2183-2197
- Singh, K. And Caplan, S.R., 1980 The purple membrane and solar energy conversion. *TIBS* 62-64
- Stockenius, W., 1976 The purple membrane of salt loving bacteria. *Science* 38-46

**Tabla 1:** Formulación del medio empleado, para el cultivo de las bacterianas heterótrofas.

Componente	Proporción (%P/V)
Proteasa-peptona	0.5
Extracto de levadura	0.1
NaCl	2.34
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.61
MgCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	0.39
Kcl	0.06
CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	0.01
NaBr	0.007
NaHCO <sub>3</sub>	0.0002
Agar*	1.7
El pH se ajusta a 7.2 con una solución 1M de KOH	
*El agar se añade en el caso de que el medio deseado sea sólido.	

Tabla 2. Esquema del gradiente usado para la separación de pigmentos, descrito por Mínguez-Mosquera et al. 1990.

Tiempo (min)	Fase móvil		Curva
	A%	B%	
Inicial	75	25	
8	25	75	
10	25	75	Lineal (6)
18	10	90	Convexa (4)
23	0	100	Cóncava (10)
30	75	25	Cóncava (10)

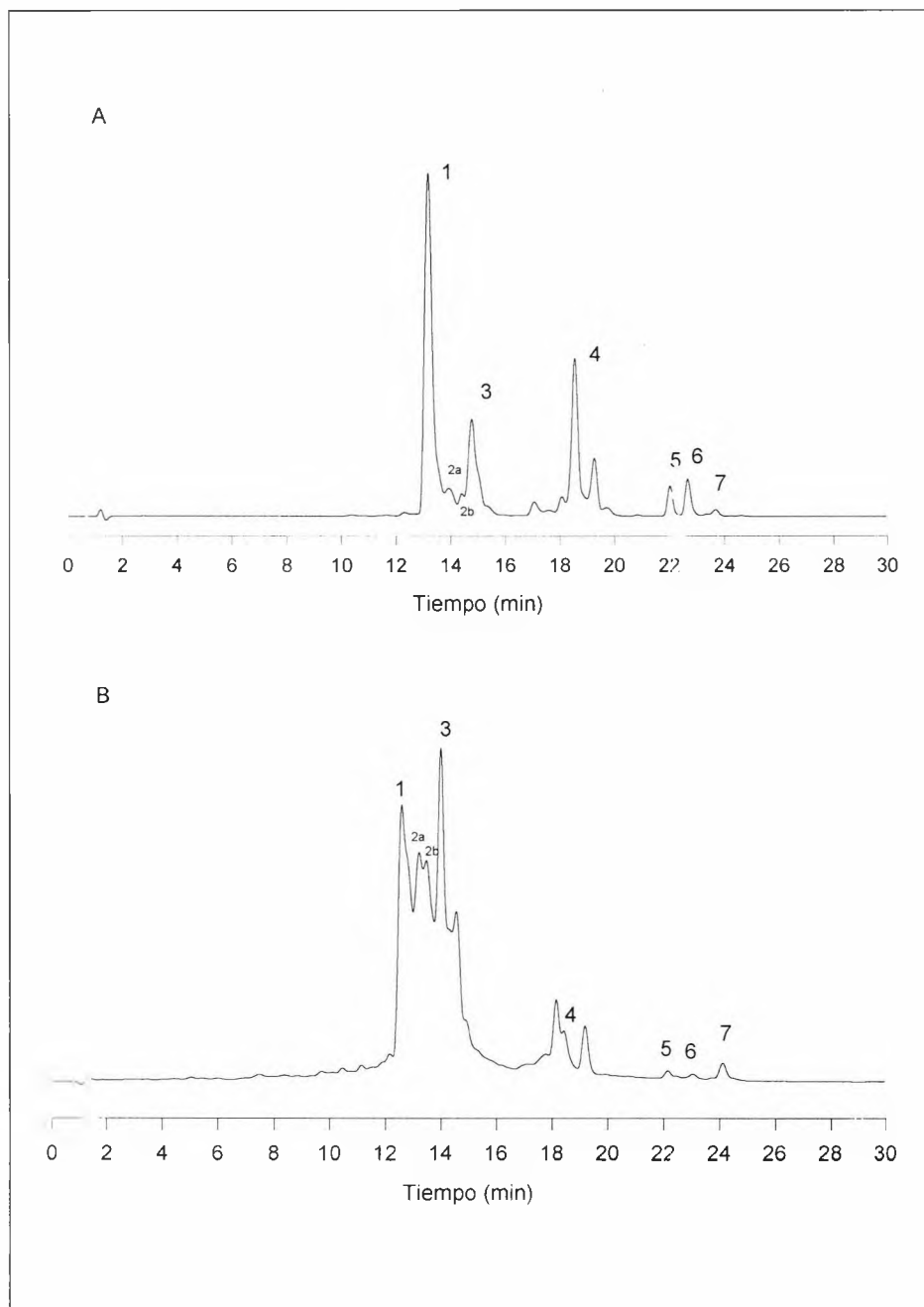
Tabla 3: Características bioquímicas y de crecimiento de las cepas bacterianas TSHR3 y MacuAR1.

	Gram	Oxidasa	Catalasa	SH:	Nitrato	Nitrito	Anisomicina	0%	0.5%	1%	3.5%	8%	16%	20%	DNAasa	Almidon	MacConkey
				red.	red.												
TSHR3	-	-	+	-	-	-	+	-	+/-	+	+	+	-/+	-	-	-	-
MacuAR1	-	-	+	nd	+	-	+	-	+/-	+	+	+	-/+	-	-	-	-

Notación: +:Positivo, -: Negativo, +/-: Reacción debil, -/+: Reacción muy dJbil, nd: no determinado

**Tabla 4:** En esta tabla se muestran los máximos de absorción, en distintos solventes, del extracto total y de las fracciones purificadas correspondientes al pico 1 y pico 4, de los pigmentos correspondientes a la cepa bacteriana TSHR3.

Solvente	$\lambda^{nm}$ máxima de extracto total purificado en HPLC	$\lambda^{nm}$ máxima de pico 1 purificado en HPLC	$\lambda^{nm}$ máxima de pico 4
Metanol	475	475	446/ 469/ 500
Triclorometano	484	488	
Eter de petróleo	474		
Eter dietílico	472	476	444/ 470/ 502
n-Hexano	474	476	
Benceno	488	491	
Sulfuro de carbono	368/ 510		
Piridina	493		
Acetona		477	448/ 473/ 505



**Figura I.** Cromatogramas de los extractos pigmentarios de las cepas A:TSHR3 y B:MacuAR1.



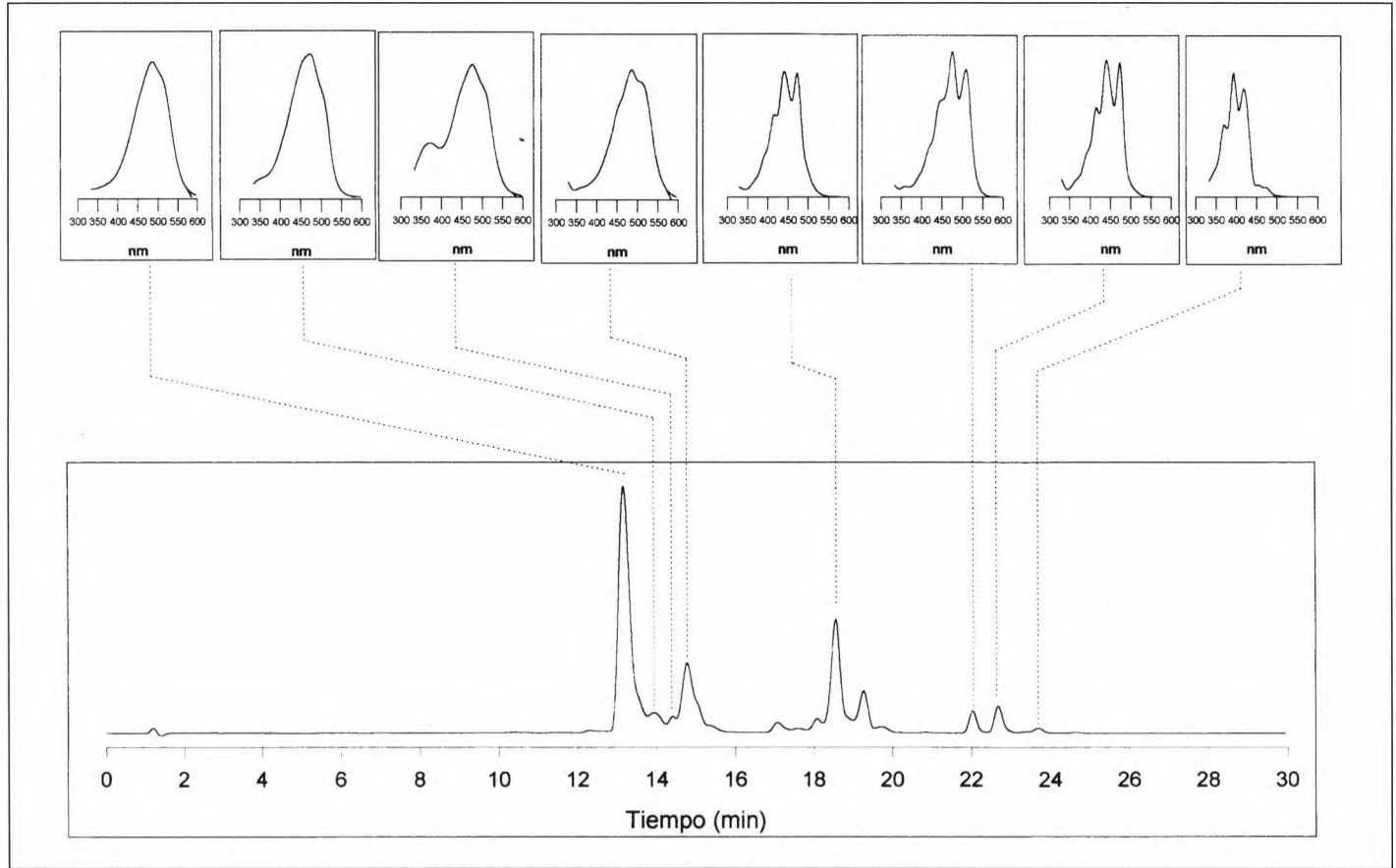


Figura II. Cromatogramas del extracto pigmentario de la cepa TSHR3 y los espectros de absorción correspondientes a cada pico.

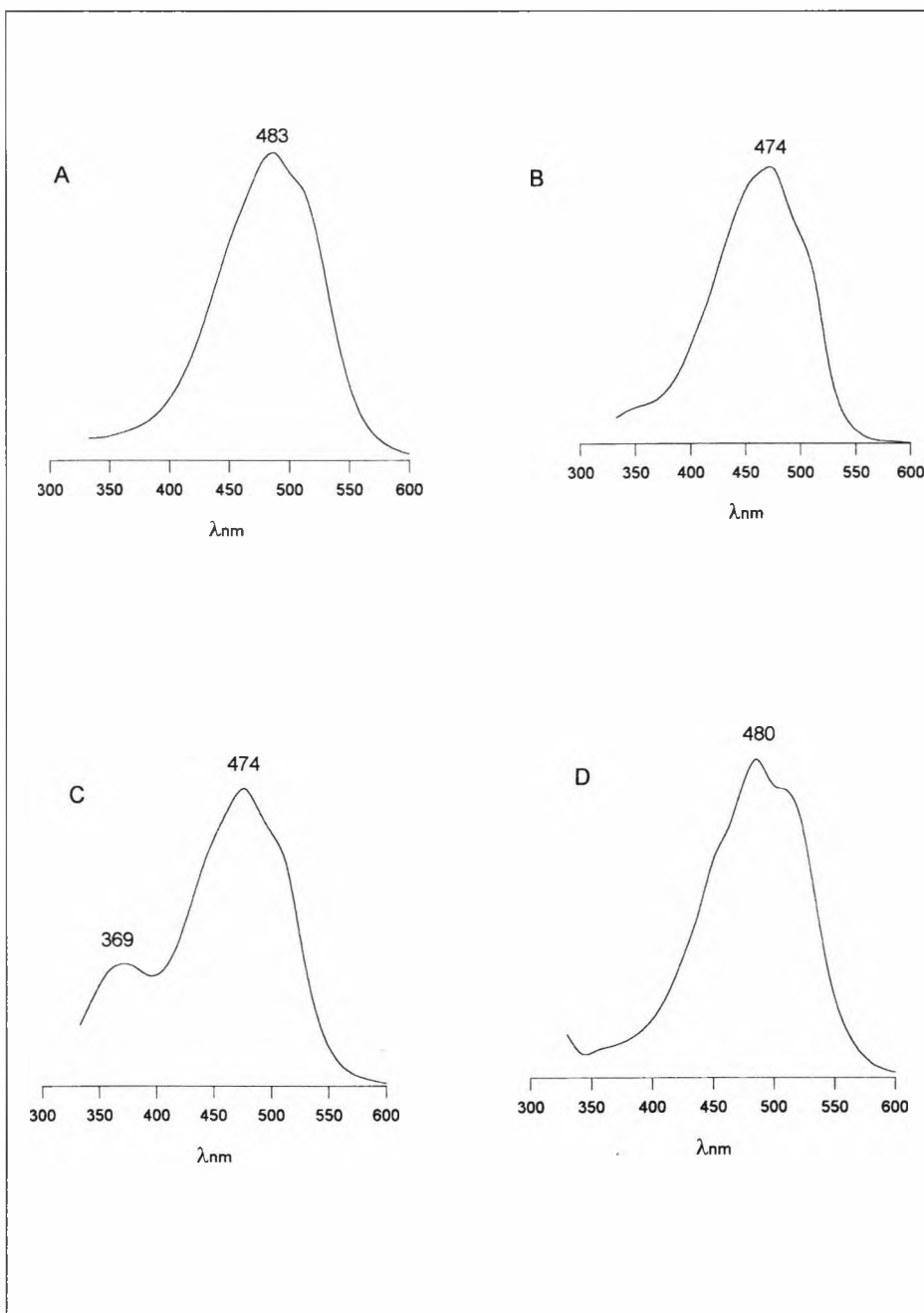


Figura III. Espectros y máximos de absorción del grupo de picos que se eluyen entre los minutos 12-16. A:pico 1, B:pico 2a, C:pico 2b, D:pico 3.

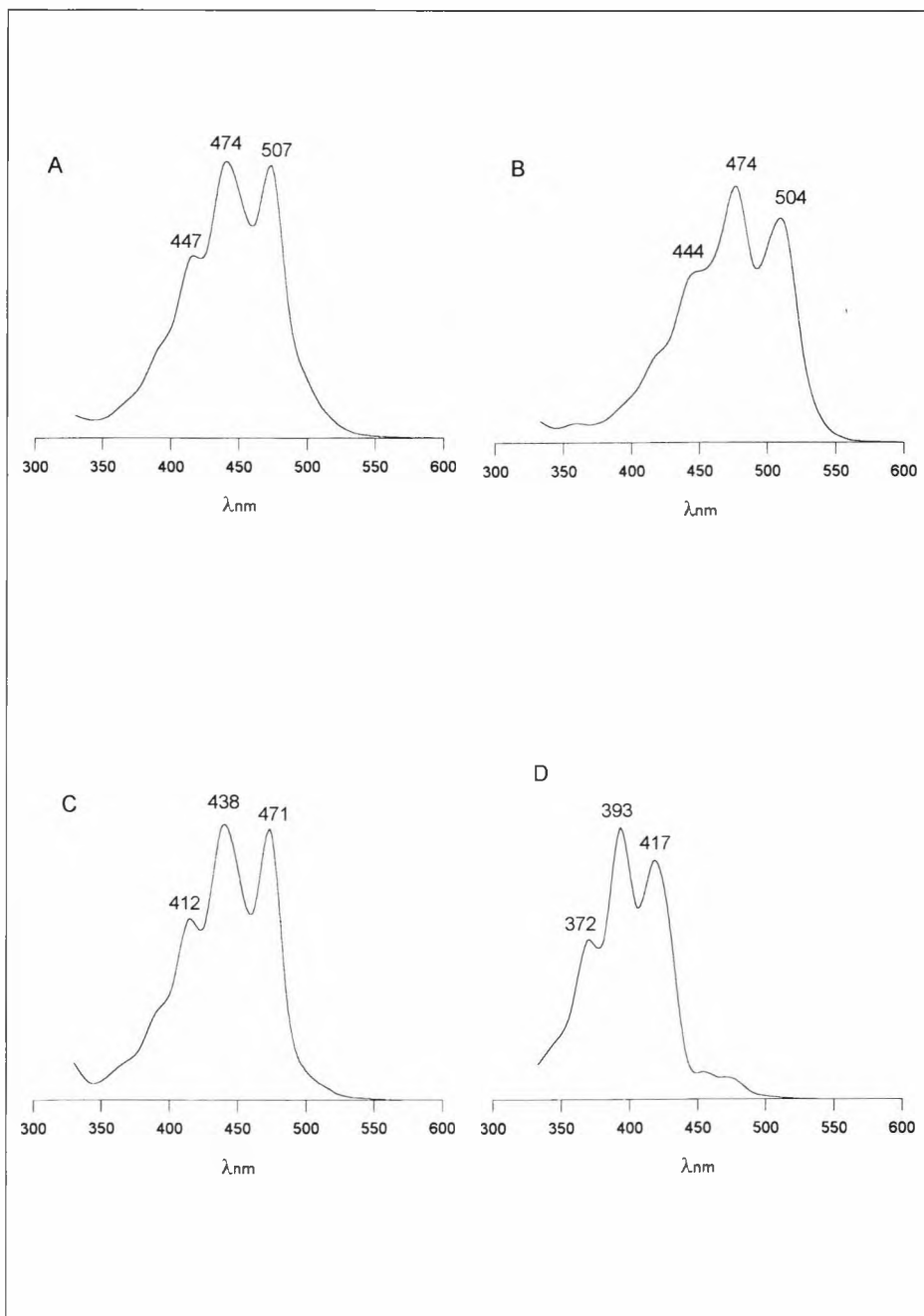


Figura IV. Espectro y máximos de absorción de A:pico 4, B:pico 5, C:pico 6, D:pico 7.

## EUTROFIZACIÓN DEL SEDIMENTO DEL ESTUARIO DEL RÍO PALMONES DEBIDO A INUNDACIONES

*Vicente CLAVERO; Pablo GARCIA-VALLEJO; Carlos JIMÉNEZ; José A. FERNÁNDEZ \* y F. Xavier NIELL*

Departamento de Ecología y \*Departamento de Biología Vegetal, Universidad de Málaga, Facultad de Ciencias, Campus de Teatinos, 29071 Málaga.

### RESUMEN

Se ha seguido la evolución de las distintas formas de fósforo (orgánico e inorgánico) en el sedimento del estuario del Río Palmones a fin de contrastar la tendencia de eutrofización del mismo, apreciada antes de las inundaciones de año 1989. Tomando como referencia los trabajos previos realizados (Clavero et al., 1991, 1992; Clavero 1992) los resultados obtenidos a lo largo del año 1993 muestran como las concentraciones de fósforo en el sedimento se han incrementado hasta 10 veces. Así, de una concentración de P-inorgánico media de  $24 \mu\text{g g}^{-1}$  en el periodo de referencia se ha pasado a  $356 \mu\text{g g}^{-1}$ , destacando de forma especial el incremento de la forma apatítica. Las concentraciones de P-orgánico también se han visto multiplicadas por 4, de  $60 \mu\text{g g}^{-1}$  a  $230 \mu\text{g g}^{-1}$ . Este hecho, junto a la ostensible acumulación de materia orgánica (del 3% al 11%) hace pensar en un importante proceso de eutrofización del estuario, reflejado en el cambio producido en el turnover de fósforo.

### ABSTRACT

The tendency to increasing eutrophication in the estuary of the river Palmones after the floods of 1989 has been followed by means of the study of the time course evolution of the different forms of phosphorus (organic and inorganic). Comparison with data prior to 1989 floods (Clavero et al., 1991, 1992; Clavero, 1992) shows that total phosphorus

concentration in the sediment has increased tenfold; thus, inorganic phosphorus increased from  $24 \mu\text{g g}^{-1}$  before 1989 to  $356 \mu\text{g g}^{-1}$  at the end of 1993, in which the apatitic form takes special relevance. Organic phosphorus also increased fourfold, from 60 to  $230 \mu\text{g g}^{-1}$ . This behaviour, together with the significant accumulation of organic matter in the sediment (from 3 to 11% of the total dry weight) allows us to think in an important increasing eutrophication in the estuary, as shown in the changes in the turnover of phosphorus.

## MATERIAL Y METODOS

El estuario del río Palmones se encuentra localizado en la Bahía de Algeciras ( $36^{\circ}10'N$ ,  $5^{\circ}27'W$ ) en el término municipal de Los Barrios (Cádiz). Tiene una longitud aproximada de 2.5 km y una anchura máxima de 1.5 km, con una profundidad media en marea baja de 1 m, estando sometido a vaciado diario con régimen lento y casi total en mareas vivas. El agua es de tipo 9 según la clasificación de Jerlov, con salinidad que varía, salvo excepciones singulares, entre el 27 y el 35‰ (López-Figueroa, 1984). El sedimento está formado por materiales limosos pertenecientes a las formaciones post-orogénicas del cuaternario.

Los muestreos fueron realizados mensualmente desde 1987 a 1989, en marea baja, por medio de cores ( $n=3$ ) de PVC, opacos, de 15 cm de longitud y 10 cm de diámetro interno. Una vez extraídos eran cerrados con una cubierta de material plástico por ambos extremos, cubiertos con bolsas de plástico y transportados al laboratorio en una nevera portátil dispuestos en posición vertical. En el laboratorio, el sedimento era seccionado cada 2 cm, desde la superficie hasta los 10 cm. Se distinguieron dos tipos de fósforo, el orgánico y el inorgánico. Siguiendo la metodología de fraccionamiento de Williams et al. (1971) se obtienen tres formas de fósforo inorgánico: unido a metales, formando complejos estables, y apatítico. Por su parte, otras tres formas de fósforo orgánico fueron obtenidas siguiendo la metodología de Sommers et al. (1972): débilmente, medianamente y fuertemente unido a la materia orgánica. Tras los fraccionamientos realizados se determinó el contenido en fósforo siguiendo la metodología de Fernández et al. (1985) por medio de un Technicon AAI.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos desde 1987 hasta 1989 de las distintas formas de fósforo inorgánico se presentan en la Fig. 1. El fósforo inorgánico unido a metales (Fig. 1a) se encontró en concentraciones entre  $3.5$  y  $10 \mu\text{g g}^{-1}$ , con máximos entre 4 y 6 cm de profundidad. En la Fig. 1b se representa la variación del fósforo inorgánico formando complejos estables; al igual que el unido a metales, la máxima concentración se encuentra entre 4 y 6 cm de profundidad, y con concentraciones medias de  $3.7$  y  $9 \mu\text{g g}^{-1}$ . El fósforo inorgánico formando apatito es el menos abundante entre las formas inorgánicas, y varía entre  $4$  y  $6 \mu\text{g g}^{-1}$ , con máximos a 10 cm de profundidad.

La evolución espacio-temporal de las distintas formas de fósforo orgánico se presenta en la figura 2. El fósforo orgánico débilmente unido a materia orgánica (Fig. 2a) presenta máximos entre los 6 y los 8 cm de profundidad, con valores entre  $15$  y  $37 \mu\text{g g}^{-1}$ , sien-

TABLA I.- Porcentajes medios de las distintas formas de fósforo a distintas profundidades durante el periodo 1987-1989. (Pi.- Fósforo Inorgánico; Pi-Me.-unido a metales; Ce.- formando complejos estables; Ap.- apatitos. TPI.- Total Fósforo Inorgánico. Po.- Fósforo orgánico; De.- débilmente unido a la materia orgánica; Me.- medianamente unido a la materia orgánica; Fu.- fuertemente unido a la materia orgánica. TPO.- Total fósforo orgánico).

	Pi-Me	Pi-Ce	Pi-Ap	TPI	Po-De	Po-Me	Po-Fu	TPO
0 cm	9.8	8.7	10.3	28.8	35.7	24.8	10.7	71.2
2 cm	9.7	8.7	10.4	28.8	35.0	24.5	11.7	71.2
4 cm	9.7	8.	9.7	28.1	36.4	25.3	10.1	71.8
6 cm	9.9	8.8	9.9	28.6	35.5	25.0	10.9	71.4
8 cm	9.8	8.5	9.4	27.7	36.0	25.0	11.3	72.3
10 cm	9.6	8.3	9.7	27.6	36.6	24.2	11.6	72.4

do ésta la forma de fósforo más abundante de todas. El fósforo orgánico medianamente unido a la materia orgánica (Fig. 2b) también presenta máximos entre los 8 y los 10 cm de profundidad, con concentraciones que oscilan entre 11 y 30  $\mu\text{g g}^{-1}$ . Por el contrario, el fósforo fuertemente unido a la materia orgánica (Fig. 2c) presenta, en ocasiones, máximos superficiales (verano de 1988) y entre 6 y 8 cm de profundidad. El rango de concentración osciló entre 4 y 15  $\mu\text{g g}^{-1}$ .

En la tabla I se presentan los porcentajes medios de las distintas formas de fósforo consideradas a distintas profundidades durante el período 1987-1989. Como puede observarse, el total de fósforo inorgánico presentó máximos subsuperficiales, con una concentración media de 28.80  $\mu\text{g g}^{-1}$ , mientras que el fósforo orgánico, con concentraciones medias de 72  $\mu\text{g g}^{-1}$ , se acumula en profundidad.

En la tabla II se presentan los valores medios integrados de las distintas formas de fósforo desde 1987 a 1989, y las concentraciones medias obtenidas durante 1993 e inicios de 1994. De un total de P-inorgánico en el primer período de estudio de 24  $\mu\text{g g}^{-1}$  se pasa a 356  $\mu\text{g g}^{-1}$  en el año 1994, destacando especialmente el incremento en la fracción apatítica. En cuanto a las formas orgánicas, de una concentración media de 60  $\mu\text{g g}^{-1}$  en el período 1987-1989, se ha pasado a 424  $\mu\text{g g}^{-1}$  en la actualidad. Si se considera el fósforo total, se ha incrementado la concentración 10 veces, de 84.4  $\mu\text{g g}^{-1}$  a 793  $\mu\text{g g}^{-1}$ . Esta tendencia se ha visto acompañada de un incremento significativo del contenido en materia orgánica del sedimento, pasando de un 3 % a un 11%.

La discusión de estos resultados resulta compleja puesto que la mayor parte de los trabajos realizados en fraccionamiento de fósforo en sedimentos (Armengol et al., 1983) dividen la fracción inorgánica en compartimentos apatítico y no apatítico. Si se considera que una de las fuentes de fosfato soluble, de modo más rápida en la escala temporal, es la no apatítica, en el sedimento del estuario está disponible entre el 17 y el 20 % del fósforo

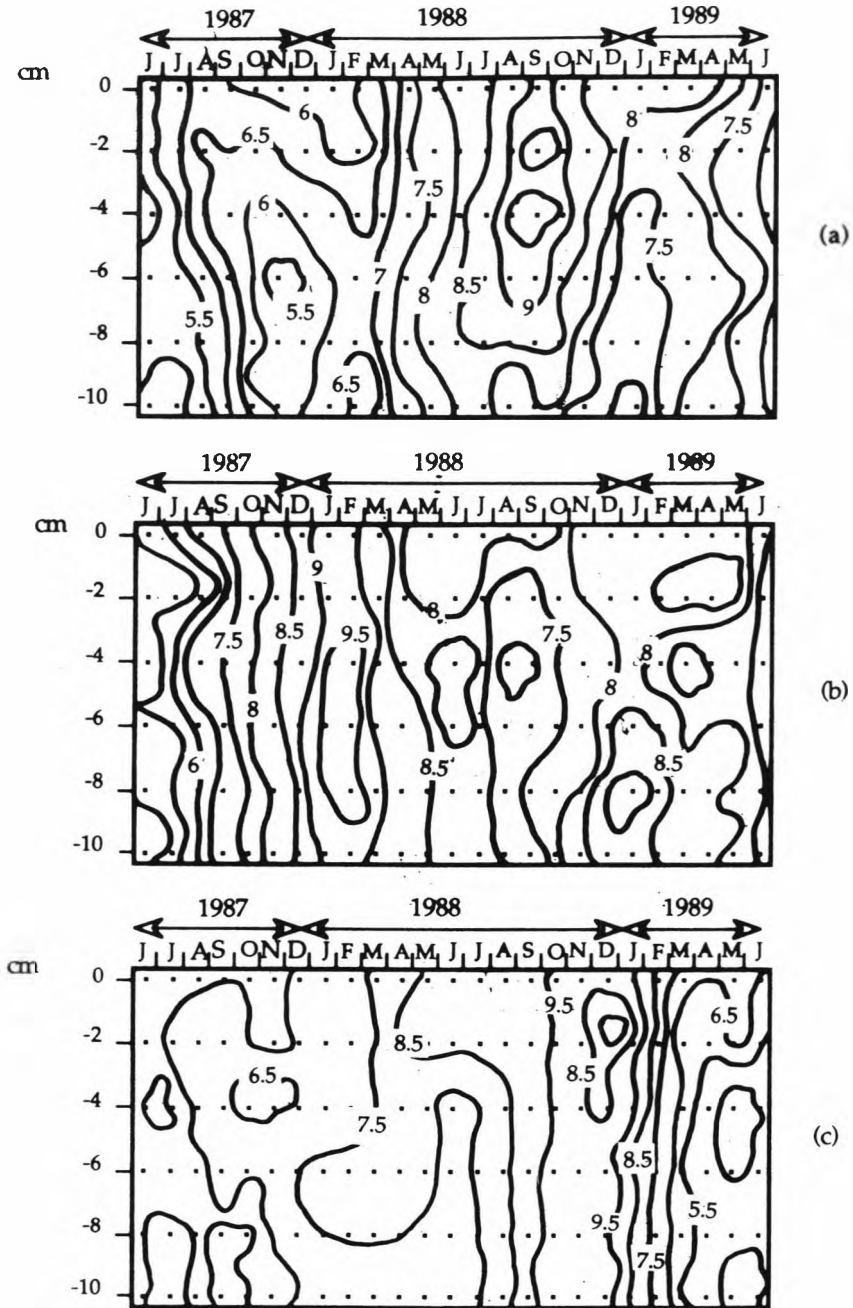


Figura 1.- Variación espacio-temporal de las concentraciones ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) de las distintas formas de fósforo inorgánico. a) unido a metales, b) formando complejos estables y c) apatitos.

total. Estudios efectuados por diversos autores (Koutsoukos et al., 1980; Nancollas, 1984) han puesto de manifiesto que el incremento de fósforo apatítico está controlado por las precipitaciones formadas en la superficie del sedimento. En sistemas como el estudiado, el factor limitante para la producción de apatito sería el exceso de fosfato disuelto relativo al equilibrio termodinámico respecto a las concentraciones de calcio o flúor (Van Cappellen & Berner, 1988); habida cuenta que la concentración de fosfato en el agua intersticial es superior a la de equilibrio (Clavero et al., 1992), podemos considerar una producción continuada de compuestos apatíticos reflejada en los cambios de esta forma de fósforo en el tiempo.

TABLA II.- Concentraciones medias ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) de las distintas formas de fósforo tomando como referencia las medias de los valores en el período 1987-1989, y los últimos datos obtenidos en Noviembre de 1993 y Enero de 1994.

P-inorgánico	1987-1989	1993-94
unido a metales	5.0	96.0
complejos estables	6.0	67.0
apatito 5.0		206.0
Total inorgánico	16.0	369.0
 P-orgánico		
débil	21.0	192.0
mediano	27.0	134.0
fuerte	8.0	98.0
Total orgánico	57.0	424.0
 P-TOTAL	73.0	793.0

El fósforo orgánico es la fuente más importante de fósforo disuelto en el agua intersticial vía regeneración bacteriana (Froelich et al., 1979; Berner, 1977, 1980). Es precisamente ésta la fracción de P más abundante en el estuario, hasta un 70 % del total, siendo este hecho bastante significativo, ya que si se compara con otros sedimentos (Boström et al., 1980) lo usual es que la fracción inorgánica sea la más abundante (Armengol, 1983; Fernández, 1986).

No obstante, llama la atención el importante incremento de fósforo total en el sedimento (hasta 10 veces), acompañado de importantes cambios en el estuario, como la desaparición del poliqueto *Nereis diversicolor*, con abundancias previas de 400-900 individuos  $\text{m}^{-2}$  (Clavero et al., 1991), la práctica desaparición de la angiosperma *Zostera noltii* (Pérez-



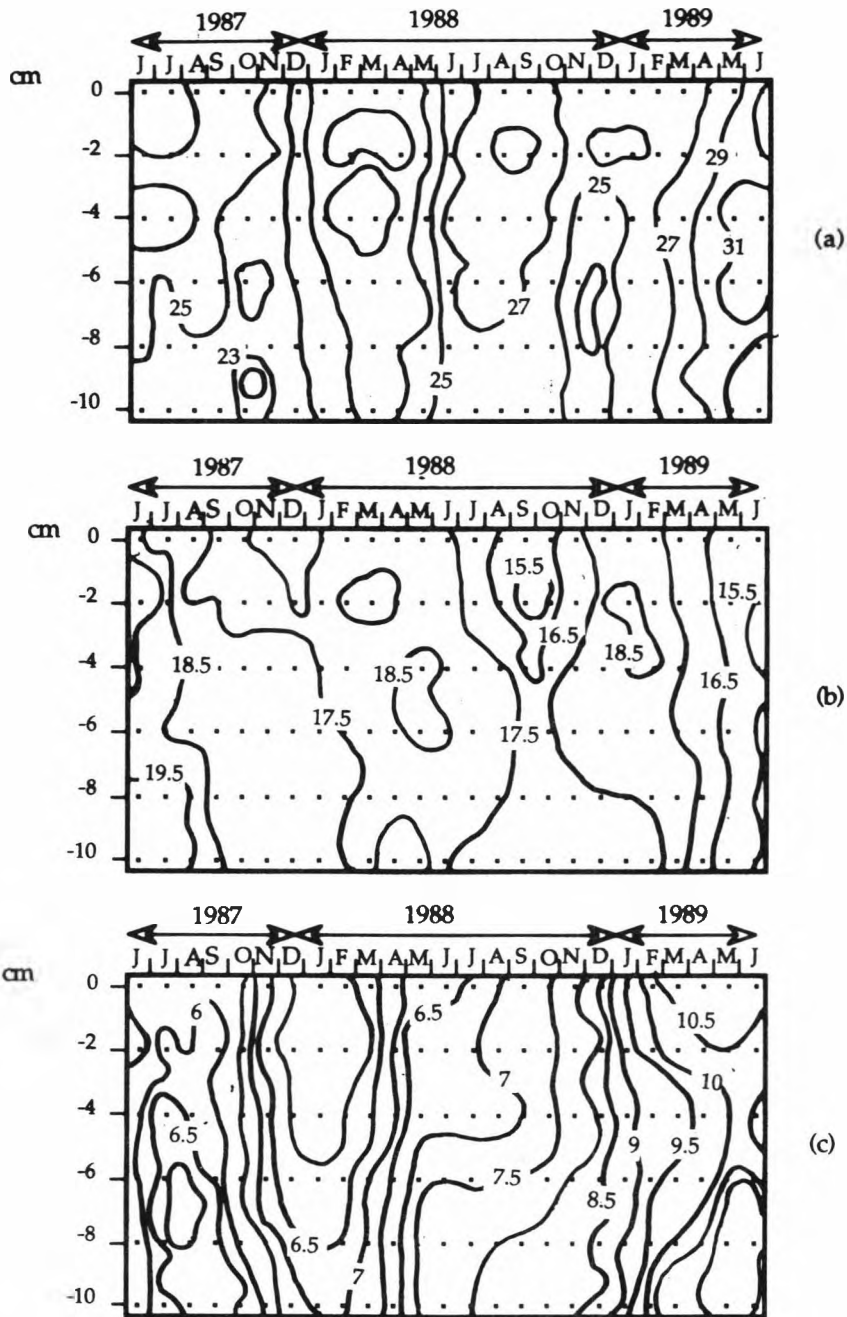


Figura 2.- Variación espacio-temporal de las concentraciones ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) de las distintas formas de fósforo orgánico. a) débil, b) medio y c) fuertemente unido a la materia orgánica.

Llorens y Niell, 1993), así como los incrementos encontrados en las concentraciones de nitrito, amonio y fosfato en el agua del estuario (García-Vallejo, inédito).

## REFERENCIAS

- Armengol, J.; Crespo, M. y Morgui, J.A.. 1983. Phosphorus compounds of the Sau Reservoir through its twenty years existence. Verh. Internat. Verein. Limnol., 22: 1536-1540.
- Berner, R.A. 1977. Stoichiometric models for nutrient regeneration in anoxic sediments. Limnol. Oceanogr., 22: 781-786
- Berner, R.A. 1980. *Early diagenesis*. Princeton Press, Princeton, 241pp.
- Boström, B; Jansson, M. y Forsberg, C.. 1982. Phosphorus release from lake sediment. Arch. Hydrobiol. Beih., 18: 5-59.
- Clavero, V. 1992. *Estudio experimental y modelo de intercambio de fosfato en la interfase sedimento-agua en el estuario del Río Palmones (Agéciras, Cádiz)*. Tesis Doctoral. Universidad de Málaga. 206pp.
- Clavero, V.; Niell, F.X. y Fernández, J.A. 1991. Effects of *Nereis diversicolor* O.F. Müller abundance on the dissolved phosphate exchange between sediment and overlying water in Palmones River Estuary (Southern Spain). Est. Coast. Shelf Sci., 33(2): 193-202.
- Clavero, V.; Niell, F.X. y Fernández, J.A. 1992. Bioturbation by *Nereis* sp. and its effects on the phosphate flux across the sediment-water interface in Palmones River Estuary. Hydrobiol., 235: 387-392..
- Fernández, J.A. 1986. *Modelos global y celular de flujo de fósforo en embalses de regiones subáridas con alta erosión*. Tesis Doctoral. Universidad de Málaga. 278pp.
- Fernández, J.A.; Niell, F.X. y Lucena, J. 1985. A rapid and sensitive automated determination of phosphate in natural waters. Limnol. Oceanogr., 30(1): 227-230.
- Froelich, P.N.; Klinkhammer, G.P.; Bender, M.L.; Luedtke, N.A.; Heath, G.R.; Cullen, D.; Dauphin, P.; Hammond, D.; Hartman, B. y Maynard, V. 1979. Early oxidation of organic matter in pelagic sediments of the eastern equatorial Atlantic: suboxic diagenesis. Geochim. Cosmochim. Acta, 43: 1075-91.
- Koutsoukos, P.G.; Amjad, Z.; Tomson, M.B. y Nancollas, G.H.. 1980. Crystallization of calcium phosphates. A constant composition study. Am. Chem. Soc. Jour., 102: 1553-7.
- López-Figueroa, F. 1984. *Fitofagia y coprofagia en el Molusco Hydrobia ulvae (Penn)*. Ensayo de modelado trófico. Tesis de Licenciatura. Universidad de Málaga. 205pp.
- Nancollas, G.H. 1984. The nucleation and growth of phosphate minerals. En: *Phosphate minerals*. J.O. Nriagu & P.B. Moore. Eds.

- Pérez-Llorens, J.L. y Niell, F.X. 1993. Seasonal dynamics of biomass and nutrient content in the intertidal seagrass *Zostera noltii* Hornem from Palmones River Estuary. *Aquat. Bot.*, 46: 49-66
- Sommers, L.E.; Harris, R.F.; Willians, J.D.H. ; Armstrong, D.E. y Syers, J.K. .1972. Fractionation of organic phosphorus in lake sediment. *Soil. Sci. Soc. Amer. Proc.*, 36: 51-4.
- VanCapellen, P. y Berner, R.A. 1988. A mathematical model for the early diagenesis of phosphorus and fluorine in marine sediments: apatite precipitation. *Am. J. Sci.*, 288: 289-333.
- Williams, J.D.; Syers, J.K. ; Harris , R.F. y Armstrong, R.F. 1971. Fractionation of organic phosphate in calcareous lake sediment. *Soil. Soc. Amer. Proc.*, 35: 250-5.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto AMB96-0782 de la CICUT.

## EVALUACIÓN DE LA RELACIÓN DE NUTRIENTES Y BIOMASA MICROBIOLÓGICA EN UNA CORRIENTE FLUVIAL

*M.D. Galindo Riaño, M.P. Martínez Martínez, L. Vidal Valderas y M. García-Vargas*  
Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz, Cádiz.

**Palabras claves.** Análisis microbiológicos, nutrientes, calidad de aguas, contaminación fluvial.

### RESUMEN

Se han estudiado una serie de parámetros biológicos (clorofilas a, b y c, clostridium sulfito-reductores, estreptococos fecales, bacterias coliformes, bacterias aerobias a 22°C y 37°C) y químicos (C, N and O) en la cuenca del río Guadalete (período 1992-1993). Los parámetros estudiados indican un alto grado de insalubridad de las aguas, destacando los puntos de Villamartín y El Portal, sobre todo este último. La correlación de las variables por análisis cluster refleja tres comportamientos destacados del cauce del río. Igualmente, los parámetros estudiados pueden ser agrupados en cinco factores (análisis factorial) que representan la degradación de la materia orgánica soluble en el río, la producción primaria de biomasa, la contaminación bacteriana fecal, la no fecal y la contaminación orgánica sólida relacionada con aguas residuales urbanas e industriales, respectivamente.

### ABSTRACT

Biological (chlorophyll a, b and c, clostridium sulphite-reductor, faecal streptococcus, coliform bacteria and aerobic bacteria at 22°C and 37°C) and chemical (C, N and O) parameters were analysed from samples of Guadalete basin (during 1992-1993). The studied parameters show a high grade of water unhealthiness, bring out stations of Villamartín

and El Portal, especially the last. The correlation of variables by cluster analysis shows three outstanding behaviours of the river bed. Likewise, the studied parameters can be grouped in five factors (factorial analysis) that mean the decline of soluble organic matter into the river, the primary production of biomass, the bacterial contamination, faecal and no and the solid organic contamination related with urban and industrial sewage, respectively.

## INTRODUCCIÓN

Los ríos son sistemas que transportan materiales disueltos y particulados procedentes principalmente de los ecosistemas pertenecientes a sus cuencas. Por tanto, la naturaleza de estos materiales condiciona completamente los procesos bióticos y abióticos que suceden en las aguas (Elosegui y Pozo, 1992; Rochelle et al, 1984; Sabater et al, 1990; A. Palau, 1990).

La importancia relativa de estos procesos esta influenciada por un conjunto de factores tales como climáticos, hidrológicos, geológicos, químicos y antropogénicos, que modifican tanto las características físico-químicas como biológicas (Sola et al, 1990). Entre estos factores, el clima, que regula el caudal del río, y el impacto de aguas residuales ejercen el papel más importante sobre el control microbiológico del río (Scrimgeour y Winterbourn, 1984; Reiter, 1986).

El río Guadalete, que desemboca en el océano Atlántico (140 km) está caracterizado por una alta pendiente en su curso alto para después fluir más lentamente. Este río constituye un sistema acuático de notable interés debido a la magnitud de los influentes que recibe de naturaleza doméstica, urbana e industrial, principalmente. Esta situación es más destacable en el curso medio-bajo del mismo, cuando atraviesa la campiña de Jerez. Esto da lugar a que el régimen natural del río, en cuanto a sus características físico-químicas-microbiológicas, esté notablemente influenciado por factores antropogénicos.

En este trabajo se trata de evaluar la calidad de las aguas del río, así como de establecer la evolución de la misma desde el punto de vista espacio-temporal. Con ello se pretende conocer las características microbiológicas de estas aguas, así como la influencia de los vertidos de aguas residuales.

## MATERIAL Y METODOS

### Estaciones de muestreo.

En la figura 1 se han dibujado las 10 estaciones de muestreo, estando distribuidas desde la zona alta del río hasta la desembocadura (océano Atlántico), en las que se tomaron las muestras mensualmente desde marzo de 1992 a mayo de 1993. Las coordenadas UTM de la ubicación de las muestras son: en el tramo alto A1, 30STF818848; MA1, 30STF726894 y MA2, 30STF623819, correspondientes al tramo medio-alto del río; MB1, 30STF537755, MB2, 30STF505712 y MB3, 30STF447649, del tramo medio-bajo; B1, 29SQA330583 y B2, 29SQA569581, del tramo inferior del río; y D1, 29SQA488543 y D2, 29SQA478528 correspondientes a la desembocadura del río.

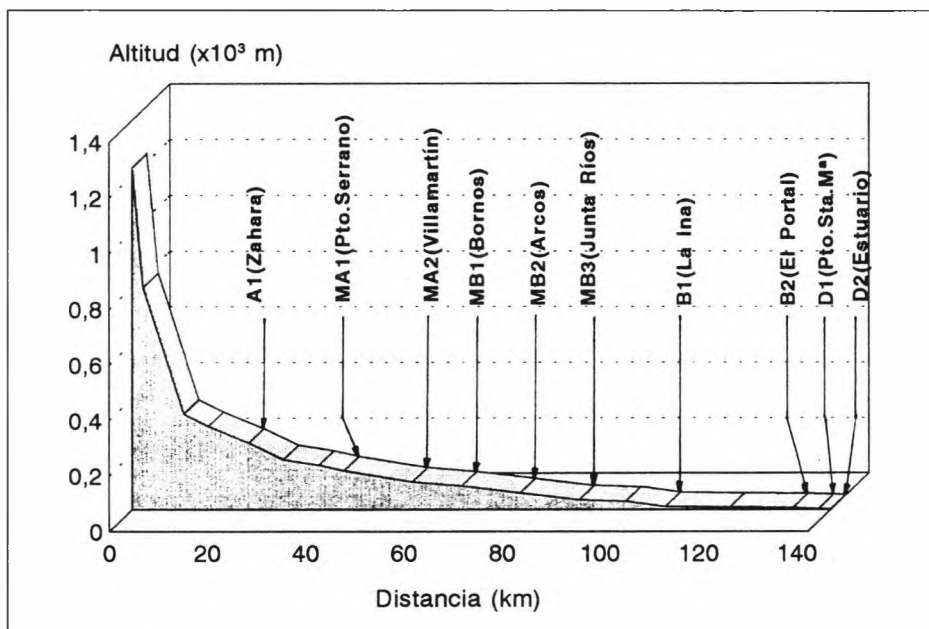


Figura 1.- Perfil longitudinal del río Guadalete (desde la cota de nivelación 1.230 m. hasta el nivel del mar en el Pto. Sta. María).

El tramo superior del río está caracterizado por zonas de pastizal, matorral y encina, así como olivar de verdeo y almazara. En el cauce medio-alto los cultivos son de tipo herbáceos de secano, barbecho semillado y acebuche y se mantiene la presencia de encinas y olivar. La siguiente zona de muestreo, río medio-bajo, se caracteriza por la presencia de huertas y barbecho semillado, cultivos herbáceos y praderas de regadío, así como bosques de eucaliptos y olivar; las huertas son compartidas con la existencia de naranjos. El tramo inferior del río mantiene cultivos parecidos con un aumento de los matorrales y del pastizal. Por último, la zona de la desembocadura se caracteriza por ser un suelo no apto para cultivo.

### Métodos analíticos.

La toma de muestra se efectuó teniendo en cuenta los criterios de Rodier (1990) y los indicados por "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater" (1989). Los parámetros físico-químicos fueron analizados por métodos volumétricos (nitrógeno orgánico total, NOT; carbono orgánico total, COT; y carbono inorgánico total, CIT), gravimétricos (materia suspendida, MS), electrodos selectivos (pH; nitrógeno inorgánico total, NIT) y polarográficos (oxígeno disuelto, OD). Los parámetros microbiológicos fueron analizados espectrofotométricamente (clorofilas a, b y c, CLA, CLB y CLC, respectivamente), por el método de los tubos múltiples (bacterias coliformes, COLI, en cultivo de lactosa simple; y estreptococos totales, EST, en cultivo de Rothe y glucosa-P-azida),

por el método de la incorporación en medio de gelosa (clostridium sulfitorreductores, CLO, usando el cultivo de Wilson-Blair, agar-glucosa-sulfito-Fe) y el recuento aerobio a 37°C (REA37) y 22°C (REA22) (por el método de recuento en placa Petri con cultivo de agar).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se muestran la frecuencia, valores medios, desviación estándar de la media y valores mínimo y máximo alcanzados por los parámetros durante todo el período muestral a lo largo del curso del río. De los mismos puede deducirse:

- a) La mayoría de los parámetros alcanzan valores medios sustancialmente altos indicando un alto grado de insalubridad de estas aguas.
- b) Los altos valores máximos alcanzados por algunos de estos parámetros tales como MS, CLA, CLB, CLC, COLI, EST y REA, así como los ensayos positivos de CLO, son indicativos de un desarrollo puntual, en grado muy elevado, de gérmenes nocivos. Esto también está en concordancia con los elevados valores máximos alcanzados por COT y NOT y los bajos valores mínimos alcanzados por OD, que llegan a ser incluso cero.
- c) Los bajos valores mínimos alcanzados por materia suspendida, clorofilas, bacterias aerobias y nutrientes sugieren la existencia de una potencial contaminación y posterior desarrollo de gérmenes de naturaleza estacional, ya sea respecto a las zonas de muestreo como a la época del año. Esto también está de acuerdo con los valores elevados de OD, próximos al máximo.

Un examen más detallado de los parámetros estudiados respecto de cada estación se expone en la tabla 2, en la que se detallan los valores medios alcanzados por cada parámetro. El examen de estos datos sugiere lo siguiente:

-La temperatura muestra una tendencia creciente a lo largo del curso del río cuando pasamos desde las estaciones correspondientes al curso alto a las del curso bajo.

-La variación de los valores medios correspondientes a CLA, CLB, CLC, CLO y EST da lugar a dos máximos pronunciados en las estaciones MA2 y B2, siendo este segundo notablemente más alto. En estos lugares, Villamartín y El Portal, respectivamente, se originan verdaderas aglomeraciones notables de algas, principalmente cianofíceas y clorofíceas. Es de notar que las diferentes relaciones entre las distintas clases de pigmentos nos indica una variación tanto en la composición taxonómica como en el estado fisiológico de la comunidad. Además, los valores individuales de clorofilas que se obtienen en estas estaciones de muestreo indican que es en verano (julio) cuando se produce la "explosión" de biomasa algal. Mientras que para COLI y EST los máximos valores se alcanzan en invierno y otoño-invierno, respectivamente.

Por otro lado, se ha encontrado una notable disminución para estos parámetros en las estaciones MB1 y MB2 que está relacionada probablemente con la existencia del embalse de Bornos y contra-embalse de Arcos que actúan como depuradores del ecosistema fluvial. Esta autodepuración se presenta también en las estaciones D1 y D2 por el efecto que ejercen las aguas del mar.

TABLA 1. Valores medio, mínimo y máximo de las variables microbiológicas del río Guadalete.

VARIABLE	n	$\bar{X}$	DS $\bar{X}$	Xmin	Xmax
Temperatura (°C)	122	17.60	0.3926	7.30	28.50
pH	122	7.80	0.0224	7.20	8.84
OD (mg/l)	108	6.18	0.3068	0.00	14.50
MS (mg/l)	110	219.57	121.4400	2.90	13101.00
CLA (µg/l)	110	36.84	8.6540	0.00	811.00
CLB (µg/l)	110	6.99	1.2877	0.00	104.30
CLC (µg/l)	110	5.98	0.9211	0.00	80.40
COLI (germ/100 ml)	110	12011.01	1769.7001	70.00	50000.00
EST (germ/100 ml)	110	8941.90	1554.1002	0.00	50000.00
RA37 (colon/ml)	110	1537.02 E3	336.0990 E3	200.00	1703.00 E4
RA22 (colon/ml)	110	3277.01 E4	1063.0010 E4	220.00	5021.00 E5
NIT (mg/l de N)	113	14.38	1.8751	1.29	67.76
NOT (mg/l de N)	100	3.17	0.3455	0.00	13.20
COT (mg/l de C)	120	41.60	5.9191	1.01	217.50
CIT (mg/l de C)	125	23.05	0.7795	11.23	59.09
NT (mg/l de N)	98	18.07	2.1068	1.79	68.36
CT (mg/l de C)	120	64.17	5.9437	13.06	243.40
Rel. Molar CT/NT	98	6.20	0.4468	1.60	25.70

-Respecto de los recuentos medios de bacterias aerobias (microorganismos que utilizan activamente la materia orgánica y son poco sensibles a los cambios ambientales) se deduce dos comportamientos relativamente diferentes. De acuerdo con los valores medios obtenidos para REA37 puede indicarse que presenta una variación similar a la descrita para los anteriores parámetros, es decir, se encuentran dos máximos en MA2 y B2, siendo este último más alto que el primero, del mismo modo que ocurría anteriormente.



TABLA 2. Valores medios de los parámetros medidos en cada estación de muestreo.

VARIABLES	A1	MA1	MA2	MB1	MB2	MB3	B1	B2	D1	D2
Temp. (°C)	15.43	16.27	16.71	16.73	18.22	16.70	18.12	20.29	18.81	18.46
pH	7.75	7.88	7.98	7.75	8.05	7.70	7.75	7.52	7.79	7.86
OD (mg/l)	7.52	6.66	8.06	6.81	8.07	6.77	6.76	1.38	4.33	5.47
MS (mg/l)	25.46	105.90	175.07	52.12	10.48	342.23	1326.81	68.79	46.79	42.08
CLA (µg/l)	5.16	15.45	41.12	18.98	9.78	41.23	58.95	158.71	11.99	7.07
CLB (µg/l)	4.51	3.16	6.22	2.71	3.60	8.80	8.23	21.91	3.69	7.04
CLC (µg/l)	5.67	3.49	10.59	5.00	4.18	1.79	6.89	8.15	4.48	9.52
COLI (g/100 ml)	8721.82	17931.82	22030.91	1670.91	2526.36	12077.27	11597.27	23828.18	11590.91	8130.00
EST (g/100 ml)	1170.91	4068.18	12494.55	156.36	52.73	12450.91	7303.64	45485.46	4245.46	1990.91
REA37 (col/ml)	133.3 E4	782.3 E3	176.4 E4	922.1 E3	758.1 E3	856.4 E3	149.9 E4	549.7 E4	875.0 E3	108.5 E4
REA22 (col/ml)	844.4 E4	458.1 E4	369.8 E4	424.7 E5	379.9 E5	312.6 E5	371.3 E5	378.6 E5	449.4 E5	476.9 E4
NIT (mg/l N)	3.33	3.01	4.03	2.95	2.17	5.33	6.62	10.54	50.50	53.31
NOT (mg/l N)	2.30	2.68.	3.66	2.46	2.28	2.75	3.58	5.60	3.64	2.74
COT (mg/l C)	1.56	1.85	2.34	1.77	2.05	2.43	7.37	117.10	136.62	142.92
CIT (mg/l C)	27.91	27.61	27.99	14.45	13.16	23.17	24.51	34.66	19.95	16.74
NT (mg/l N)	5.68	5.80	7.82	5.45	3.95	8.30	10.46	15.77	57.02	58.05
CT (mg/l C)	29.47	29.31	30.34	16.25	15.17	25.31	31.87	149.72	154.60	159.66
R.Mol. CT/NT	9.00	8.57	6.27	5.12	6.34	4.18	3.95	11.97	3.24	3.20

La variación de los valores medios de REA22 muestra que entre las estaciones de muestreo de Villamartín (MA2) y Pto. de Santa M<sup>a</sup> (D1) existe una abundante carga de colonias, además, dos máximos son también evidentes, correspondientes a MB1 y D1. En este sentido, se ha encontrado que los clostridium sulfitorreductores aparecen ocasionalmente entre estas estaciones (desde MA2 a D1); sin embargo, en las estaciones MA2, MB3, B1 y D1 sucede en octubre y lo hacen en marzo en las estaciones MB1 y B2.

Por otro lado, es en verano cuando se produce la mayor cantidad de bacterias aerobias, siendo julio el período crítico para REA22 y julio-septiembre para REA37.

-Finalmente, puede observarse de los valores medios obtenidos para carbono y nitrógeno totales (COT+CIT y NOT+NIT, respectivamente) que es en las tres estaciones últimas donde alcanzan valores máximos. Puede verse como NIT es el que más contribuye al NT; además, puede comprobarse como NOT presenta valores máximos en MA2 y B2, indicando una fuerte descarga de aguas residuales con altos contenidos en materia orgánica. Por otra parte, respecto al carbono total puede comprobarse que es el COT el que más contribuye a partir de las estaciones B1. Lo cual está relacionado probablemente con vertidos de aguas residuales de origen orgánico.

Se ha realizado un análisis cluster de los parámetros medidos (BMDP2M) el cual correlaciona a las variables utilizando la mínima distancia euclidiana como medida para la asociación (Fig. 2). De la misma puede concluirse que clorofilas y bacterias aerobias forman una estrecha asociación que a su vez están relacionadas con la temperatura y OD que constituyen otra asociación. Otra interesante asociación la forman NT, CT, NIT y COT lo que

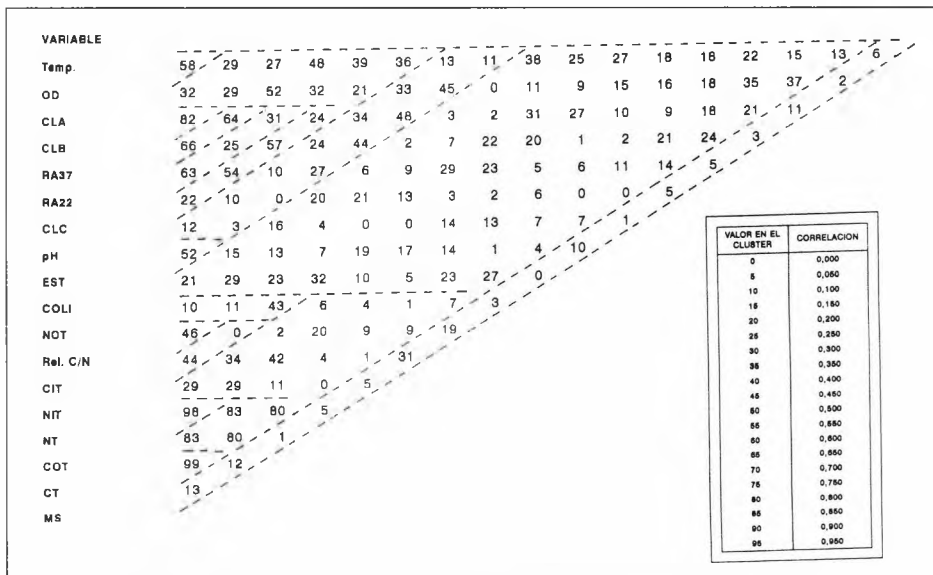


Figura 2. - Análisis cluster de parámetros microbiológicos y nutrientes.

indica que son estas formas de nitrógeno y carbono las que más contribuyen a nitrógeno y carbono totales. Por otra parte, EST está relacionado estrechamente con el pH y NOT con la relación molar C/N, mostrando que ésta depende fundamentalmente de nitrógeno orgánico principalmente. También se ha efectuado un análisis cluster de las muestras analíticas (BMDP1M) en cada estación que correlaciona a los casos mediante la mínima distancia euclidiana. En la tabla 3 se detallan las agrupaciones con mayor similitud. Hay que indicar que la distancia de amalgamamiento aumenta de izquierda a derecha en las agrupaciones efectuadas. De la misma puede inferirse que las estaciones correspondientes al curso alto y medio alto (A1, MA1 y MA2) muestran un similar comportamiento, correspondiente este a invierno y primavera. En el curso medio bajo puede verse dos series diferentes verano e invierno (MB1 y MB2) y verano (MB3). Este último coincide en comportamiento con el encontrado en B2, siendo relativamente diferente con respecto a los anteriores el B1. Por último, las estaciones correspondientes a la desembocadura muestran un comportamiento bastante diferente a las anteriores.

TABLA 3. Análisis cluster de las muestras para cada estación de muestreo.

ESTACIONES DE MUESTREO	AGRUPACIONES POR CASOS	
A1 (Zahara)	INVIERNO	OTOÑO-PRIMAVERA
MA1 (Pto. Serrano)	INVIERNO	PRIMAVERA
MA2 (Villamartín)	INVIERNO	PRIMAVERA
MB1 (Bornos)	VERANO	INVIERNO
MB2 (Arcos)	VERANO	INVIERNO
MB3 (Junta de los Ríos)	VERANO	
B1 (La Ina)	PRIMAVERA	INVIERNO
B2 (El Portal)	VERANO	
D1 (Pto. Sta. M <sup>a</sup> )	OTOÑO	INVIERNO PRIMAVERA
D2 (Estuario)	INVIERNO	VERANO

Todo esto denota diferencias estacionales entre los distintos tramos del río respecto a los parámetros medidos y, por tanto, las condiciones bioquímicas producen estos diferentes comportamientos de acuerdo con las condiciones ambientales, hidrológicas y antropogénicas de los mismos.

Se ha efectuado también un análisis factorial con rotación varimax (BMDP4M) de las variables estudiadas, al objeto de reunir a estas en algunos factores que puedan explicar la varianza total de la muestra. El análisis efectuado agrupa a los parámetros en cinco factores que explican conjuntamente el 74.76% de la varianza total (Tabla 4).

*Factor 1.* Explica el 28.47% de la varianza espacial de los factores, asociando a las variables COT, NIT, NT y CT, todas ellas correlacionadas positivamente con el factor.

TABLA 4. Análisis factorial con rotación VARIMAX de las variables analizadas.

VARIABLES	FACTOR 1	FACTOR 2	FACTOR 3	FACTOR 4	FACTOR 5
COT	0.955	0.000	0.000	0.000	0.000
NIT	0.948	0.000	0.000	0.000	0.000
NT	0.948	0.000	0.000	0.000	0.000
CT	0.937	0.000	0.000	0.000	0.000
CLB	0.000	0.874	0.000	0.000	0.000
RA37	0.000	0.834	0.000	-0.276	0.000
CLA	0.000	0.744	-0.411	0.000	0.000
CLC	0.000	0.744	0.000	0.000	0.000
EST	0.000	0.254	-0.778	0.000	0.000
pH	0.000	0.000	0.777	0.000	0.000
OD	-0.261	-0.281	0.653	0.381	0.000
TEMP.	0.000	0.317	-0.302	-0.737	0.000
COLI	0.000	0.000	0.000	0.709	0.000
RA22	0.000	0.461	0.000	-0.550	-0.258
CIT	0.000	0.278	-0.336	0.544	0.000
CT/NT	0.000	0.256	0.000	0.266	-0.788
NOT	0.000	0.000	-0.333	0.000	0.727
MS	0.000	0.000	0.000	0.000	0.628

Globalmente este factor representa la degradación de la materia orgánica soluble que recibe el río. Negativamente y poco correlacionada está también en esta agrupación el OD.

La figura 3, refleja la distribución de las muestras frente a los factores 1 y 2 y en ella pueden distinguirse tres grupos de muestras. Un primer grupo incluye a todas las muestras de las dos últimas estaciones y situadas en la parte más positiva del eje X. Otro grupo corresponde también a prácticamente todas las muestras de la estación B2 (nº 8). Finalmente, todas las demás muestras están situadas en la parte negativa del eje X. Esta distribución de las muestras indica claramente la influencia que tienen los fenómenos biogeoquímicos e hidrológicos producidos a lo largo del cauce del río sobre los tramos inferiores del mismo. Por otro lado, puede observarse como en invierno, enero-marzo (estaciones D1 (nº 9) y D2 (nº 10)) están relacionados estrechamente con el mayor caudal del río y por tanto, con el mayor aporte de materia orgánica degradada.

*Factor 2.* Este factor representa el 24% de la varianza espacial de los factores. Consiste en las variables clorofilas y recuentos aerobios, todas ellas correlacionadas posi-

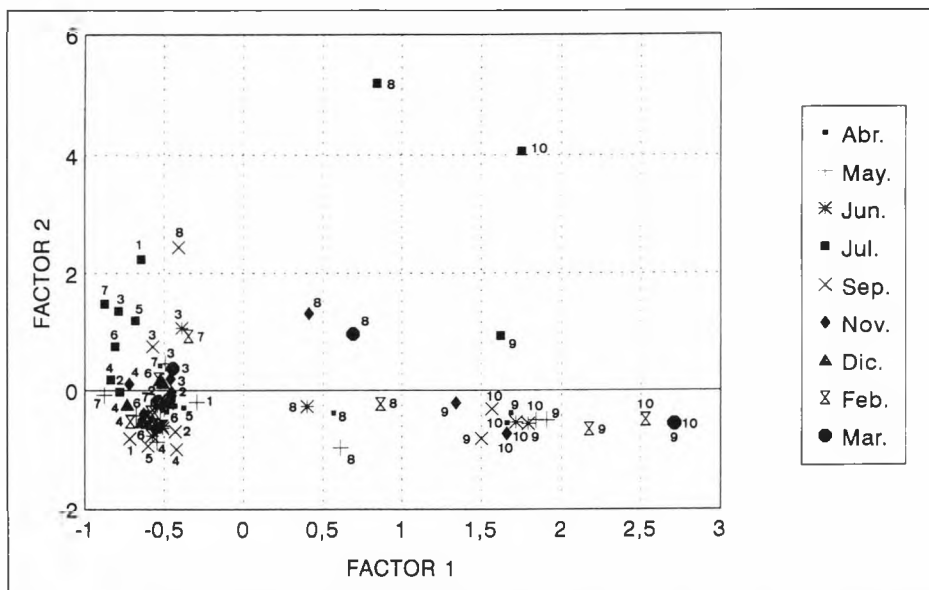
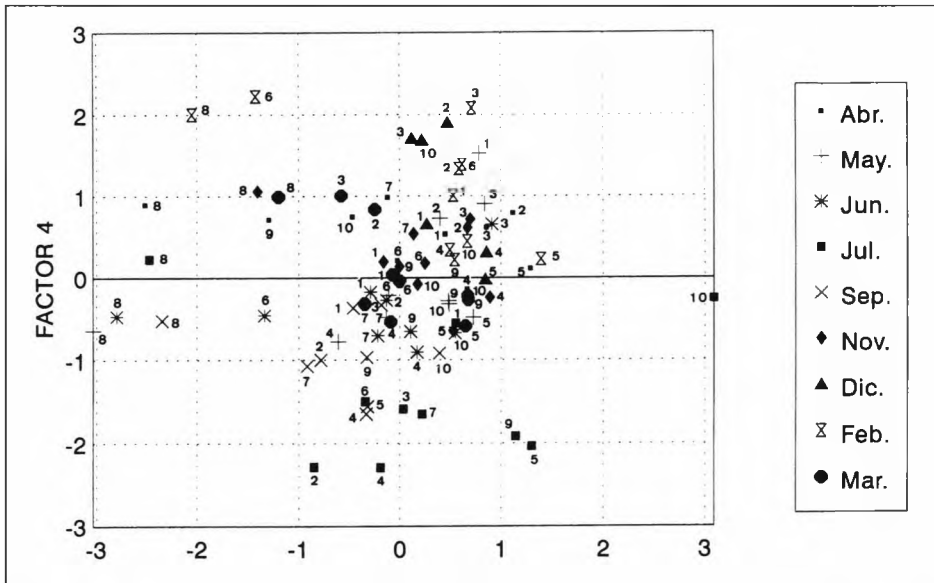


Figura 3.- Análisis factorial con rotación VARIMAX para las muestras. Factores del análisis de componentes principales: F1-F2 (los nº corresponden a las estaciones de muestreo ordenadas consecutivamente desde Zahara (A1 = 1) hasta el estuario (D2 = 10).

vamente con el factor. OD y T también están relativamente correlacionadas con el factor, de forma negativa y positiva, respectivamente. Este factor representa la producción primaria de biomasa así como la calidad bacteriológica del agua. La distribución de las muestras frente a este factor se representa en la figura 3. De la situación de las mismas puede concluirse que B2 (nº 8) y D2 (nº 10) responden a una clara influencia de descargas estacionales en el río. Esta situación se denota en B2 (nº 8) en épocas que van desde marzo a noviembre, teniendo su máxima expresión en julio. Por otro lado, también se deduce que en las estaciones D1 (nº 9) y D2 (nº 10) el mes de julio es clave.

*Factor 3.* Este factor explica el 18.32% de la varianza espacial de los factores y está constituido por OD, pH y EST, estando los dos primeros correlacionados positivamente y el tercero negativamente. Las variables CLA, CIT y NOT están también correlacionadas negativamente con el factor. Este factor representa la calidad hidroquímica de las aguas. La distribución de las muestras frente a los factores 3 y 4 se ha representado en la figura 4. De la misma puede concluirse que las muestras se pueden clasificar en cuatro grupos. Un primer grupo constituido por las muestras de la estación B2 (nº 8) desde abril a septiembre. Un segundo grupo que esta constituido por las muestras de B2 en marzo y noviembre y de D1 (nº 9) en abril. Un tercer grupo formado por casi todas las muestras (parte central de la figura) y finalmente, la muestra D2 (nº 10) en julio.

*Factor 4.* Explica el 15.36% de la varianza espacial de los factores. Consiste en las variables T, REA22, COLI y CIT, estando los dos primeros correlacionados positivamente



**Figura 4** .- Análisis factorial con rotación VARIMAX para las muestras. Factores del análisis de componentes principales: F3-F4 (los nº corresponden a las estaciones de muestreo ordenadas consecutivamente desde Zahara (A1 = 1) hasta el estuario (D2 = 10)).

con el factor y los otros dos negativamente. REA37 está también relacionado negativamente con el factor. Este factor representa la biomasa bacteriana, no necesariamente de origen fecal. En la figura 4 se detalla la distribución de las muestras frente a este factor. De la misma se pueden destacar dos grupos de muestras, uno situado en la parte negativa, formado por las estaciones de la segunda a la séptima y la novena (de MA1 a MB3 y D1) en julio y otro situado en la parte positiva correspondiente a las tres primeras estaciones en diciembre y febrero.

*Factor 5.* Explica el 13.80% de la varianza del espacio de los factores. Está constituido por las variables MS, NOT y REL C/N, estando las dos primeras correlacionadas positivamente y la última negativamente. Este factor representa una contaminación orgánica sólida, probablemente relacionada con aguas residuales urbanas e industriales con elevados contenidos en sólidos en suspensión. La distribución de las muestras se refleja en la figura 5. De la misma puede observarse como las dos estaciones primeras están situadas en la parte negativa del factor, y en la parte positiva están situadas las muestras correspondientes a B1 en mayo-abril.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el soporte financiero recibido por el proyecto NAT91-1435 concedido por el CICYT.

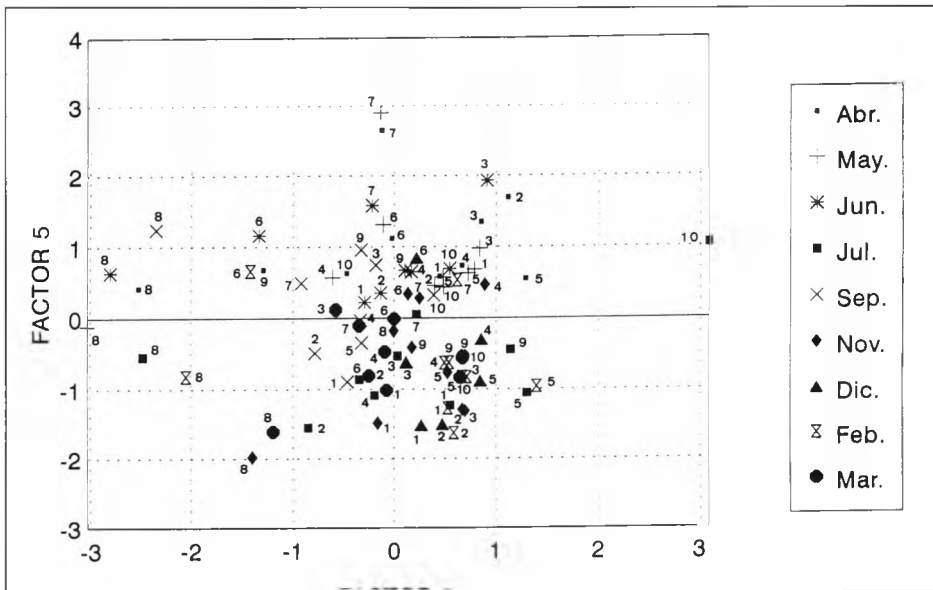


Figura 5.- Análisis factorial con rotación VARIMAX para las muestras. Factores del análisis de componentes principales: F3-F5 (los nº corresponden a las estaciones de muestreo ordenadas consecutivamente desde Zahara (A1 = 1) hasta el estuario (D2 = 10)).

## BIBLIOGRAFÍA

- Elosegui, A. y Pozo, J., 1992. Physico-chemical characteristics of the Agüera River (Spain) during an unusual hydrologically period. *Annls Limnol.*, 28 (1): 85-96.
- Palau, A., 1990. Sobre la utilización de índices de calidad del agua. *Tecnología del agua*, 71: 24-31.
- Reiter, M.A., 1986. Interactions between the hydrodynamics of flowing water and the development of a benthic algal community. *J. Freshwat. Ecol.*, 3: 511-517.
- Rochelle, B.P., Liff, C.I., Campbell, W.G., Cassell, D.L. Church, M.R. and Nusz, R.A., 1989. Regional relationship between geomorphic/hydrologic parameters and surface water chemistry relative to acidic deposition. *J. Hydrol.*, 112: 103-120.
- Rodier, J., 1990. *Análisis de las aguas. Aguas naturales, aguas residuales, agua de mar*. Ed. Omega, Barcelona, 1060 pp.
- Sabater, F., Sabater, S. and Armengolll, J., 1990. Chemical characteristics of a Mediterranean river as influenced by land uses in the watershed. *Wat. Res.*, 24: 143-155.
- Scrimgeour, G.J. and Winterbourn, M.J., 1989. Effects of floods on epilithon and benthic macroinvertebrate populations in an unstable New Zealand river. *Hydrobiologia*, 171: 33-44.

- Sola, A., Longas, J.F., Guinea, A. y López-Santoveña, F., 1990. Estudio hidroquímico del río Henares (Cuenca del Tajo). I. Variaciones espacio-temporales de las variables físico-químicas desde su nacimiento hasta Guadalajara. *Tecnología del agua*, 2º Monográfico: 9-21.
- Sola, A., Longas, J.F., Guinea, A. y López-Santoveña, F., 1990. Estudio hidroquímico del río Henares (Cuenca del Tajo). II. Evolución longitudinal y análisis factorial de los parámetros físico-químicos en el tramo Guadalajara-Alcalá de Henares. *Tecnología del agua*, 74: 41-47.
- APHA, AWWA, WPCF, 1980. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 15th Ed., New York, 300pp.





# ESTUDIO HIDROQUIMICO DEL RIO GUADALETE. EVOLUCION ESPACIO-TEMPORAL DE PARAMETROS FISICO-QUIMICOS.

*M.P.Martinez Martinez, M.D. Galindo Riaño, M.Milla González y M. García Vargas.*  
Departamento de Química Analítica. Facultad de Ciencias. Universidad de Cádiz.

**Palabras clave:** parámetros fisico-químicos, rios, hidroquímica, contaminación.

## RESUMEN

Se han tomado muestras de agua del Río Guadalete a lo largo de su recorrido durante un periodo de algo más de un año. Los parámetros fisico-químicos estudiados son: DQO, materia orgánica fácilmente oxidable al permanganato, alcalinidad total, dureza, nitrógeno orgánico, amonio, cloruro, nitrato, fluoruro, pH, conductividad, salinidad, oxígeno disuelto, nitrito, fosfato, sulfato y sulfuro. Mediante análisis cluster de los parámetros analizados y de las muestras analíticas se ha podido comprobar que el sistema fluvial puede dividirse en cuatro zonas distintas de acuerdo con la naturaleza de los materiales disueltos. Un análisis factorial de las variables estudiadas clasifica las mismas en cuatro grupos y que explican las condiciones hidrológicas y antropogénicas de las aguas. Habiéndose establecido que el efecto de las aguas residuales no sólo tiene una incidencia espacial sino también temporal.

## ABSTRACT

Water's samples allong Guadalete River have been collected during a year approximately. Phisico-chemical parameters studied were: DQO, organic material easily oxidicing to permanganate, total alcalinity, hardness, organic nitrogen, amonium, chloride, nitrate, pH, fluoride, conductivity, salinity, dissolved oxygen, nitrite, phosphate, sulphate and sul-

phide. By cluster analysis of parameters analyzed and of analytical samples it was possible show that fluvial system can be established into four different zones according to nature of dissolved matter. A factorial analysis of variables studied classify its into four groups and they exply the hydrologic and antropogenic conditions of the waters. It have stablished that the influence of residual waters not only has a spatial incidence but also seasonal.

## INTRODUCCION

Los ríos son sistemas longitudinales que transportan continuamente materiales disueltos y particulados hasta el lugar de su desembocadura (Margalef 1983). Puede considerarse que el estudio de estos materiales proporciona información acerca de los procesos bióticos y abióticos que ocurren en el sistema fluvial (Rochelle et al, 1989, Sabater et al, 1950; Elósegui y Pozo, 1992). La relevancia de estos procesos depende de una serie de factores, tales como físicos, geológicos, químicos y biológicos (Schuman, 1988; Sola et al, 1990a) y los procesos que ocurren en los tramos inferiores dependen en gran parte de los que se desarrollan en los tramos superiores (Sola et al, 1990b). Además, las actividades antropogénicas, domésticas, urbanas, industriales y agrícolas (Davis, 1987; Reynolds et al, 1989; Elósegui y Pozo 1992) y la existencia de embalses en su curso actúan también sobre estos procesos en mayor o menor grado (Sola et al, 1990a; Capblanq y Tourenq, 1978).

El río Guadalete está influenciado por estos factores, los cuales condicionan de manera relevante la composición química de sus aguas. De aquí, que dada la diversificación química existente en este río se ha considerado de interés llevar a cabo un estudio de la evolución de los parámetros fisico-químicos tanto de manera espacial como temporal. Todo ello, con los objetivos de conocer las características fisico-químicas de este río y de comprobar la influencia en el mismo de vertidos urbanos e industriales.

## MATERIAL Y METODOS

### CARACTERISTICAS DE LA CUENCA

El río Guadalete (157 Km de recorrido) nace en la sierra de Grazalema (Cádiz) describe un amplio arco y discurre por una zona cuyas aguas de escorrentías provocan fuertes crecidas. A partir de Zahara, como consecuencia del ensanchamiento del valle existen diversos cultivos. Después de la Sierra de Lijar cambia de dirección y penetra en la Campiña de Jerez. Desemboca en el Atlántico a través de una zona de marismas. Sobre el mismo río se han construido el embalse de Bornos (215 Hm<sup>3</sup>) y el contraembalse de Arcos (12 Hm<sup>3</sup>)

### ESTACIONES DE MUESTREO

En la fig 1 se ha representado el curso del río y su zona de influencia. Los círculos blancos numerados reflejan la situación de las 10 estaciones de muestreo, en las cuales se han tomado muestras cada cuatro semanas desde Marzo de 1992 a Mayo de 1993. La localización geográfica de las mismas es la siguiente (denominación, coordenadas-Long.O, Lat.N- y nota).

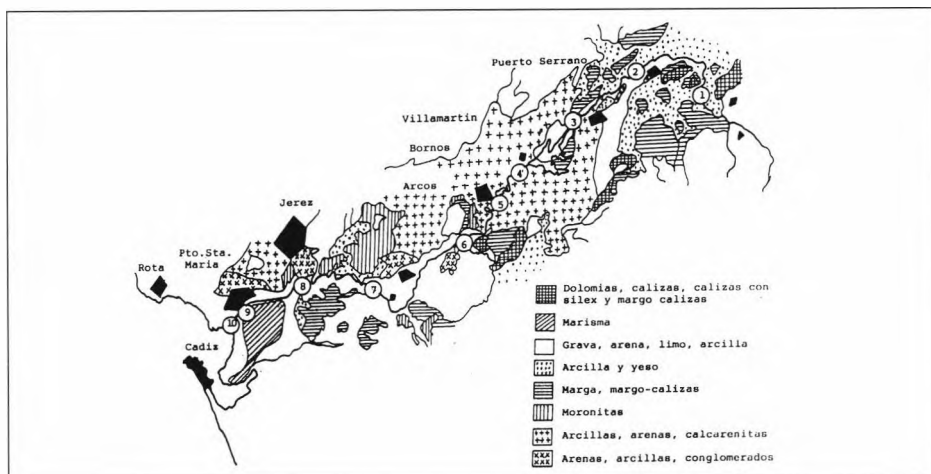


Figura 1.- Estaciones de muestreo (círculos numerados) a lo largo del río Guadalete y características petrográficas de la cuenca del mismo.

Estación nº1.-Zahara:  $5^{\circ} 26,4' - 36^{\circ} 52,8'$ . En el puente de La Nava punto de referencia para la calidad de las aguas del río.

Estación nº2.-Puerto Serrano:  $5^{\circ} 33,3' - 36^{\circ} 55,3'$ . Puente sobre el río próximo a Puerto Serrano, después de los vertidos de aguas residuales

Estación nº3.-Villamartín:  $5^{\circ} 40' - 36^{\circ} 51,1'$ . En la cola del embalse de Bornos y después de los vertidos de aguas residuales de las poblaciones de su entorno.

Estación nº4.-Bornos:  $5^{\circ} 45,7' - 36^{\circ} 47,4'$ . En la propia represa del embalse de Bornos (estación eléctrica)

Estación nº5.- Arcos:  $5^{\circ} 47,4' - 36^{\circ} 45,1'$ . En la caseta oficial de la Confederación del Guadalquivir del contraembalse de Arcos.

Estación nº6.-Junta:  $5^{\circ} 51' - 36^{\circ} 41,7'$ . En el antiguo puente sobre el río Guadalete después de unirse el río Majaceite. Se recogen aguas residuales urbanas, agrícolas e industriales.

Estación nº7.-La Ina:  $5^{\circ} 58,8' - 36^{\circ} 38'$ . En el puente próximo al Km 8 de la carretera 5021. Recibe aguas residuales (pequeñas poblaciones), agrícolas e industriales.

Estación nº8.-El Portal:  $6^{\circ} 7,6' - 35^{\circ} 37,8'$ . En el puente próximo a la estación de ferrocarril de El Portal. Recibe aguas residuales de Jerez y su zona de influencia.

Estación nº9.-Puerto de Santa María:  $6^{\circ} 12,5' - 36^{\circ} 36,3'$ . En el puente de San Alejandro. Antes de los vertidos de las aguas residuales urbanas.

Estación nº10.- Estuario:  $6^{\circ} 13,8' - 36^{\circ} 35,2'$ . En la desembocadura del río, junto al muelle industrial y después de los vertidos de las aguas residuales del Puerto de Santa María.

## METODOS ANALITICOS

La toma de muestras se ha efectuado de acuerdo a lo indicado por Catalán y Catalán (1987), Rodier (1990) y Standard Methods (1992).

Los métodos analíticos utilizados para la cuantificación de los parámetros físico-químicos fueron los siguientes. Gravimetría (materia suspendida, MS), volumetría (demanda química de oxígeno, DQO; materia orgánica fácilmente oxidable al permanganato, MOP; alcalinidad total, TAC; dureza, DUR; y nitrógeno orgánico Kjeldahl, NOK), electrodos selectivos (amonio, AMO; cloruro, CLO; nitrato, NAT y fluoruro, FLU), potenciometría (pH), conductimetría (conductividad, CON; salinidad, SAL), polarografía (oxígeno disuelto, OD), espectrofotometría (nitrito, NIT; fosfato, FOS; sulfato, SFO; y sulfuro, SUL)

## RESULTADOS Y DISCUSION

La Tabla 1 muestra los valores medios, mínimo y máximo de cada uno de los parámetros medidos en las diez estaciones. Sin embargo para los parámetros CON, CLO ,FLU, SFO y DUR solo se han considerado en los valores medios las ocho primeras estaciones ya

Tabla 1.- Valores mínimos, medios y máximos de los parámetros físico-químicos del Rio Guadalete

PARAMETRO	$X_{\min}$	$\bar{X}$	$X_{\max}$
Temperatura(°C)	7,30	17,60	28,50
pH	7,20	7,80	8,84
Conductividad(mS/cm)	0,74	1,58	2,58
O <sub>2</sub> disuelto(mg/l)	0,00	6,18	14,50
Materia suspendida(mg/l)	2,90	219,59	13101,00
Amonio(mg/l)	0,20	10,15	48,50
Cloruro(g/l)	0,02	0,28	0,66
Nitrato(mg/l)	2,80	28,09	138,30
Nitrito(µg/l)	0,00	202,78	915,00
Fosfato(µg/l)	0,00	582,03	9999,00
Sulfato(mg/l)	120,00	349,00	683,00
Sulfuro(mg/l)	0,00	34,29	1290,00
DQO(mg/l de O <sub>2</sub> )	5,40	248,22	3418,80
N Kjeldahl(mg/l de N)	0,00	3,17	13,20
Materia Orgánica(mg/l de O <sub>2</sub> )	2,70	110,94	580,00
Alcalinidad Total(mg/l de CaCO <sub>3</sub> )	93,60	192,07	492,40
Dureza(g/l de CaCO <sub>3</sub> )	0,24	0,56	0,78
Fluoruro(µg/l)	48,00	101,64	214,00

que las aguas de las dos últimas estaciones están influenciadas notablemente por agua de mar, debido a la cercanía de ambas estaciones al mar.

Del examen de estos datos puede concluirse que las aguas de este río están relativamente mineralizadas como consecuencia de la litología del cauce. Además, los relativamente altos valores de MS, AMO, FOS, SUL, NOK y MOP indican una notable contaminación (urbana e industrial) de este río. Así, la existencia de notables oscilaciones entre los valores mínimo y máximo de algunos de estos parámetros parece indicar que esta contaminación está parcialmente asociada a las estaciones del año. En este sentido debe notarse los altos valores máximos alcanzados por parámetros tales como MS, AMO, FOS, SUL y MO lo cual parece indicar que existen épocas, en algunas estaciones, en las cuales el impacto antropogénico es notable. Por otro lado, es de notar que algunos parámetros tales como OD, FOS, NIT, SUL y NOK tienen valores nulos. Esto parece indicar que en determinadas épocas se encuentra alguna estación eutrofizada (OD=0). Además, los valores nulos para los otros parámetros indica que en ciertas estaciones y épocas la contaminación existente en estos puntos es nula prácticamente.

En las figuras 2 y 3 se han representado la variación de los valores medio de los parámetros medidos en cada estación. Es de notar que se han representado en el eje de ordenadas la magnitud físico-química medida en unidades codificadas. De forma que el valor de cada parámetro en sus unidades usuales de medida se obtiene multiplicando el valor de la ordenada (h) por un factor que es distinto para cada parámetro tal como se indica en las figuras.

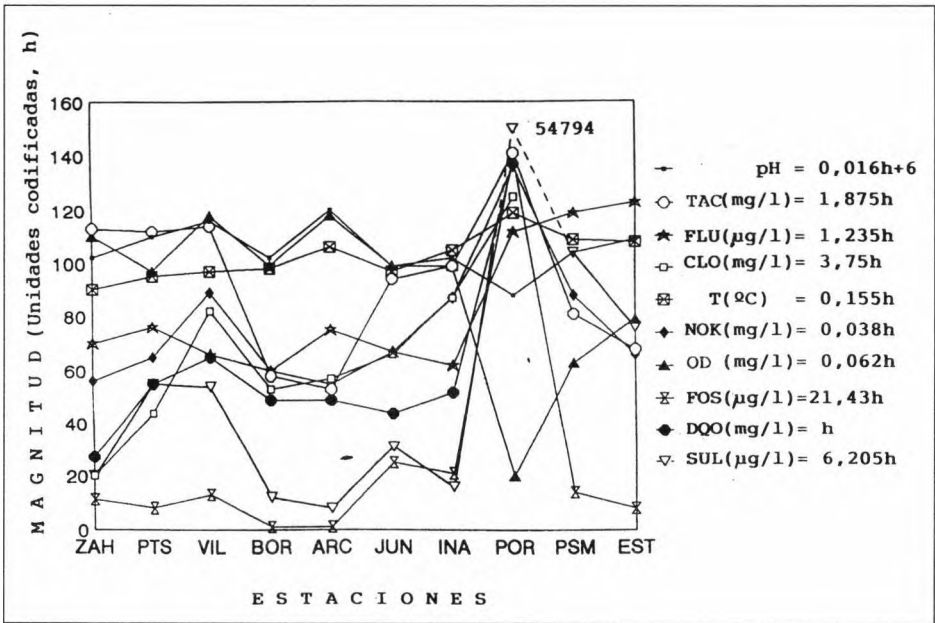


Figura 2.- Variación de los valores medios de los parámetros pH, TAC, FLU, CLO, T, NOK, OD, FOS, DQO y SUL, en cada estación

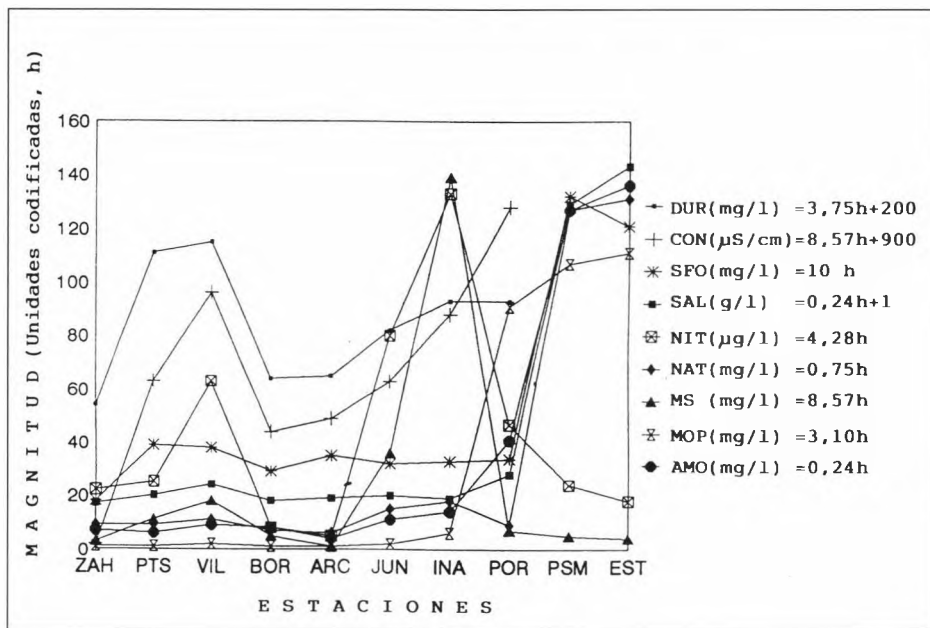


Figura 3.- Variación de los valores medios de los parámetros DUR, CON, SFO, SAL, NIT, NAT, MS, MOP y AMO, en cada estación.

Del examen de la variación obtenida para cada parámetro puede deducirse lo siguiente:

La temperatura muestra una tendencia creciente a lo largo del curso del río, como era de esperar, pues pasamos desde la sierra hasta la costa. Del mismo modo varían también las concentraciones de TAC, FLU, CLO, DUR, SFO y COND que demuestran tanto la mineralización del río como la influencia de las mareas en las últimas estaciones. La importante mineralización de estas aguas se debe fundamentalmente a calcio, carbonato y sulfato que son lixiviados por las aguas del río y de escorrentías del substrato de la cuenca. Esto es debido a la existencia de dolomías, calizas y margo calizas en la zona alta del río (estaciones de 1 a 3). Además, puede observarse como las estaciones 4 y 5 situadas después del pantano de Bornos muestran unos contenidos mínimos debido a la acción de “sumidero” que tiene éste para el exceso de iones disueltos. Después, la mineralización vuelve a incrementar por la existencia de terrenos con arcilla, yeso, dolomías, calizas, margo calizas entre las estaciones 5 y 6.

Los parámetros FOS, SUL, NOK y DQO muestran un súbito y anormal gran incremento y OD un mínimo valor (proximo a cero) en la estación 8 (El Portal). Los parámetros NIT y MS muestran valores muy altos en La Ina (estación 7). Además para todos estos parámetros se aprecia un leve incremento en Villamartin (estación 3). Por otro lado, los parámetros MO, NAT y AMO muestran una variación creciente conforme nos acercamos a la desembocadura. La secuencia de variación de todos estos parámetros demuestra la

VARIABLE

Temperatura

58 3 6 19 12 15 16 15 10 11 24 11 15 18 6 3 26

Oxígeno dis.

45 28 14 33 11 10 10 10 12 21 10 34 7 1 6 12

Fosfato

78 58 40 12 13 14 11 5 3 9 26 3 3 11 14

Sulfuro

38 13 7 7 7 7 0 5 2 18 1 6 2 6

Alcalinidad T.

19 36 35 37 34 31 27 30 12 17 6 33 0

pH

22 23 24 21 23 14 20 1 2 10 16 14

Conductividad

99 99 98 97 96 80 80 59 7 30 1

Dureza

99 98 97 96 81 79 57 6 28 3

Cloruro

98 97 96 80 80 56 7 30 0

Nitrato

97 95 77 81 57 3 25 0

Salinidad

94 85 82 57 8 31 3

Amonio

74 83 66 6 27 5

DQO

68 43 7 23 7

Mat. orgánica

45 12 23 10

Sulfato

7 19 15

Mat. suspendida

58 20

Nitrito

22

Nitrógeno Org.

VALOR EN EL CLUSTER	CORRELACION
0	0,000
5	0,060
10	0,100
15	0,150
20	0,200
25	0,250
30	0,300
35	0,350
40	0,400
45	0,450
50	0,500
55	0,550
60	0,600
65	0,650
70	0,700
75	0,750
80	0,800
85	0,850
90	0,900
95	0,950

Figura 4.- Análisis cluster de variables para todas las estaciones.



existencia de efluentes antropogénicos, de naturaleza urbana mayoritariamente, descargados en el curso alto del río y que muestra su máxima expresión en Villamartin (estación 3). Puede observarse como también las estaciones 7 y 8 muestran la existencia de descargas notables de aguas residuales domésticas y urbanas, así como también la probable descarga de cantidades importantes de efluentes industriales. Además, puede comprobarse como esta contaminación de naturaleza urbana y doméstica persiste hasta la desembocadura (estación 10).

Se ha realizado un análisis cluster de variables (BMDP 2M) de los datos obtenidos (Fig. 4) el cual correlaciona grandemente las variables T y OD; y CON, DUR, CLO, NAT, AMO, DQO, MOP y SFO. Todo ello representa tanto los contenidos naturales de los iones lixiviados por desgaste del material geológico como de cierto tipo de contaminación urbana y doméstica. FOS y SUL también están fuertemente correlacionados entre si indicando que existe una elevada actividad microbológica. Por último, MS y NIT están correlacionados indicando una alta contaminación, probablemente de naturaleza industrial.

Cuando este tipo de análisis estadístico se aplica a las ocho primeras estaciones al objeto de excluir la influencia de las aguas marinas, se obtiene los mismos "clusters" pero CON, CLO, DUR, AMO, FOS, SUL, MOP, TAC y SFO forman una asociación que está formada por tres CON, CLO y DUR; AMO, FOS, SUL y MPO y TAC y SFO. Por otro lado, MS, NIT y NAT forman un solo cluster. Lo que parece confirmar las suposiciones anteriormente expuestas sobre las asociaciones de parámetros.

Un análisis cluster efectuado para los casos (BMDP 1M), el cual une a los casos en una asociación mediante la mínima distancia euclidiana, da los siguientes resultados. Respecto a los periodos de toma de muestra las estaciones se pueden clasificar en cinco grupos. El primer grupo está formado por las estaciones 1 a 3; el segundo, por las estaciones 4 y 5; el tercero, por las estaciones 6 y 7; el cuarto, por la 8 y el quinto, por las estaciones 9 y 10. Respecto a los periodos de toma de muestra en cada estación, puede observarse que existe unico periodo de maxima similitud en las primeras estaciones (1 a 4) que es en invierno, excepto en Puerto Serrano que se presentan dos verano e invierno. A partir de Arcos hasta Estuario se presentan dos periodos similares que corresponden esencialmente a verano e invierno. Lo cual evidencia la división del río en diversos tramos relacionados tanto con su situación como con las estaciones del año.

El análisis de componentes principales con rotación Varimax (BMDP 4M) de los parámetros estudiados revela la existencia de cuatro factores que explican el 76,2% de la varianza total de la muestra. (Tabla 2)

Factor 1.-Representa el 40,17% de la varianza, asociando las siguientes variables: CON, DUR, CLO, NAT, AMO, DQO, SFO y MOP. Todas estas variables están directamente relacionadas con el mismo. Globalmente este parámetro representa el grado de mineralización del agua, así como la degradación de la contaminación orgánica vertida en las aguas del río.

La Figura 5 refleja la distribución de las muestras frente a los factores 1 y 2 y en ella pueden distinguirse dos grupos. El primer grupo incluye a todas las muestras de las estacio-

Tabla 2.- Correlaciones de las variables fisico-químicas con los factores del análisis de componentes principales

Parámetros	F1(52,71%)	F2(19,40%)	F3(15,41%)	F4(13,38%)
Conductividad	0,981	0,000	0,000	0,000
Dureza	0,979	0,000	0,000	0,000
Cloruro	0,977	0,000	0,000	0,000
Nitrato	0,976	0,000	0,000	0,000
Amonio	0,974	0,000	0,000	0,000
Materia Orgánica	0,864	0,000	0,000	0,000
DQO	0,831	0,000	0,000	0,000
Sulfato	0,630	0,000	0,000	0,000
Fosfato	0,000	0,924	0,254	0,000
Sulfuro	0,000	0,830	0,000	0,000
Alcalinidad	-0,282	0,738	0,000	0,000
Temperatura	0,000	0,000	0,855	0,000
Oxígeno disuelto	0,000	-0,320	-0,798	0,000
Materia suspendida	0,000	0,000	0,000	0,848
Nitrito	0,000	0,000	0,000	0,845
Nitrógeno Kjeldhal	0,000	0,000	0,388	0,468
pH	0,000	-0,328	-0,474	0,000
VP	6,829	2,514	1,880	1,733

\* Los valores menores de 0,250 son considerados como 0

nes 9 y 10 situadas en la parte positiva del eje de abscisa. Mientras que el otro grupo corresponde a todas las demás muestras de las otras ocho estaciones que se encuentran situadas en la parte negativa del eje X y representan la menor salinidad de estas muestras. Esta distribución muestra claramente el efecto del agua de mar así como también la presencia de importantes cantidades de sustancias contaminantes y productos de degradación de las mismas.

Factor 2.-Este factor explica el 14,78% de la varianza total agrupando las siguientes variables: FOS, SUL y TAC todas ellas correlacionadas positivamente con el factor. Oxígeno disuelto y pH están también correlacionadas con este factor pero negativamente. Este factor representa la presencia de microorganismos reductores en el ecosistema fluvial como consecuencia de los aportes de nutrientes descargados en el río y la relativamente pequeña velocidad de las aguas en determinadas zonas del río.

La distribución de las muestras frente a este factor se representa en la Figura 5. De la posición de las mismas en la figura puede concluirse que estas representan una situación especial en la estación 8 (El Portal) y responden a una clara influencia de las descargas de nutrientes en el río. Otro grupo incluye fundamentalmente a las muestras de las estaciones

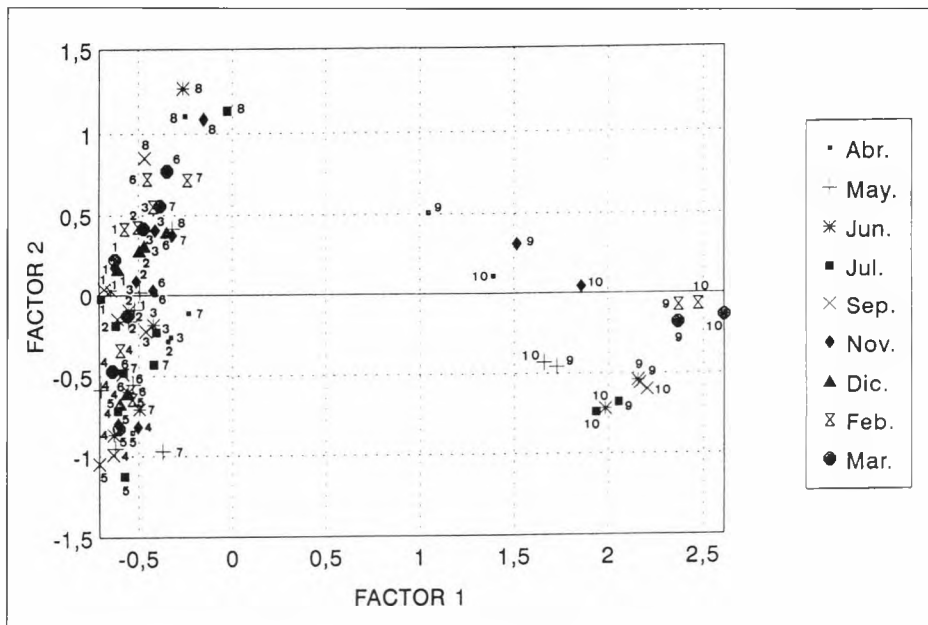


Figura 5.- Distribución de las muestras frente a los factores 1 y 2.

4 y 5 situadas en la parte negativa del eje Y. Representan las zonas que están menos afectadas por la presencia de microorganismos como consecuencia de una menor tasa de contaminación orgánica en las aguas de esta zona.

Factor 3.- Este representa el 11,74% de la varianza total. Agrupa las siguientes variables: Temperatura, fosfato, nitrógeno orgánico, oxígeno disuelto y pH, estando las tres primeras variables correlacionadas positivamente y las otras negativamente. Representa este parámetro una contaminación orgánica de naturaleza fundamentalmente industrial.

En la Figura 6 se han representado la posición de las muestras frente a los factores tres y cuatro. La distribución de estos puntos puede reunirse en dos grupos diferentes. Un primer grupo está representado por las muestras correspondientes a las estaciones 7 y 8 durante el periodo de primavera-verano que responde a una influencia de las aguas de elevada contaminación orgánica de tipo estacional, probablemente relacionado con efluentes industriales. Un segundo grupo formado por las muestras correspondientes a invierno que fundamentalmente recoge a casi todas las estaciones.

Factor 4.- Este factor explica el 10,20% de la varianza total. Agrupa a las variables materia suspendida, nitrito y nitrógeno orgánico, todas correlacionadas positivamente con el factor. Este representa la contaminación sólida de origen urbana e industrial y relacionada también con el caudal del río. En este sentido puede observarse como muestras correspondientes a

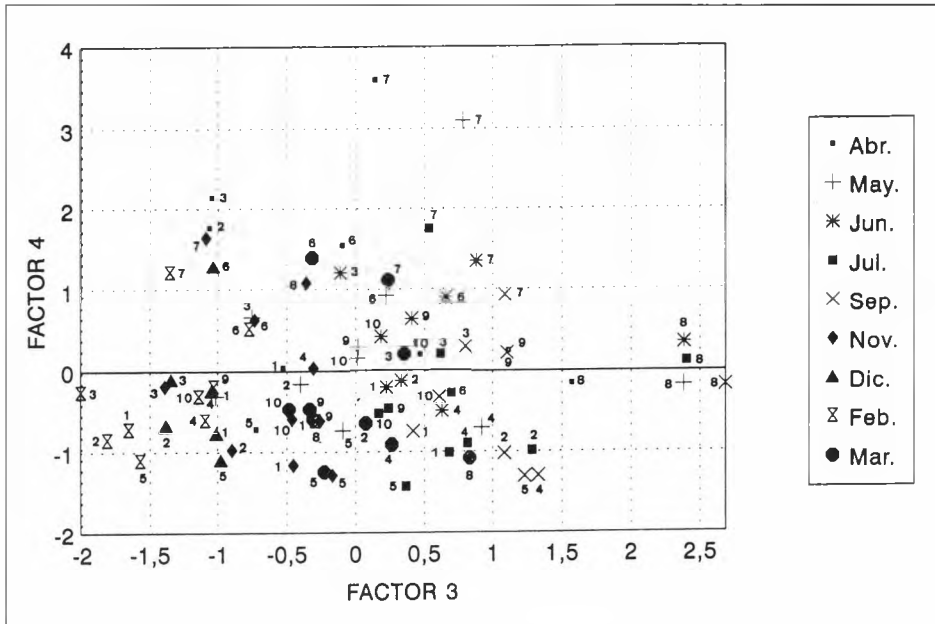


Figura 6.- Distribución de las muestras frente a los factores 3 y 4.

las estaciones 6 y 7 están situadas en la parte positiva del eje Y, correspondiendo en épocas de primavera y verano.

En resumen podemos considerar que este río se puede dividir globalmente en cuatro zonas.

1. La primera abarca desde la Sierra hasta Villamartin. En esta zona el río muestra una pequeña contaminación creciente de tipo fundamentalmente orgánico y de tipología urbana principalmente. La mineralización del río es creciente, lixiviando importantes cantidades de cloruro, sulfato, carbonato y calcio.

2. La zona comprendida entre los pantanos de Bornos y de Arcos, y que al englobar estos reservorios de agua actúan como sumideros de la mayor parte de los iones solubilizados y como sistemas depuradores de las aguas del río.

3. La zona comprendida entre La Ina y El Portal, en la que vuelve a ser notable y creciente la mineralización producida. Se deduce que es una zona típicamente contaminada principalmente por efluentes urbanos e industriales, siendo estas descargas dependientes en alto grado de la época del año. Además, se observa como la estación correspondiente a El Portal es una zona con un alto grado de contaminación como consecuencia no solo de los efluentes orgánicos industriales descargados en primavera-verano sino también de la escasa velocidad de las aguas en esta estación.

4. La zona final del río, correspondiente al Puerto de Santa María en la que se observa la influencia de la mezcla de aguas del río y del mar y puede detectarse una elevada con-

taminación de naturaleza fundamentalmente urbana paliada por el efecto depurador propiciado por la dilución y efecto salino de la mezcla de aguas.

AGRADECIMIENTO.- Este trabajo ha sido subvencionado por la CICYT del MEC (NAT91-1435)

## BIBLIOGRAFIA

- Catalan Lafuente J. y Catalan Alonso, J.M. 1987. Rios:caracterización y calidad de sus aguas. Ed.Dihidrox. Madrid
- Căpblanq, J and Tourenq,J.N. 1978. Hydrochimie de la rivière Lot. *Annls. Limnol.*, 14:25-37.
- Davis,E.A. 1987. Chaparral conversion and streamflow: nitrate increase is balanced mainly by a decreased in bicarbonats. *Wat. Resour.Res.*, 23:215-224
- Elosegui,A., and Pozo,J. 1992. Physico-chemical characteristics of the Agüera River (Spain) during an unusual hidrollogically period.*Annls limnol.*, 28:85-96
- Margaler,R. 1983. Limnología. Ediciones Omega S.A. Barcelona
- Reynolds,B., Horming M. and Hugues S. 1989. Chemistry of streams deaining from land and forest catchments at Plynimom, mid-Wales. *Hydrological Series-Journal des Sciences Hydrologiques*, 34:667-686
- Rochelle,B.P., Liff,C.I. Campbell,W.G., Cassell,D.L., Church,M.R and Nusz R.A.,1989. Regional relationships between geomorphic/hydrologic parameters and surface water chemistry relative to acidic deposition. *J.Hydrol.*, 112:103-120
- Rodier J. 1990. Analisis de aguas: aguas naturales, aguas residuales, aguas de mar. Ed.Omega, S.A. Barcelona
- Sabater,F., Sabater,S. y Armengol J.1990, Chemical characteristics of a Mediterranean river as influenced by land uses in the watershed.*Wat.Res.*, 24:143-155
- Schuum,S.A. 1988. Vriability of the fluvial system in space and time. Su: Rosswall T., Woodwansee R.G, and Rissei P.G. Scales and global change. John Wiley and Sons.New York, 225-250
- Sola,A., Longas,J.F., Guinea,A., López-Santoreña,F, 1990a. Estudio hidroquimico del Rio Henares (Cuenca del Tajo).I.Variaciones espacio-temporales de las variables fisico-químicas desde su nacimiento hasta Guadalajara. *Tecnología del agua*. 2:9-21
- Sola,A., Longas,J.F.,Guinea,A., Lopez-Santoreña,F.1990b. Estudio hidroquimico del Rio Henares (Cuenca del Tajo).II.Evolución longitudinal y análisis factorial de los parámetros fisico-químicos en el tramo Guadalajara-Alcalá de Henares.*Tecnología del agua*.74:41-47
- Standard Methods. 1992. Metodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. Ed. Diaz de Santos,S.A. Madrid.

# INFLUENCIA DEL ALQUILBENCENO SULFONATO LINEAL SOBRE ALGUNAS ACTIVIDADES ENZIMATICAS EN LA ALMEJA *Ruditapes philippinarum*

J. Blasco<sup>1</sup>, M. C. Sarasquete<sup>1</sup>, E. González-Mazo<sup>2</sup>, A. Gómez-Parra<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dpto. Oceanografía. Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (C.S.I.C.). Campus Univ. Río S. Pedro. 11510 Puerto Real (Cádiz). Spain.

<sup>2</sup>Dpto. Química-Física. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad de Cádiz. Campus Univ. Río S. Pedro. 11510 Puerto Real (Cádiz). Spain

## RESUMEN

El alquilbenceno sulfonato lineal (LAS) es el tensioactivo de carácter aniónico que se emplea en mayor proporción en la formulación de detergentes comerciales. Debido a su uso generalizado se ha producido un incremento en los vertidos de éste en las zonas litorales, especialmente en aquellos lugares donde éstos se efectúan sin un proceso de depuración previa. En algunos casos las concentraciones de LAS pueden llegar a alcanzar valores que son tóxicos para la biota. Con el fin de analizar el posible efecto adverso que esta sustancia puede tener sobre los organismos marinos, se analizó en un ensayo de toxicidad aguda (48 horas a 500 µg.L<sup>-1</sup>) la influencia que este compuesto ejercía sobre la actividad de 19 enzimas en homogeneizados de glándula digestiva y de branquias en la especie *Ruditapes philippinarum*. De manera complementaria también se llevó a cabo el estudio histológico e histoenzimológico de las alteraciones producidas por la exposición a LAS.

## SUMMARY

Linear alkylbenzene sulfonate (LAS) is the main anionic surfactant used in laundry detergent formulation worldwide. Thus, its use has been generalized, an increase of its level

in littoral ecosystems has been observed, specially when wastewater treatment are not carried out. In some cases, LAS concentrations reach high enough to be toxic for organisms, particularly in coastal areas. With the objective to analyze the adverse effects of this substance on marine organisms, an acute and sublethal toxicity (48 hours, 500  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) was carried out on *Ruditapes philippinarum*. The effect of this compound was analyzed on nineteen enzymes in digestive gland and gill homogenized. Also, histological and histoenzymological alterations was reported.

## INTRODUCCION

Los tensioactivos, son compuestos orgánicos sintéticos que se emplean en grandes cantidades en la formulación de los detergentes para uso doméstico e industrial. Este tipo de compuestos representan entre el 10-18% de los productos empleados, que pueden llegar a ser hasta 20 ó 25, en los detergentes domésticos. Aunque existen un número considerable de tensioactivos, el lineal alquilbenceno sulfonato (LAS) es el que se emplea en mayor proporción. Este compuesto experimenta una rápida degradación en agua dulce. No obstante, su biodegradación a  $S=35$  y temperatura ambiente es más lenta. Así Dalla Venezia et al., (1980) no observaron degradación significativa en un período de 48 horas. Por esta razón las concentraciones que se pueden hallar en aguas costeras pueden ser lo suficientemente elevadas para que puedan ejercer un efecto tóxico sobre la biota. González-Mazo et al., (1994) registran concentraciones para el LAS de hasta 2500  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  en un ecosistema próximo a la bahía de Cádiz.

Aunque la bibliografía que existe sobre los efectos tóxicos de los tensioactivos es abundante para organismos de agua dulce, en el caso de organismos que viven el medio marino ésta es bastante más escasa (Bressan et al., 1989; Lewis, 1991; Marin et al., 1991).

El empleo de cambios en respuestas fisiológicas y bioquímicas es una herramienta adecuada para medir los efectos subletales de los compuestos xenobióticos sobre los organismos. Da Ros et al., (1995) han empleado la medida de enzimas antioxidantes para evaluar el efecto tóxico del LAS en *Mytilus edulis*, y Marin et al., (1994) en *Mytilus galloprovincialis* han empleado variables fisiológicas: filtración, consumo de oxígeno y excreción de amonio para determinar el efecto del LAS adsorbido sobre los sedimentos.

El objetivo que nos propusimos en este trabajo fue analizar el efecto que el LAS, a una concentración elevada, pero real, ya que esos valores se pueden registrar en ecosistemas costeros, en los que se efectúa el vertido de sus aguas sin depuración previa, podían ejercer sobre el molusco bivalvo *Ruditapes philippinarum*. Para ello se determinó el efecto que este compuesto ejercía sobre la actividad de 19 enzimas. Asimismo se analizaron los efectos histológicos e histoenzimológicos. También se presentan los resultados del efecto conjunto de LAS y Cd sobre la actividad fosfatásica ácida (AcP).

## MATERIAL Y MÉTODOS

Los ejemplares de *Ruditapes philippinarum* procedían de instalaciones de cultivos marinos de la bahía de Cádiz. Los ejemplares una vez trasladados al laboratorio se aclima-

taron durante al menos cinco días antes del comienzo de los ensayos. Los organismos eran mantenidos en inanición durante el período de aclimatación y ensayo.

Los organismos fueron expuestos durante 48 horas a cuatro tratamientos diferentes (control; LAS 500  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ; Cd 200  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ; LAS+Cd 500+200  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) por triplicado. La temperatura del ensayo fue de  $16\pm 1^\circ\text{C}$  y  $S=33$ . La concentración de LAS y Cd en los acuarios se mantenía constante durante la realización de los ensayos.

Al finalizar el período de ensayo se comprobó que la mortandad había sido nula y se procedió a efectuar la disección de las branquias y glándula digestiva. Estos tejidos se homogeneizaron con un Ultraturrax a 20.000 rpm durante 2 minutos ( 4 intervalos de 30 s) en tampón 100 mM Tris-HCl pH 7.5, 2 mM DTT y 0.5 mM PMSE. Los homogeneizados se centrifugaban a 27.000 g y el sobrenadante se empleaba como fuente del enzima.

El análisis semicuantitativo de la actividades enzimáticas se llevó a cabo mediante el sistema APIZYM. Se trata de una placa con 20 cubetas que contienen un sustrato específico adsorbido sobre un soporte de fibras sintéticas y químicamente inertes. La actividad del enzima se determina en función de la liberación de  $\beta$ -naftol o  $\beta$ -naftilamida en cantidades proporcionales a la actividad del enzima presente en la muestra. Las placas se incubaron durante 3 horas a  $37^\circ\text{C}$ . Al final del período de incubación la actividad del enzima se valora en función de la intensidad y su comparación con una escala de colores. Las enzimas estudiadas, el sustrato empleado y el pH a los que se llevó a cabo la medida de la actividad de recogen en la Tabla I.

En el caso de la actividad fosfatasa ácida (AcP) y alcalina (ALP) se determinó el efecto *in vitro* (0 - 100  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) e *in vivo* del LAS. La metodología empleada ha sido similar , con ligeras modificaciones, a la de Blasco et al., (1993). Para el análisis del efecto *in vitro* el homogeneizado se incubaba durante 5 minutos con LAS, previamente a la adición del sustrato. Las muestras se incubaron a  $30^\circ\text{C}$  durante 30 minutos. La reacción se paró por adición de NaOH 0.1 N. La actividad se expresó en  $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$  ( $1\text{U}= 1 \mu\text{mol p-nitrofenol liberado}\cdot\text{min}^{-1}$ )

Para el análisis histomorfológico las muestras de glándula digestiva y branquias fueron fijadas con formaldehído en tampón fosfato 0.1 M, pH 7.2. A continuación se incluyen en parafina y se tiñen con Hematoxilina-eosina y Hematoxilina-V.O.F. En el caso del estudio histoenzimológico las muestras fueron procesadas directamente sin fijar, en el criostato. Los análisis de las enzimas fosfatasa ácida y alcalina se llevaron a cabo según la metodología descrita por González de Canales et al., (1990) y Blasco et al., (1993).

El análisis estadístico de los resultados se llevó a cabo mediante un ANOVA, y el test de comparación múltiple de Tukey-Kramer.

## RESULTADOS Y DISCUSION

En la Fig. 1a y 1b se muestran los resultados para la actividad de las enzimas analizados en branquias y glándula digestiva de los ejemplares control y los tratados con LAS. En la glándula digestiva (Fig. 1a) se aprecia un descenso de la actividad Cys-aminopeptidasa,



**Tabla I**

Enzimas, sustratos y pH en los que se han llevado a cabo las determinaciones sobre el efecto *in vivo* del LAS (500  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , 48 horas).

ENZIMA	SUSTRATO	pH
Fosfatasa alcalina	2-naftil fosfato	6.5
Esterasa	2-naftil butirato	7.5
Esterasa lipasa	2-naftil caprilato	7.5
Lipasa	2-naftil miristato	7.5
Leu Aminopeptidasa	L-leucil-2-naftilamida	7.5
Val Aminopeptidasa	L-valil-2-naftilamida	7.5
Cys Aminopeptidasa	L-cystil-2-naftilamida	8.5
Tripsina	N-benzoil-DL-Arg-naftil	7.5
$\alpha$ -Quimiotripsina	N-glutaril-Phe-2-naftil	5.4
Fosfatasa ácida	2-naftil fosfato	5.4
Naftol-AS-BI-fosfohidrol	Naftil-AS-BI-fosfato	5.4
$\alpha$ -galactosidasa	6-Br-2-naftil- $\alpha$ D-galactop	5.4
$\beta$ -galactosidasa	2-naftil- $\beta$ D-galactop.	5.4
$\beta$ -glucuronidasa	Naftol-AS-BI- $\beta$ D-glucurón	5.4
$\alpha$ -glucosidasa	2-naftil- $\alpha$ D-glucopiranos.	5.4
$\beta$ -glucosidasa	6-Br-2-naftil- $\beta$ D-glucopir	5.4
N-acetil- $\beta$ -glucosaminid.	1-naftil-N-acetil- $\beta$ D-gluc.	5.4
$\alpha$ -manosidasa	6-Br-2-naftil- $\alpha$ D-manopir	5.4
$\alpha$ -fucosidasa	2-naftil- $\alpha$ L-fucopiranosido	8.5

fosfatasa ácida,  $\alpha$ -glucosidasa y un aumento de la actividad fucosidasa. En las branquias (Fig. 1b) se observa una disminución de las actividades Cys-aminopeptidasa,  $\alpha$ -galactosidasa,  $\beta$ -glucuronidasa y fucosidasa en los ejemplares expuestos a LAS.

En la Fig. 2 se muestra el efecto *in vivo* del LAS, Cd y de la mezcla de ambos compuestos sobre la actividad de las enzimas AcP y ALP. En el caso de la AcP se observa una tendencia a disminuir la actividad en los ejemplares tratados con Cd y LAS con respecto al control. No obstante el análisis estadístico de los resultados no permitió confirmar que estas diferencias fueran significativas para  $P < 0.05$ .

Con respecto al efecto *in vitro* del LAS en branquias y glándula digestiva (Fig. 3a y 3b) se observa que la tendencia es similar en ambos órganos y que a una concentración de 20  $\text{mg.L}^{-1}$  la actividad es inhibida en un 50% y a 50  $\text{mg.L}^{-1}$  la actividad es sólo el 10% del control. Resultados similares han sido hallados por Gupta et al., (1989) al analizar el efec-

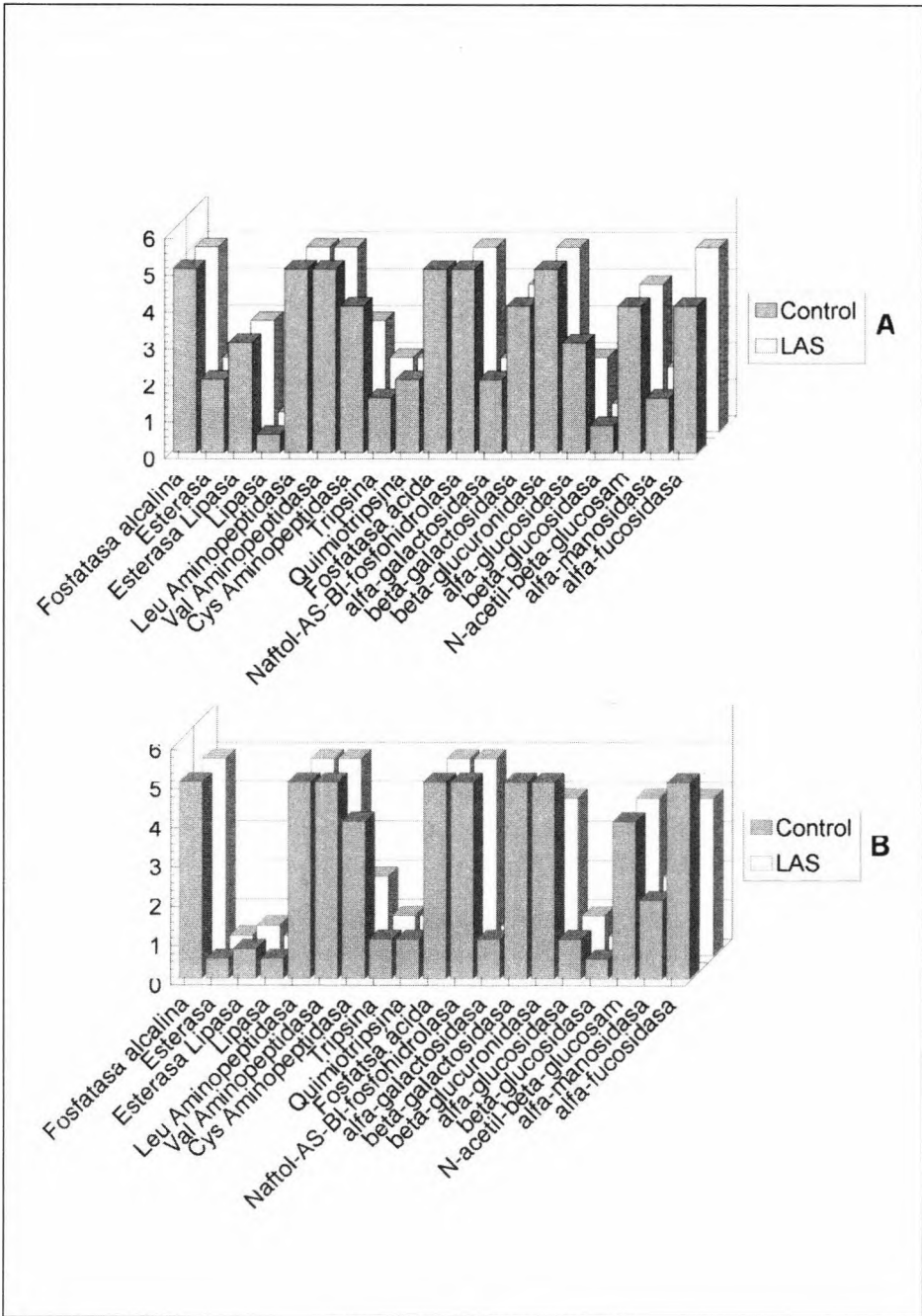


Figura 1. Efecto del LAS sobre la actividad de las enzimas analizadas en glándula digestiva (A) y branquias (B) de *Ruditapes philippinarum*.

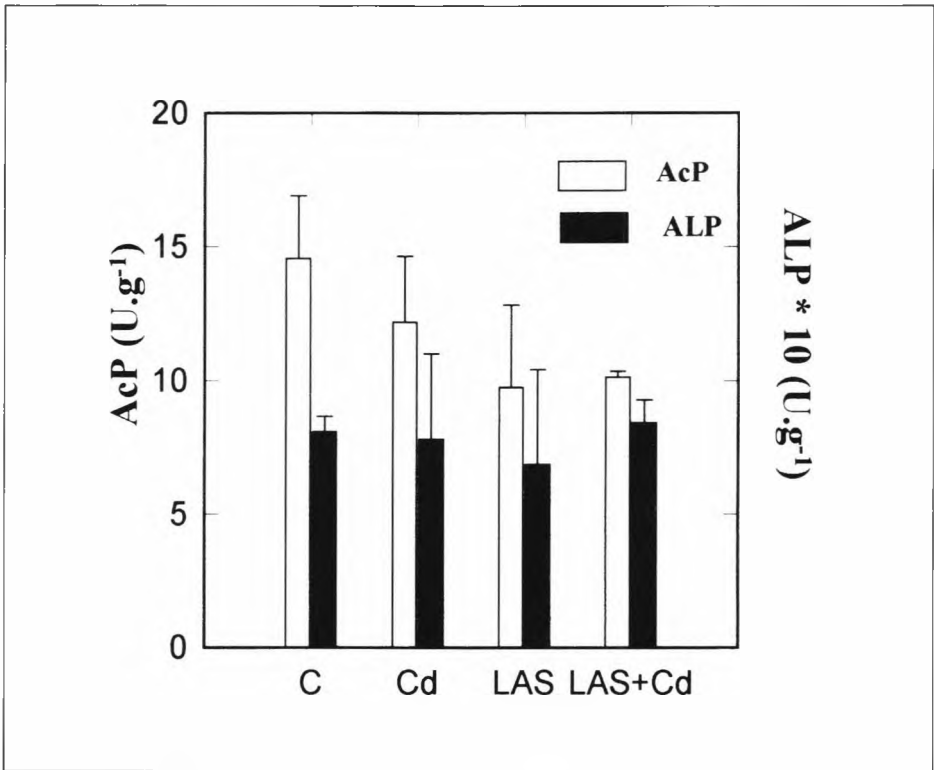


Figura 2. Actividad fosfatásica ácida (AcP) y alcalina (ALP) en glándula digestiva de *Ruditapes philippinarum* control y sometidas a tres tratamientos (Cd 200  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ; LAS 500  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ; LAS+Cd 500  $\mu\text{g.L}^{-1}$ +200  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ).

to del LAS sobre el hígado y branquias del teleosteo *Channa punctatus*. La inhibición de la actividad de los enzimas por el LAS se encuentra asociada a su capacidad de reaccionar directamente con las proteínas. La inhibición de enzimas enlazadas a membranas (ALP) indica que este compuesto puede ejercer incluso a concentraciones mas bajas un daño sobre la estructuras celulares, mediante la alteración de la estructura de la bicapa lipídica y modificando también la actividad de los enzimas. Los datos obtenidos también parecen indicar que este compuesto puede modificar la actividad lisosomal debido a la inhibición de la AcP (Gupta y Dhillon, 1983).

El LAS a la concentración ensayada provocó ligeras alteraciones histopatológicas en branquias y todavía en menor medida en la glándula digestiva. No se apreciaron, asimismo, diferencias morfológicas evidentes cuando se examinó el efecto combinado de LAS y Cd. Los resultados se muestran en las Figs. 4 y 5.

En las branquias se observó descamación del epitelio branquial y signos de reacción inflamatoria con abundante acúmulo de hemocitos, fundamentalmente, granulares, indicativos de una respuesta del organismo a los efectos irritantes del LAS. En algunos ejem-

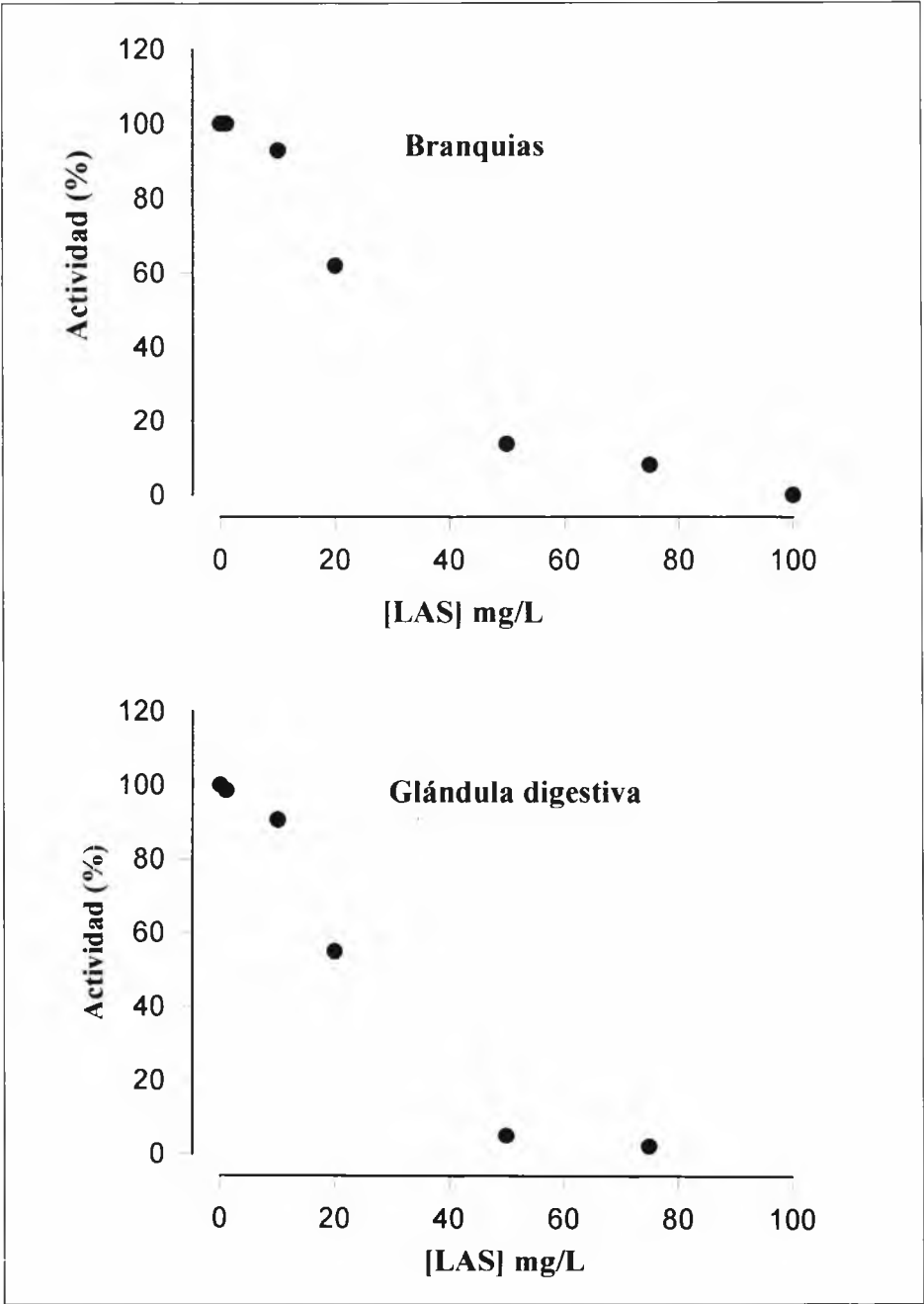


Figura 3. Efecto *in vitro* del LAS sobre la actividad fosfatásica ácida (AcP) en branquias y glándula digestiva de *Ruditapes philippinarum*.

plares se llegó a observar necrosis y destrucción de laminillas (Fig. 4A y 4B), en estos casos sólo quedó el esqueleto branquial.

En glándula digestiva se observó una cierta desorganización en el epitelio de los divertículos y tubulos digestivos e hiperplasia en el epitelio del intestino medio (Fig. 5D). La disminución de los hemocitos granulares parece indicar más que un estado de anemia una migración de las células a los tejidos dañados para su restauración.

La localización de las enzimas fosfatasa ácida (AcP) y alcalina (ALP) ya ha sido realizada por Blasco et al., (1993) y González de Canales y Sarasquete (1990) en esta especie. Los efectos del LAS sobre ambas actividades enzimáticas son más evidentes en las branquias que en la glándula digestiva, especialmente en el caso de la ALP. En branquias la disminución de la actividad se aprecia en el soporte branquial y en el epitelio ciliado, persistiendo la actividad en las varillas quitinosas (Fig. 5F). En la glándula digestiva, ambas enzimas se localizan en menor proporción en los túbulos y divertículos de los ejemplares tratados que en los control.

La inhibición de las actividades enzimáticas y los daños histológicos observados parece indicar que el LAS actúa como un tóxico celular de carácter general, que provoca el estrés del organismo; las respuestas que se observan corresponden a mecanismos de defensa, más que a la actuación de este compuesto como un inhibidor específico.

## BIBLIOGRAFIA

- Blasco, J., Puppo, J., Sarasquete, M. C. (1993). Acid and alkaline phosphatase activities in the clam *Ruditapes philippinarum*. *Mar. Biol.*, 115: 113-118.
- Bressan, M., Brunetti, R., Casellato, S., Fava, G. C., Giro, P., Marin, M., Negrisolo, P., Tallandini, L., Thomann, S., Tosoni, L., Turchetto, M. (1989). Effects of Linear Alkylbenzene Sulfonate (LAS) on benthic organisms. *Tenside Surfactants Detergents*, 26(2): 148-158
- Da Ros, L., Nasci, C., Campesan, G., Sartorello, P., Stocco, G., Menetto, A. (1995). Effects of Linear Alkylbenzene Sulphonate (LAS) and cadmium in the digestive gland of mussel *Mytilus edulis* sp. *Mar. Environ. Res.*, 39: 321-324.
- Dalla Venezia, L., Fossato, V.U., Scarfi, S. (1980). Combined effects of dodecyl benzene sulfonate and low salinities on *Tisbe bulbisetosa* (Copepoda: Harpacticoida). *Prog. Wat. Technol.* 12, 109-117.
- González de Canales, M.L., Sarasquete, M. C. (1990). Enzimas hidrolíticas en el aparato digestivo de las almejas *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758) y *Ruditapes philippinarum* (Adams y Reeve, 1850) (Pelecípoda: Veneridae). *Scient. Mar.*, 54:89-93.
- González-Mazo, E. (1994). Comportamiento del alquilbenceno lineal sulfonato (LAS) en sistemas litorales del Golfo de Cádiz. Tesis Doctoral. Universidad de Cádiz, 263 p.
- Gupta, A. K., Dhillon S. S. (1983). The effects of a few xenobiotics of certain phosphatases in the plasma of *Clarias batrachus* and *Cirrhinia mrigala*. *Toxicol. Lett.*, 15: 181-186.

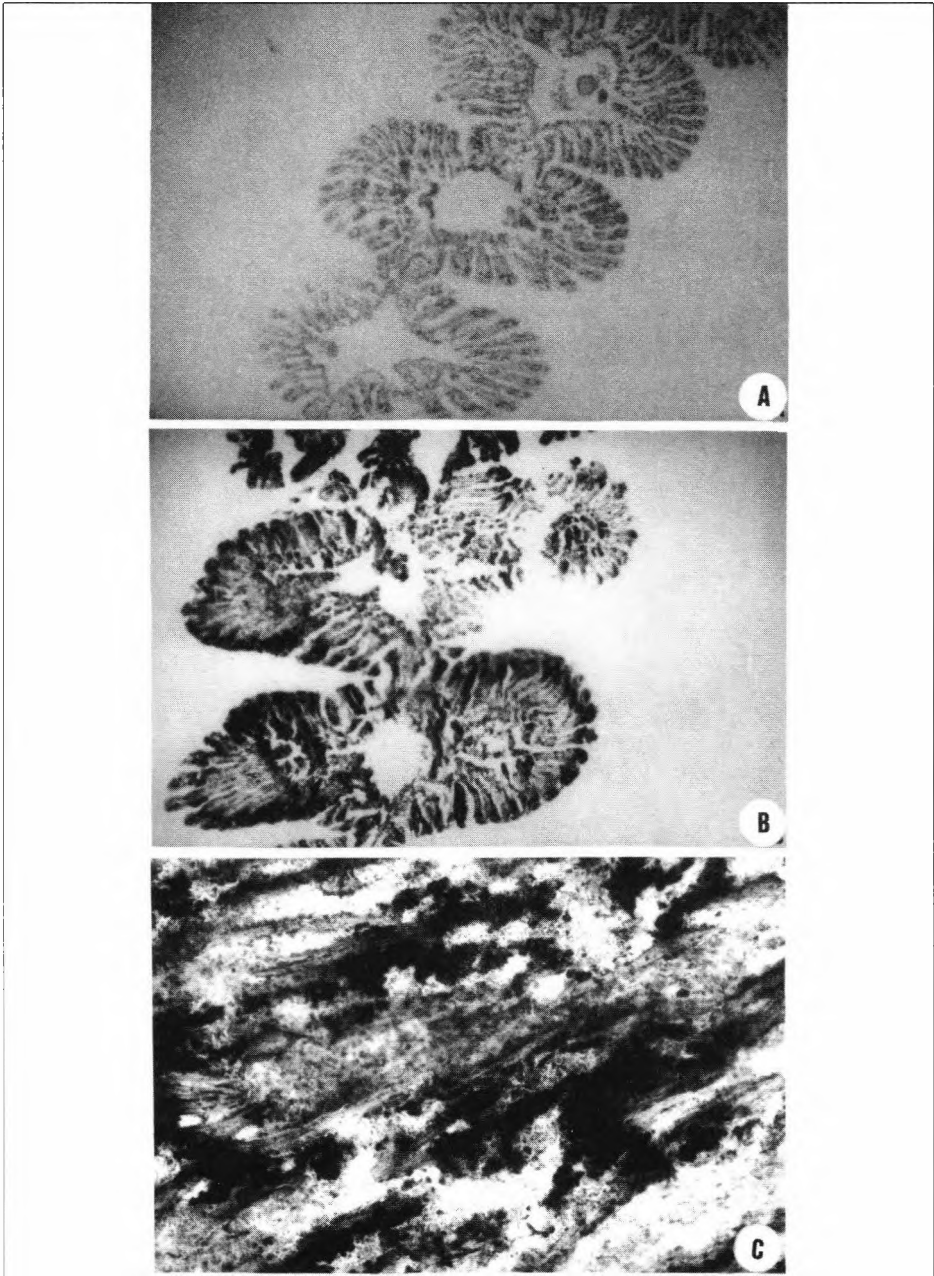
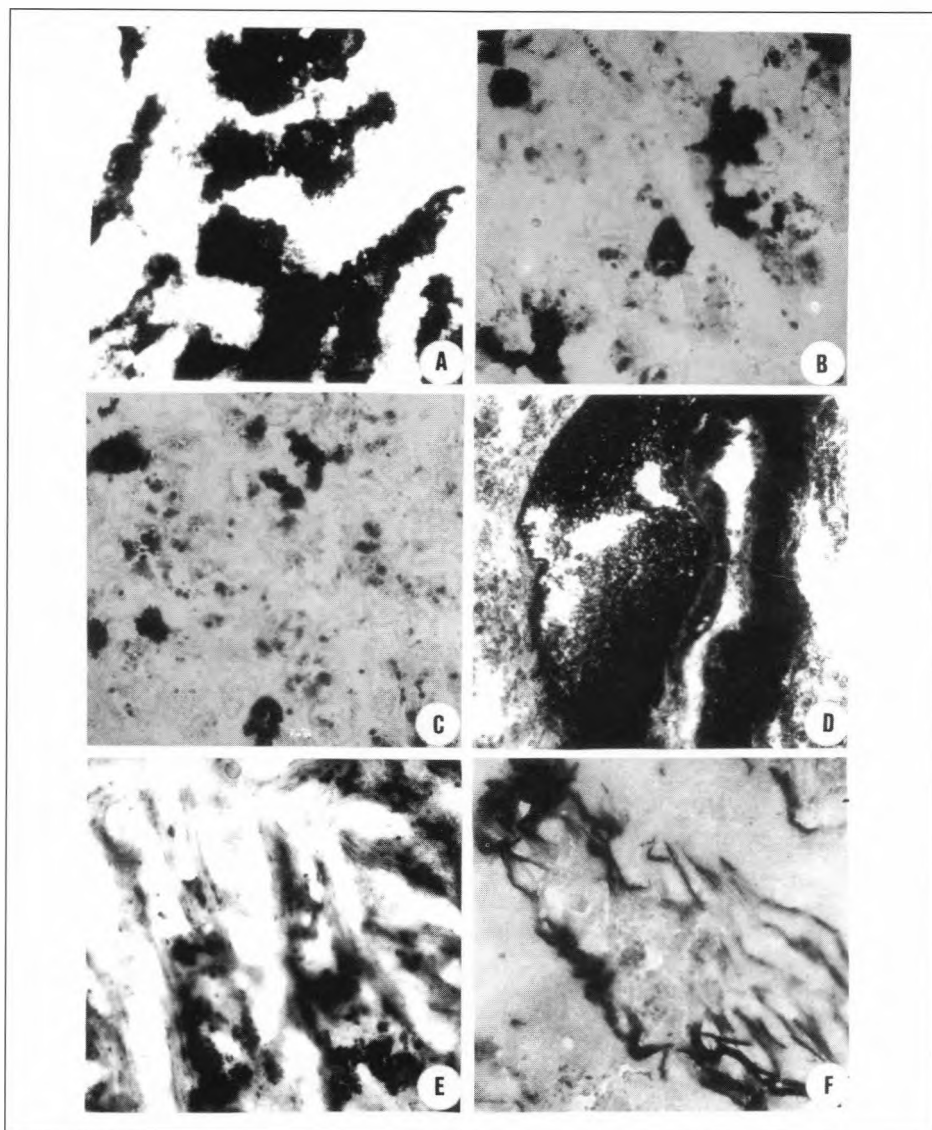


Figura 4. Corte histológico de branquias en ejemplares control de *R. philippinarum* (A). Necrosis y destrucción de laminillas branquiales por efecto del LAS (B); Hematoxilina-V.O.F. Distribución de la actividad fosfatásica ácida en disposición granular en branquias (C).



**Figura 5.** Actividad fosfatásica ácida en la glándula digestiva de ejemplares control, en donde se observa fuerte intensidad en el epitelio de los divertículos y túbulos (A). Actividad fosfatásica en glándula digestiva de almejas tratadas con LAS. La actividad se localiza en un número menor de túbulos con respecto al control (B). Disminución de la actividad fosfatásica ácida en la glándula digestiva de almejas tratadas con LAS y Cd. Se observa positividad en los hemocitos granulares (C). Hiperplasia del epitelio intestinal y actividad fosfatásica alcalina en ejemplares tratados con LAS (D). Ligera disminución de la actividad fosfatásica ácida en las branquias de ejemplares tratados con LAS en comparación con el control (E). Persistencia de la actividad enzimática en el esqueleto branquial de almejas tratadas con LAS (F).

- Gupta, B. N., Mathur, A. K., Agarwal, C., Singh, A. (1989). *In vitro* effect of linear alkylbenzene sulphonate (LAS) on some enzymes in liver and gills of the Teleost *Channa punctatus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 42: 375-381.
- Lewis, M. A. (1991). Chronic and sublethal toxicities of surfactants to aquatic animals: A review and risk assessment. *Wat. Res.*, 25(1): 101-113.
- Marin, M. G., Bressan, M., Brunetti, R. (1991). Effects of linear alkylbenzene sulphonate (LAS) on two marine benthic organisms. *Aquatic Toxicology*, 19: 241-248.
- Marin, M. G., Pivotti, L., Campesan G., Turchetto, M., Tallandini, L. (1994). Effects and fate of sediment-sorbed linear alkylbenzene sulphonate (LAS) on the bivalve mollusc *Mytilus galloprovincialis* Lmk. *Wat. Res.*, 28(1): 85-90.





## CONDICIONES FISICOQUÍMICAS DURANTE UN CICLO ANUAL EN LA PLATAFORMA CONTINENTAL DE A CORUÑA.

*M. Canle L., R. Carballo, N. González.*

*Instituto Español de Oceanografía. Centro Costero da Coruña.*

*Peirao das ánimas, s/n. Apartado 130. E-15080 A Coruña. ESPAÑA.*

**Palabras clave:** dinámica oceanográfica, nutrientes, afloramiento, ACNA.

**Keywords:** oceanographic dynamics, nutrients, upwelling, NACW.

### RESUMEN:

Se ha estudiado la dinámica fisicoquímica en la plataforma continental de A Coruña (NO de la Península Ibérica) durante el ciclo anual de 1992. Se observan dos épocas claramente diferenciadas: una de mezcla homogénea de la columna de agua entre octubre-noviembre y marzo-abril, y otra de estratificación durante el resto del año. La época de estratificación se caracteriza por la aparición de una termoclina que se va hundiendo debido al calentamiento de la capa fótica y que impide una adecuada mezcla con el agua profunda procedente de los fenómenos de afloramiento que tienen lugar a principios de verano y otoño.

### ABSTRACT:

We have studied the physicochemical dynamics in A Coruña shelf (NW of the Iberic Peninsulæ) during the 1992 annual cycle. Two periods can be clearly distinguished: between october-november and march-april, the water column is well-mixed, whilst along the rest of the year it is strongly stratified. During the stratification period, a thermocline can be observed, which sinks as time goes and that does not allow a proper mixing with the depth water from upwelling events taking place at the beginning of summer and autumn.

## INTRODUCCIÓN.

La plataforma continental de Galicia es una región de gran productividad primaria marina (Koblentz-Mishke, 1970). Situada al NO de la Península Ibérica, presenta una extensión notable y está sometida a periódicos fenómenos de afloramiento de Agua Central Noratlántica (ACNA), responsables en gran medida de los aportes de sales inorgánicas nutrientes. Esporádicamente, se han detectado también masas de agua más o menos importantes cuya presencia es difícilmente justificable en base a fenómenos de afloramiento y que también afectan directamente a la dinámica del ecosistema, pudiendo atribuirse a intrusiones de agua central del Este del Atlántico Norte, ACEAN, (Bode, 1990; Bode y otros, resultados no publicados).

Con el fin de estudiar las características oceanográficas de la plataforma continental gallega se inició en 1988 el muestreo de una serie de parámetros fisicoquímicos y biológicos con carácter de serie histórica (Valdés, 1988). Este trabajo, como continuación de dicha serie, presenta un estudio de la dinámica fisicoquímica e hidrográfica en un punto de la plataforma continental, analizando las series temporales de diversos parámetros muestreados entre el 22 de enero de 1992 y el 17 de diciembre de 1992, abarcando un ciclo anual.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

La toma de muestras se llevó a cabo a bordo del buque oceanográfico "Lura" (Instituto Español de Oceanografía) en un punto situado a 43° 25.3' N, 8° 26.3' O en la plataforma continental de La Coruña. Para el muestreo se emplearon botellas Niskin de 5 dm<sup>3</sup>. Los parámetros medidos fueron: T, S,  $\sigma_t$ , [NO<sub>3</sub>], [NO<sub>2</sub>], [NH<sub>4</sub><sup>+</sup>], [PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>], [Si(OH)<sub>4</sub>] y O<sub>2</sub> disuelto.

Las medidas de T, S y  $\sigma_t$  se llevaron a cabo con un SBE 25-1 Sealogger CTD de Sea-Bird Electronics, Inc., adecuadamente calibrado.

Las concentraciones de nitrato, nitrito, fosfato, amonio y silicato fueron determinadas con un autoanalizador Technicon AAII (Strickland, 1972).

El oxígeno disuelto se determinó mediante el método Winkler (Aminot, 1983), empleando una bureta Dosimat de Metrohm (precisión  $\pm 0.02$  ml).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### *Condiciones meteorológicas.*

Estadísticamente, 1992 fue más cálido que la media de los treinta años anteriores (1961-1990). Las desviaciones más destacadas, superiores a 1°C ocurrieron en enero y octubre (negativas) y mayo y noviembre (positivas). Por lo que respecta a las precipitaciones, 1992 fue menos lluvioso que la media de los treinta años anteriores, con las excepciones de agosto y septiembre. No hubo una predominancia clara de vientos, siendo, si acaso, más comunes los del primer y segundo cuadrante. Las condiciones más favorables para los fenómenos de afloramiento se dieron entre marzo y julio y durante el mes de octubre, siendo los más desfavorables en los meses de invierno y durante agosto y septiembre. Esto está

de acuerdo con la variación diaria de los índices de afloramiento mostrada en la Figura 1 (Díaz del Río, G., comunicación personal), que presenta los índices máximos (afloramiento) en primavera y los mínimos (hundimiento) a finales de año.

#### *Condiciones hidrográficas. Descripción general.*

La Figura 2 muestra las variaciones anuales de T, S y  $\sigma_t$ . Se observa un fenómeno de mezcla durante la época invernal con afloramientos de agua fría en verano y otoño y un calentamiento generalizado de la columna de agua después del afloramiento del verano, con hundimiento de agua cálida favorecido por el régimen de vientos del tercer cuadrante. Durante el verano, cuando se produce el afloramiento, se observa una termoclina que impide una adecuada homogeneización de las masas de agua.

La salinidad presenta una dinámica similar a la de la temperatura, observándose valores bajos en superficie debidos a aportes de agua dulce, bien sea por influencia estuárica o por efecto de las lluvias. Coincidiendo con los fenómenos de afloramiento y en forma de intrusiones salinas esporádicas, se observan salinidades elevadas, alcanzando un valor >36.2 sobre 18 m en agosto, lo que podría describirse como agua central del Este del Atlántico Norte (ACEAN), resultado de la mezcla de Agua Central subtropical del Este del Atlántico Norte (ACEAN<sub>i</sub>) y Agua Central subpolar del Este del Atlántico Norte, ACEAN<sub>p</sub>, (Ríos, 1992).

Respecto a  $\sigma_t$ , su comportamiento es totalmente paralelo al de T y S, observándose masas de agua más densas durante la época de mezcla y en las épocas de afloramiento y durante las intrusiones salinas. En la época de estratificación, se observa una pycnoclina, con aguas menos densas en superficie.

Las Figuras 3 y 4 muestran la concentración de nitrato, nitrito y amonio, y de fosfato, silicato y oxígeno disuelto respectivamente. En general las distribuciones son las típicas de parámetros no conservativos en una zona de plataforma continental. Los valores bajos de concentración de nutrientes corresponden a muestras de la zona fótica y los altos a muestras procedentes de aguas de advección. En el agua de advección las concentraciones presentan razones muy próximas al valor teórico para la relación P:N de 1:16, razón que aumenta en la capa fótica debido al desigual consumo biológico.

Respecto al oxígeno disuelto, se observa saturación e incluso sobresaturación durante casi todo el año, con la excepción de la entrada por el fondo de agua no saturada durante las épocas de afloramiento y la bajada los niveles de oxígeno a comienzos del invierno, probablemente debido al enfriamiento generalizado del agua y a la degradación de materia orgánica.

#### *Intercambio vertical de los nutrientes.*

En el agua subsuperficial de la zona eufótica el crecimiento del fitoplancton tiende a reducir la concentración de sales nutrientes, mientras que a mayores profundidades la regeneración incrementa sus concentraciones a expensas de la materia orgánica.

Riley diseñó un procedimiento para determinar la difusión vertical de nutrientes precisa para mantener la actividad biológica a cada profundidad (Riley, 1956 a,b). Para analizar el intercambio en una columna de agua la imaginó dividida en segmentos de igual lon-

gitud, asumiendo que los intercambios en sentido horizontal eran despreciables. En estas condiciones, la velocidad de cambio en el equilibrio de un parámetro N en un intervalo de tiempo t depende del balance entre la actividad biológica y la difusión vertical a través de los límites superior e inferior de la capa considerada, y viene dada por:

$$\frac{\Delta N}{\Delta t} = R + \frac{1}{\Delta z} \cdot (A_z \cdot \frac{\Delta N_z}{\Delta z} - A_{-z} \cdot \frac{\Delta N_{-z}}{\Delta z})$$

donde R es la velocidad de cambio del parámetro N debido a la acción biológica, z y -z indican los límites superior e inferior respectivamente de las capas consideradas y  $A_z$  y  $A_{-z}$  son los coeficientes de difusión a través de dichas capas. Para poder emplear esta ecuación es preciso conocer los valores de  $A_z$  y  $A_{-z}$ , valores que se pueden estimar a partir de la velocidad de cambio de la temperatura, que se puede considerar que no está afectada por la actividad biológica.

Aplicando estas relaciones a nuestros datos se observa que los coeficientes de difusión obtenidos son bastante razonables siempre que se considere un semiperíodo de marea como intervalo de tiempo, lo que indica que la marea es el principal factor responsable de la difusión vertical. Asumiendo un valor de 1000 m<sup>2</sup>/día para el segmento del fondo (valor intermedio entre los 100 m<sup>2</sup>/día calculado por diferencias en las curvas T/S y los 5000 m<sup>2</sup>/día obtenidos por Otto para el fondo de la Ría de Arosa (Otto, 1975), los valores para las superficies de separación entre cada segmento se presentan en la Tabla 1 (se excluyen los valores correspondientes a los meses de invierno porque corresponden a mezcla prácticamente total en la columna de agua).

Aunque los coeficientes de difusión calculados de esta forma conllevan una considerable imprecisión, sirven como guía para interpretar las condiciones observadas en relación con la estabilidad de la columna de agua.

De modo similar, se puede emplear la frecuencia de Brunt-Väisälä como índice de estabilidad vertical (Walsh, 1988). El cálculo de esta frecuencia en plataformas continentales se realiza de modo aproximado según:

$$N^2 \approx -g \cdot \frac{\partial \sigma_t}{\partial z} \cdot 10^{-6}$$

donde g es la aceleración de la gravedad,  $\sigma_t$  se define del modo habitual y z indica la profundidad.  $N^2$  es una medida de la difusión turbulenta vertical, indicando los valores altos un importante grado de estratificación en la columna de agua. La variación de  $N^2$  durante el período de muestreo se muestran en la Figura 5.

Comparando los valores obtenidos para el coeficiente de difusión y la frecuencia de Brunt-Väisälä con la distribución de temperaturas (Figura 2), se concluye que los altos coeficientes de difusión corresponden a bajas frecuencias y a períodos de mezcla en la columna de agua mientras que, a medida que la estratificación se hace mayor la difusión se reduce y la frecuencia se hace mayor. Así, por comparación con la distribución de temperaturas se deduce que en mayo el incremento de temperatura en superficie estabiliza la columna de agua, mientras que en julio y en octubre lo hace la advección de agua fría de la plataforma.

### *Descripción estacional.*

*Invierno.* La época invernal (de octubre-noviembre a marzo-abril), se caracteriza por la homogeneidad vertical de los distintos parámetros fisicoquímicos. No ocurren fenómenos de especial relevancia salvo el enriquecimiento en nutrientes de la capa fótica al disminuir la actividad biológica por la menor cantidad de radiación incidente y las bajas temperaturas.

*Primavera.* La abundancia de nutrientes en la capa fótica al final del período invernal hace que, al aumentar la temperatura del agua en primavera se produzcan floraciones más o menos intensas de fitoplancton y abunden el zooplancton. A finales de este período comienza a formarse una termoclina estacional que va a caracterizar la capa fótica durante la época de verano.

Durante el mes de abril baja la temperatura hasta los 12.5 °C, manteniéndose la homogeneidad en la columna de agua. En mayo parecen iniciarse las condiciones de primavera, con un ligero incremento de la temperatura en superficie (15.5 °C) asociado a una aparición de agua más fría en el fondo (12.27 °C), presumiblemente debido a un proceso de entrada de agua profunda. En junio el calentamiento en superficie debido a la radiación solar, cada vez más intensa, alcanza los 15.33 °C en superficie, pero debido a la dinámica de esta zona y al cese de la intrusión de agua fría que se había iniciado en el mes anterior, esta subida de temperatura alcanza a toda la columna de agua, con temperaturas de 14.0 °C en el fondo.

En los primeros días de abril, coincidiendo con una brusca bajada de la temperatura del agua, los niveles de nitrato suben ligeramente, aunque con niveles inferiores a los de invierno, para ir bajando luego progresivamente en superficie, de forma paralela al calentamiento del agua de superficie y en consonancia con el previsible aumento de la actividad biológica debido al aumento de la radiación solar. Finalmente, en junio la concentración de nitrato baja en toda la columna de agua, alcanzando en el fondo valores de apenas 1  $\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ .

La concentración de nitrito presenta a principios de la primavera un incremento mucho más notable que el de nitrato, lo que no puede ser explicado por una intrusión de agua de fondo. Al igual que en el caso del nitrato, la concentración de nitrito presenta un fuerte descenso en las meses de mayo y junio.

El amonio, coincidiendo con el incremento de nitrato y nitrito, presenta un máximo en abril y en aguas de fondo, con concentraciones de hasta 4  $\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Estos niveles se reducen posteriormente en el fondo, mientras que en superficie aumenta considerablemente hasta que los aportes de aguas frías profundas reducen también su concentración.

La concentración de oxígeno disuelto baja ligeramente al aparecer la intrusión de agua fría, aumentando posteriormente en superficie por efecto de la actividad fotosintética. Este factor supone una limitación adicional para la actividad biológica.

El consumo neto de nitratos y nitritos debe estar compensado por unos procesos de regeneración más rápidos de los compuestos de nitrógeno, lo que concuerda con las concentraciones de amonio, altas en esta época, posiblemente por la degradación de materia

orgánica, importante en la época invernal, y el relativamente alto porcentaje de nitritos encontrados en esta época. La advección de aguas frías donde la relación molar de 1:6 entre las concentraciones de nitratos y nitritos son muy bajas comparadas con las del agua central noratlántica, parece indicar que esta advección de agua de fondo procede de la misma plataforma y ha sido enriquecida con productos de regeneración recientes.

*Verano.* Inicialmente la capa fótica presenta una clara termoclina que impide una adecuada mezcla en la columna de agua. Se producen, además, fenómenos de afloramiento de agua profunda. Hacia finales del verano tiene lugar un calentamiento de toda la columna de agua, alcanzándose temperaturas de 17 °C a profundidades próximas a los 50 m.

Durante el verano continúa el proceso de calentamiento del agua de superficie hasta que ésta alcanza unos 16 °C, apareciendo en julio una termoclina claramente definida a unos 10 m de profundidad bajo la que aparece una masa de agua bastante más fría (12.9 °C). Este hecho es indicativo de una intrusión de agua profunda con unas características muy semejantes a las del agua central noratlántica en su límite superior ( $T=12.8$  °C y  $S=35.75$ ). Este fenómeno se detecta también en agosto, pero con temperaturas en superficie que superan ya los 17 °C, aumentando progresivamente el espesor de la masa de agua más caliente.

La intrusión de agua profunda aporta altos niveles de nitratos ( $10\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ), enriqueciendo las aguas de fondo y aportando a la capa fótica los nutrientes necesarios para mantener la actividad biológica durante los meses de julio y agosto.

La concentración de nitritos aumenta en julio y agosto con la intrusión de agua profunda, yendo sus valores desde los  $0.6\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  del agua de fondo hasta valores mucho más bajos en superficie, indicativos de un apreciable consumo biológico. La concentración de amonio se mantiene en niveles bajos.

Los niveles de oxígeno disuelto se reducen progresivamente debido a los aportes de aguas profundas (con valores de  $7.2\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ), con la excepción de un ligero incremento en superficie en el mes de agosto, cuando la intrusión de agua fría parece menos intensa.

La fuerte intrusión de agua central noratlántica fría y el calentamiento de las aguas de superficie, característico del verano, determina una fuerte termoclina que estabiliza la columna de agua, reduciendo el flujo de nutrientes a la capa fótica. La actividad biológica se incrementa por tanto fundamentalmente en aguas profundas, ricas en nutrientes. Este hecho se ve favorecido por la fuerte insolación de agosto y la presencia de aguas muy claras.

El aumento de la concentración de silicato, que en períodos anteriores al afloramiento había descendido a niveles muy bajos, podría jugar un papel muy importante en la producción fitoplanctónica. El amonio debe consumirse rápidamente, dada su baja concentración, durante el afloramiento, cuando el nitrógeno es probablemente limitante.

El 2 de septiembre la columna de agua se ha calentado prácticamente en su totalidad, desapareciendo el agua fría de fondo, lo que puede ser debido a una relajación de los procesos de intrusión de agua profunda. En estas condiciones la dinámica marina es escasa, con pobre intercambio de aguas y un calentamiento general de toda la columna de agua.

El cese de los aportes de agua de fondo, rica en nutrientes, provoca una rápida disminución de la concentración de nitrato en la capa fótica, en parte debido al consumo biológico y en parte a que la homogeneidad de la columna de agua permite una rápida difusión vertical de los nutrientes (observese el bajo valor de la frecuencia de Brunt-Väisälä en los primeros 20 m de la estación 2).

Los nitritos también presentan un importante descenso de concentración, hasta valores de  $0.2-0.3 \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^3$  en el agua más profunda. Por el contrario, en esta época de escaso intercambio acuoso el amonio aumenta su concentración en toda la columna de agua, con un máximo de  $6 \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^3$  en profundidad. La concentración de oxígeno baja drásticamente, alcanzando valores de saturación del 85% a profundidades medias, los más bajos de todo el año, probablemente debido a la importancia de la degradación de materia particulada.

La actividad biológica no se reduce apreciablemente puesto que a pesar de la disminución en las concentraciones de fondo por la relajación de los fenómenos de advección, la difusión a la zona fótica aumenta considerablemente dada la homogeneidad de las aguas.

*Otoño.* Se produce un enfriamiento generalizado de la columna de agua y hacia el final del otoño tiene lugar un nuevo fenómeno de afloramiento. La bajada de temperatura debida a la advección de aguas frías restringe la difusión vertical.

En octubre la temperatura del agua de superficie baja hasta los  $14^\circ\text{C}$  debido a la menor insolación y al efecto de una nueva intrusión de agua profunda con una temperatura de  $12.62^\circ\text{C}$  a 70 m de profundidad. Esta nueva intrusión aporta de nuevo altos niveles de nitratos, que al no existir una termoclina muy desarrollada y ser débil la actividad biológica enriquecen toda la columna de agua hasta la superficie. Los nitritos, sin embargo, aparecen en concentraciones muy bajas en toda la columna de agua ( $0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ). La concentración de amonio, al igual que la de nitritos, presenta valores bajos. El oxígeno presenta los niveles bajos ( $7.2 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) en profundidad debido a la intrusión de agua profunda y fría.

## CONCLUSIONES.

La dinámica oceanográfica en la zona de muestreo presenta dos épocas claramente diferenciadas a lo largo del año: entre octubre-noviembre y marzo-abril, la columna de agua es homogénea, mientras que el resto del año está estratificada.

Durante la época de estratificación, cuando las condiciones de viento son apropiadas, ocurren fenómenos de afloramiento de ACNA. Esporádicamente se observan masas de agua de elevada salinidad y densidad cuya presencia no es fácilmente explicable y que podrían corresponder a ACEAN. También durante esta época, la marea es el principal responsable de la difusión vertical y tanto el calentamiento superficial como los fenómenos de afloramiento producen una fuerte estabilización de la columna de agua.



## REFERENCIAS.

- Aminot, A. y Chausseped, M., 1983. Manuel des analyses chimiques en milieu marin. Centre National pour l'exploitation des océans. Brest.
- Bode, A., Fernández, E., Botas, A. y Anadón, R., 1990. *Oceanologica Acta*, **13** (2): 219-228.
- Koblentz-Mishke, O.J., Volkovinsky, V.V.; Kabanova, J.G., 1970. Plankton Primary Production of the World Ocean. En: *Scientific Exploration of the South Pacific. Standard Book N° 309-01755-6*. Nat. Acad. Sci. Wash., p. 183.
- Otto, L., 1975. *Oceanography of the Ría de Arosa (NW Spain)*. Koninklijk Nederlands Meteorologisch Instituut, N° 96, Staatsuiverij/s-Gravenhage.
- Riley, G.A., 1956a. Oceanography of Long Island Sound 1952-1954 II. Physical oceanography. *Bull. Bingham Oceanog. Coll.*, **15**: 15-46.
- Riley, G.A., 1956b. Oceanography of Long Island Sound 1952-1954 IX. Production and utilization of organic matter. *Bull. Bingham Oceanog. Coll.*, **15**: 325-344.
- Ríos, A.F., Pérez, F.F., Fraga, F., 1992. *Deep Sea Res.*, **39** (3-4): 645-658.
- Strickland, J.D.H. y Parsons, T.R. 1972. A practical handbook of seawater analysis. *Bull. Fish. Res. Bd. Canada*, **167**: 1-310.
- Valdés, L., Álvarez-Ossorio, M.T., Lavín, A., Varela, M; Carballo, R., 1993. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, **7** (1): 91-138.
- Walsh, J.J., 1988. *On the Nature of Continental Shelves*, Academic Press, Inc.

**Tabla 1:** difusión vertical (m<sup>2</sup>/día).

Mes	Desde 30 m	Desde 10 m
Marzo	1.900	2.800
Abril	1.300	1.000
Mayo	225	225
Junio	680	530
Julio	230	100
Agosto	900	600
Septiembre	2.000	1.100
Octubre	550	450
Noviembre	1.000	900

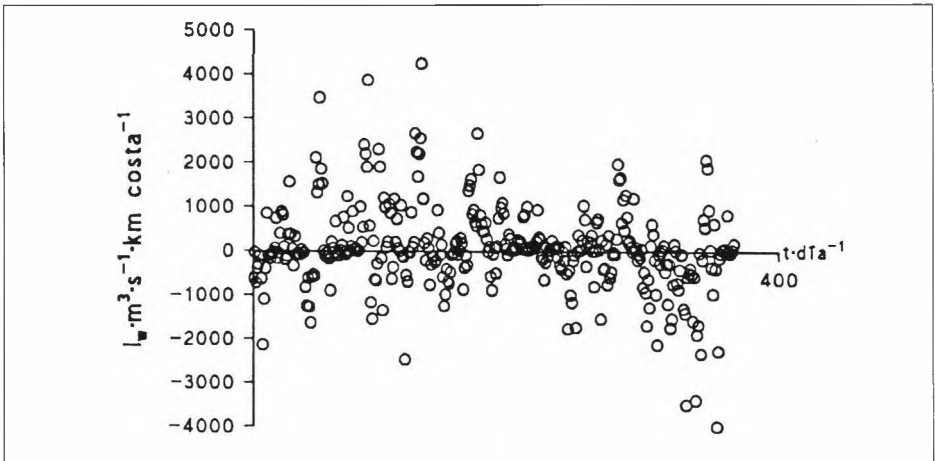


Figura 1.- variación del índice de afloramiento ( $I_w$ ).

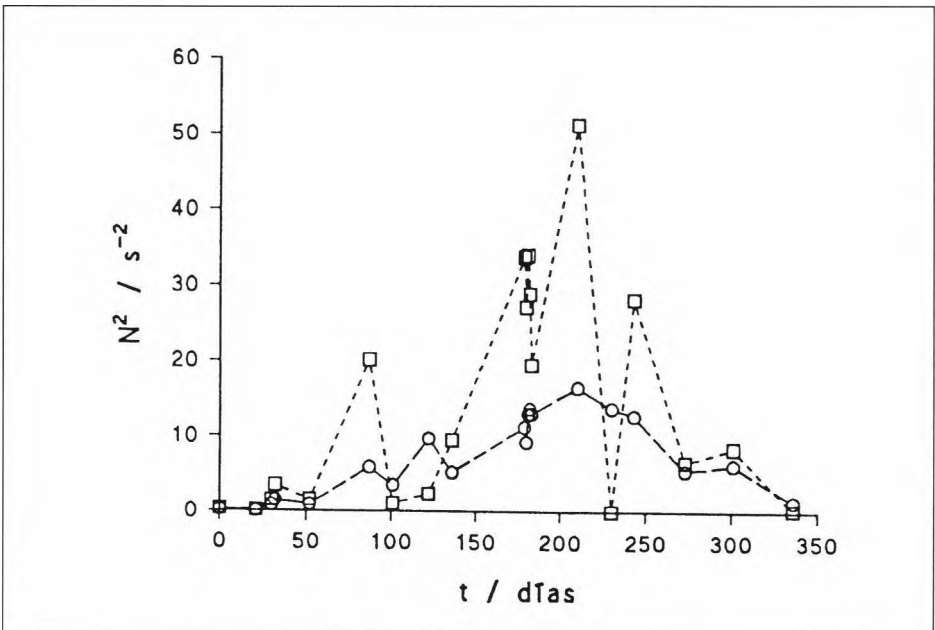


Figura 5.- variación de la frecuencia de Brunt-Väisälä ( $N^2$ ).

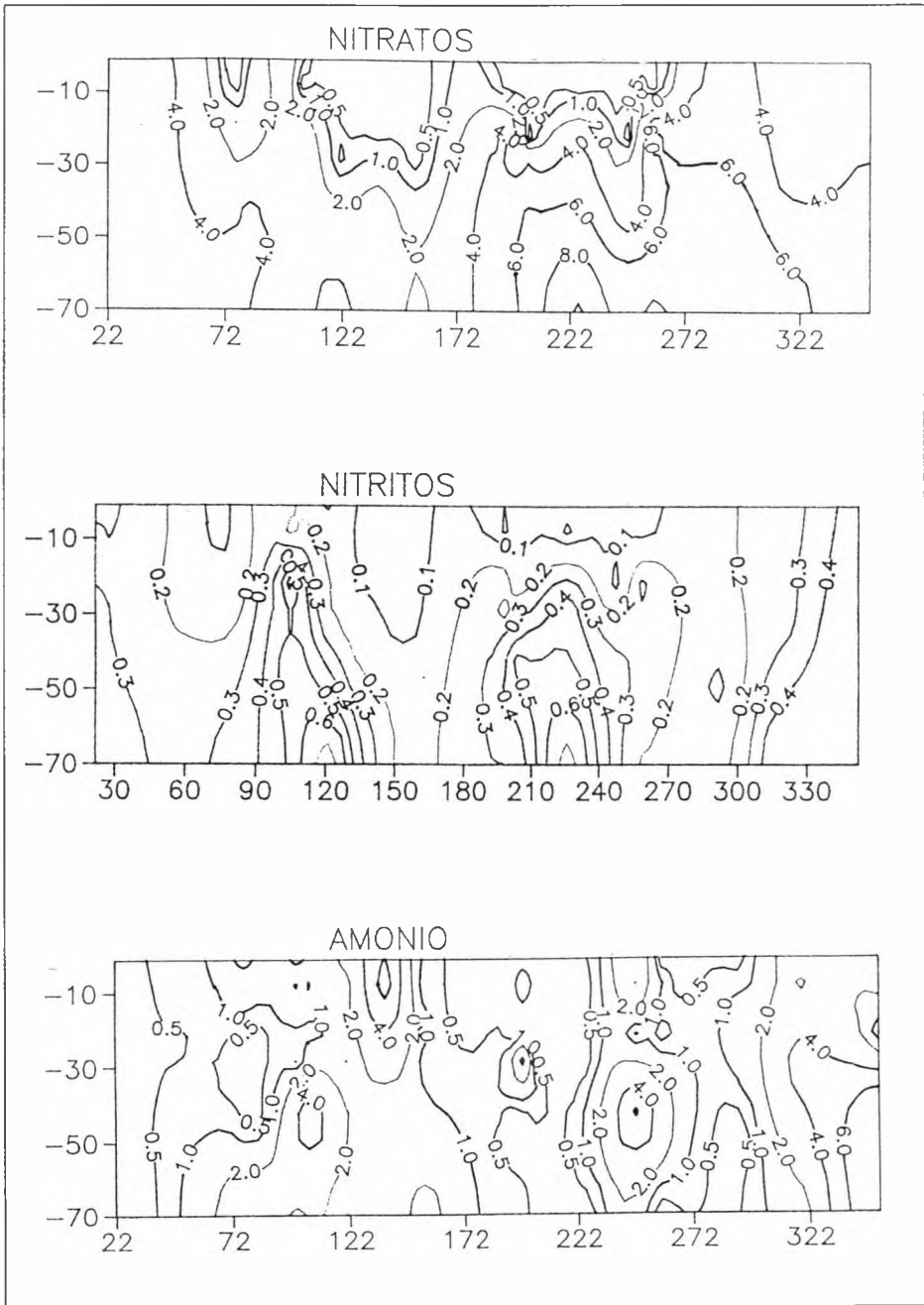


Figura 2.- distribuciones anuales de T, S y  $\sigma$ .  
 Eje x: t / días. Eje y: Profundidad / m. Eje z: valor medido.

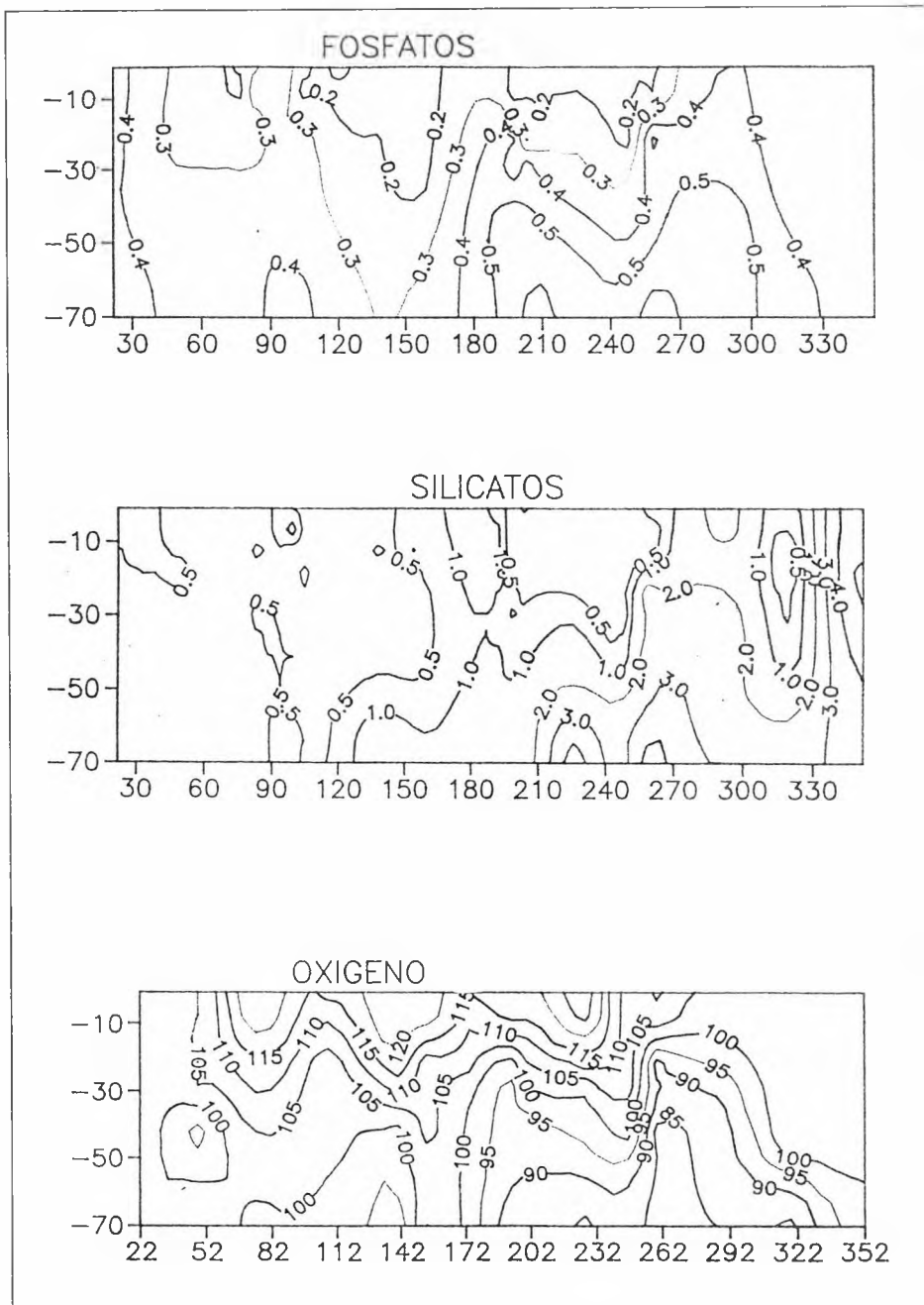


Figura 3.- distribuciones anuales de concentración de  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$  y  $\text{NH}_4^+$ .  
 Eje x:  $\tau$  / días. Eje y: Profundidad / m. Eje z: concentración medida /  $\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ .

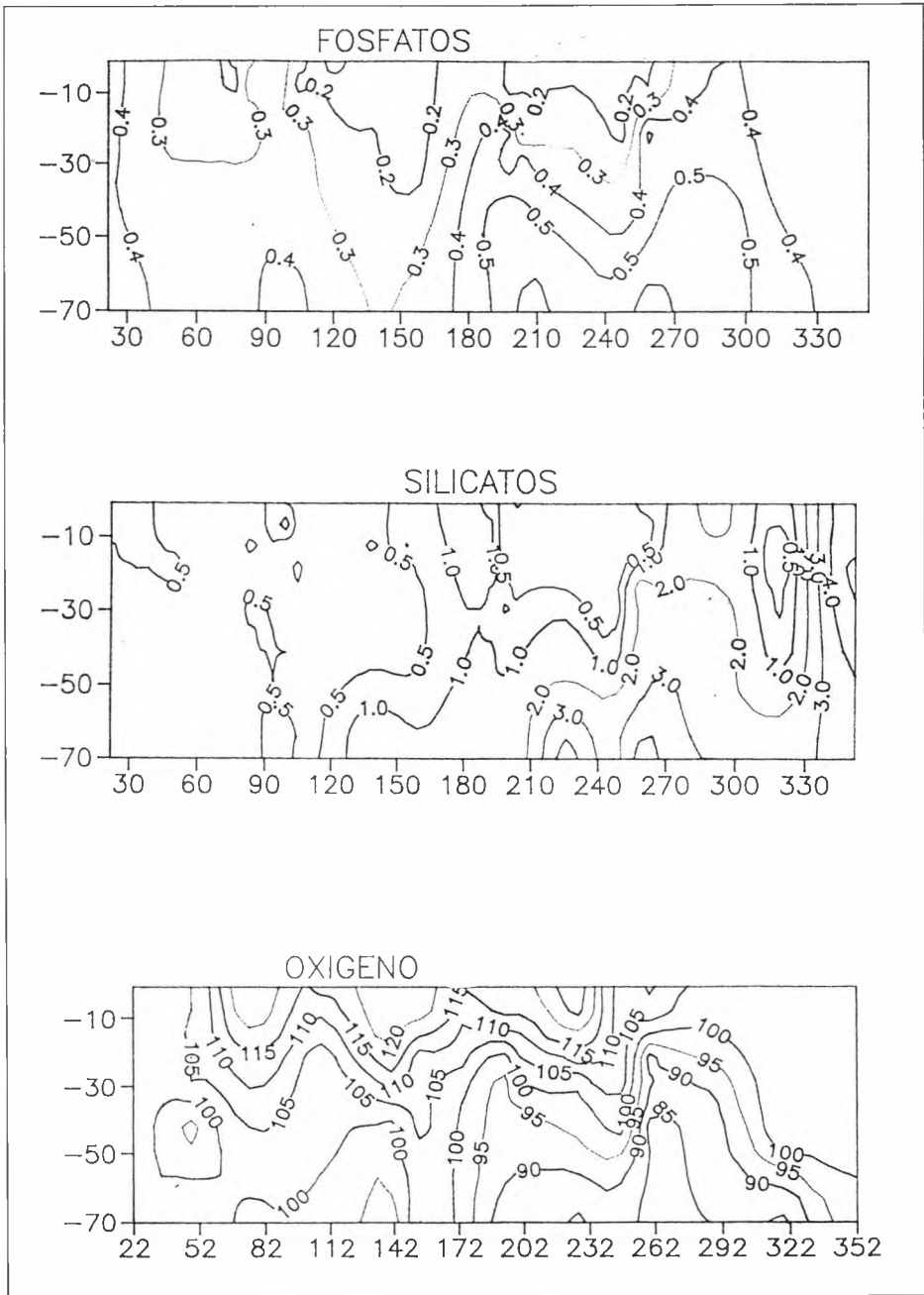


Figura 4.- distribuciones anuales de concentración de  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{Si}(\text{OH})_4$  y  $\text{O}_2$  disuuelto.

Eje x:  $t$  / días. Eje y: Profundidad / m. Eje z: concentración medida /  $\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  para  $\text{PO}_4^{3-}$  y  $\text{Si}(\text{OH})_4$ , % de saturación para  $\text{O}_2$  disuuelto.

# ENSAYO DE UN METODO DE INCUBACION EN LABORATORIO PARA LA MEDIDA DEL INTERCAMBIO DE SALES NUTRIENTES ENTRE EL SEDIMENTO Y LA COLUMNA DE AGUA EN UNA RIA GALLEGA.

*Esther de Blas*<sup>(1)</sup> & *Ricardo Prego*<sup>(2)</sup>

(1) Dto. de Recursos Naturales y Medio Ambiente, Universidad de Vigo. Apdo. 874. 36200 Vigo.

(2) Biogeoquímica Marina, Instituto de Investigaciones Marinas (CSIC). Rúa Eduardo Cabello, 6. 36208 Vigo

## RESUMEN:

Se presenta un método de incubación de testigos de sedimento aplicado por primera vez en las rías gallegas. Para la extracción de las muestras se utilizó una "box core" que permite la toma directa de muestras, de 7 a 10 cm de sedimento, junto con su agua sobrenadante, en tubos de plexiglás de 5,4 cm de d.i. y 25 cm de altura.

Los testigos obtenidos se incuban en el laboratorio bajo condiciones de oscuridad y temperatura constante. Durante toda la experiencia se mantiene una circulación cerrada del agua sobrenadante en cada muestra, mediante una bomba peristáltica. El tiempo de incubación se estableció en 5 h. La representación de la concentración de nutriente frente al tiempo permite calcular los valores del flujo sedimento-agua.

La técnica se ha aplicado a una serie de testigos extraídos en la zona interna de la ría de Vigo en diciembre de 1993. Para el silicato se ha obtenido un flujo de  $186 \mu\text{mol m}^{-2} \text{h}^{-1}$ .

## ABSTRACT:

INCUBATION METHOD TEXT IN LABORATORY FOR THE DETERMINATION OF SEDIMENT-WATER COLUMN EXCHANGES OF NUTRIENT SALTS IN A GALICIAN RIA

An incubation method for sediment cores, used in a Galician Ria for first time, is showed here. The cores were take out by a box core, obtaining unaltered samples (7-10 cm of sediment together with its supernatant water) in a plexyglas cylinder of 5.4 cm i.d. and 25 cm height.

The cores were incubated in laboratory, under darkness and unchanged temperature conditions. During the experiment, supernatant water recirculation is maintained with a peristaltic pump. Incubation time was 5 hours. The values of fluxes sediment-water column were calculated using time-nutrient concentration diagrams.

This method were applied for cores obtained in the inner zone of the Ria of Vigo in december 1993. Dissolved silicate flux was  $186 \mu\text{mol m}^{-2} \text{h}^{-1}$ .

## INTRODUCCION

Los estuarios son ambientes muy complejos con respecto a los procesos de sedimentación (Aston y Chester, 1976). Razón de ello son los diferentes orígenes que pueden tener los materiales que alcanzan la cuenca del estuario. La llegada de material biogénico al sedimento es el comienzo de una serie de reacciones biogeoquímicas que acaban remineralizando la materia orgánica. La mayor parte del silicio, nitrógeno y fósforo incorporado al fitoplancton en la zona fótica de la columna de agua es regenerado mientras se hunde la materia orgánica particulada (Menzel, 1974). Sin embargo, en aguas someras los detritos alcanzan el fondo y dan lugar a una regeneracion sobre y dentro del sedimento. El retorno de las sales nutrientes a la columna de agua puede tener un importante efecto fertilizador. En la bahía de Narragansett (USA), Hale (1974) encontró que el sedimento suministra el 80% del nitrógeno y el 200% del fósforo que necesita el fitoplancton de la bahía.

La importancia que pueden tener estos procesos en una ría gallega es algo que se está comenzando a investigar mediante el proyecto "La dinámica de sales nutrientes en la ensenada de San Simón". Existen distintos métodos para medir el flujo de nutrientes en la interfase agua-sedimento (Varios, 1986), unos basados en el uso de cámaras bentónicas y otros en la incubación en laboratorio de testigos de sedimento. Este último es el objeto del presente artículo, en el cual se describe su puesta a punto en una ría gallega.

## MATERIAL Y METODO DE MUESTREO

La obtención de muestras de sedimento se hizo mediante una box-core que se constuyó de forma artesanal siguiendo un diseño tipo "Rouvillois", Fig.1. Se escogió este modelo de draga por dos razones:

En primer lugar porque fue utilizada en la Rada de Brest en fondos de textura fina semejantes a los que se pueden hallar en una ría;

y, en segundo lugar, porque se adecua a las necesidades de nuestro estudio ya que permite obtener de 6 a 10 cm de sedimento inalterado junto con un volumen de unos 400 ml de agua sobrenadante, lo que evita cualquier manipulación posterior.

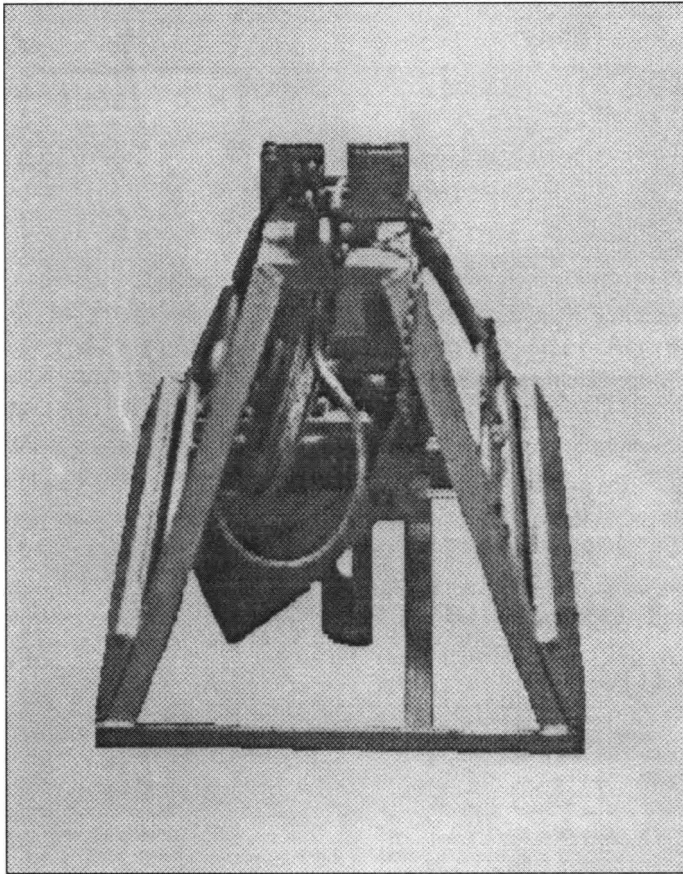


Figura 1.- Box-core utilizada para la extracción de los testigos.

La box-core utilizada, Fig. 1, consta de un cilindro metálico donde encaja perfectamente un tubo de plexiglás de 25 cm de altura por 5,4 cm de diámetro interno de borde inferior inclinado y esmerilado para favorecer su penetración en el sedimento. Este se mantiene vertical mediante una estructura troncopiramidal también metálica con 20 kg de lastre. La draga se deja caer libremente sobre el sedimento, y al recoger el cable de acero de 6 mm enrollado en una polea coaxial a un tornillo sin fin, primero se cierra la base del testigo mediante una cuchilla plana y luego asciende la draga. La parte superior del cilindro metálico tiene un cierre de goma que evita la mezcla con el agua exterior durante el ascenso de la draga.

Para la extracción de los testigos se escogió una zona interna de la ría de Vigo, en la orilla norte de la ensenada de San Simón, Fig.2. Esta área tiene un sedimento de textura arcillo-limosa, la más común en la ensenada junto con la textura franca (Nombela, 1989).

Se recogieron tres testigos que contenían de 7 a 10 cm de sedimento. Estos presentaban una superficie perfectamente lisa y horizontal, no se apreciaban bolsas de aire



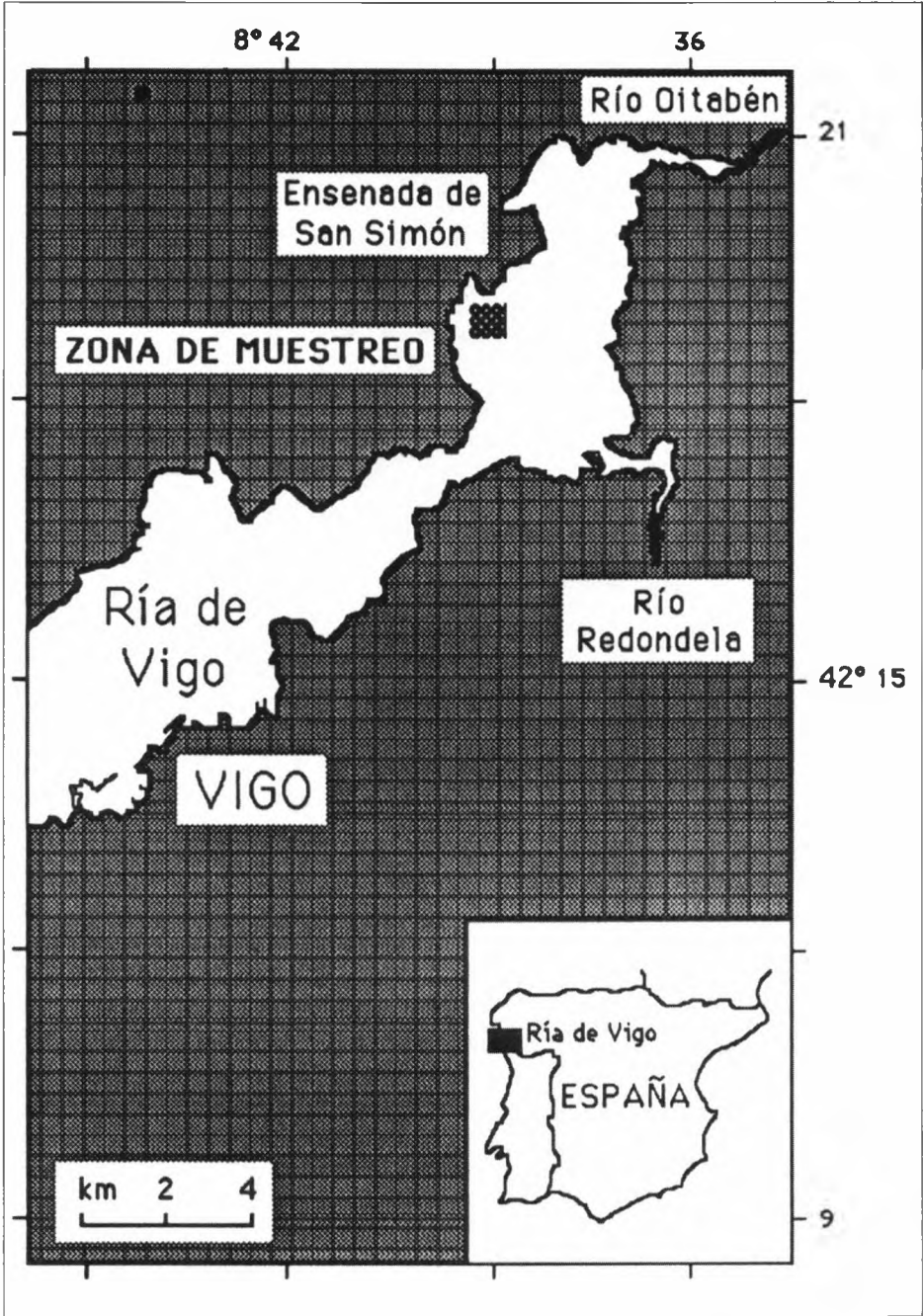


Figura 2.- La zona donde se tomaron los testigos se halla próxima a la orilla norte de la ensenada de San Simón, ría de Vigo.

entre el sedimento y la pared del tubo y el agua sobrenadante estaba sin enturbiar. Dichos testigos fueron guardados verticales y en oscuridad, después de retirar el agua sobrenadante hasta dejar un nivel de 10 cm por encima del sedimento. El agua retirada sirvió para rellenar un cuarto testigo, sin sedimento, que se utilizó como blanco. La box-core funcionó perfectamente con el único inconveniente de la presencia de conchas de bivalvos. Estas dificultaron el buen cierre de los testigos, que se deshecharon por la pérdida del agua sobrenadante, e incluso llegaron a ocasionar la rotura de algunos tubos de plexiglas.

Los cuatro testigos se transportaron al laboratorio, donde se realizó su incubación de forma inmediata.

### INCUBACION Y RESULTADOS

En el laboratorio, los testigos se incubaron durante 5 h en un baño de agua a temperatura constante y oscuridad. Mientras duró la experiencia se mantuvo en cada testigo una circulación cerrada del agua sobrenadante, mediante una bomba peristáltica.

A intervalos de media hora se tomaron muestras de agua en cada uno de los testigos, directamente del circuito de recirculado a la cubeta del sistema autoanalítico, y se analizó la concentración de silicato de acuerdo con el método de Hansen y Grasshoff (1983).

Los valores de concentración de silicato disuelto obtenidos se representan frente al tiempo, Fig.3.

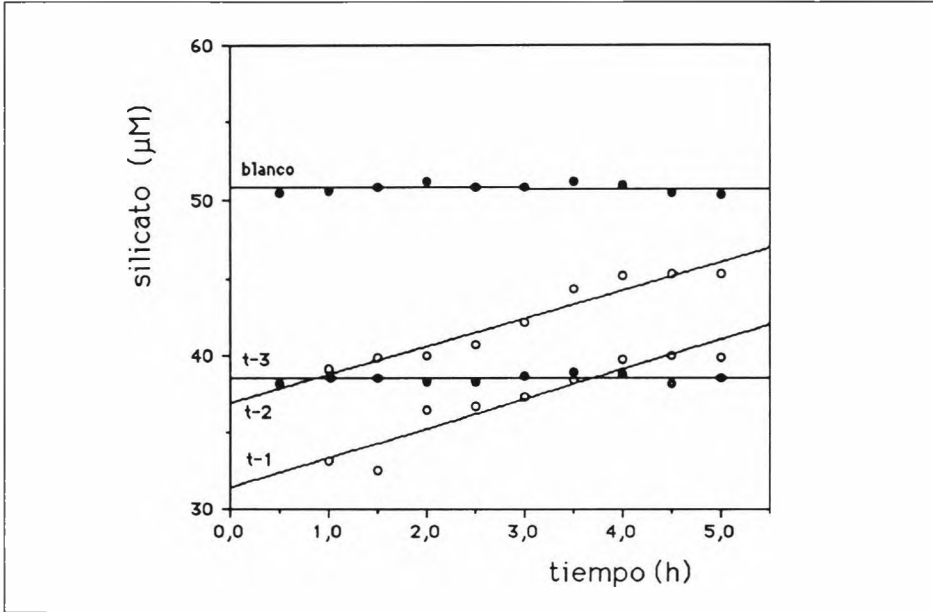


Figura 3.- Representación de la concentración de silicato frente al tiempo para los tres testigos incubados (t-1, t-2 y t-3) y para el blanco de referencia.

Los puntos se ajustan a una línea recta de acuerdo con las ecuaciones:

$$\text{testigo 1: } [\text{H}_4\text{SiO}_4] = 31,4 + 1,93 t \quad r = 0,938 \quad (1)$$

$$\text{testigo 2: } [\text{H}_4\text{SiO}_4] = 37,0 + 1,81 t \quad r = 0,974 \quad (2)$$

$$\text{testigo 3: } [\text{H}_4\text{SiO}_4] = 38,6 \quad (3)$$

$$\text{blanco: } [\text{H}_4\text{SiO}_4] = 50,8 \quad (4)$$

En las cuales el término independiente corresponde a la concentración inicial de silicato. El valor de la pendiente es la variación de la concentración respecto al tiempo. A partir de este valor dependiente se calcula para (1) y (2) el flujo de silicato entre el sedimento y el agua,  $\phi$ :

$$\phi = \Delta Q / S \Delta t \quad (5)$$

siendo  $\Delta Q$  la variación de cantidad de silicato en el agua;  $S$  el área superficial del sedimento; y  $\Delta t$  la variación del tiempo.

Los testigos 1 y 2, tuvieron un comportamiento similar con rectas prácticamente paralelas. El testigo 3 presentó un comportamiento anómalo respecto a los demás al ser su pendiente prácticamente nula.

El flujo de silicato sedimento-agua resulta ser de  $187 \mu\text{mol m}^{-2} \text{h}^{-1}$ .

El agua en la superficie de la zona de muestreo tenía una salinidad del  $8 \text{ g kg}^{-1}$  y una concentración de silicato  $60,4 \mu\text{M}$ ; los valores de salinidad medidos en los testigos 1 y 2 fueron de  $24$  y  $21,5 \text{ g kg}^{-1}$  y sus concentraciones iniciales de silicato, calculadas en (1) y (2), de  $31,4$  y  $37,0 \mu\text{M}$ , respectivamente;  $38,6 \mu\text{M}$  de silicato tenía en el testigo 3 de salinidad  $19$

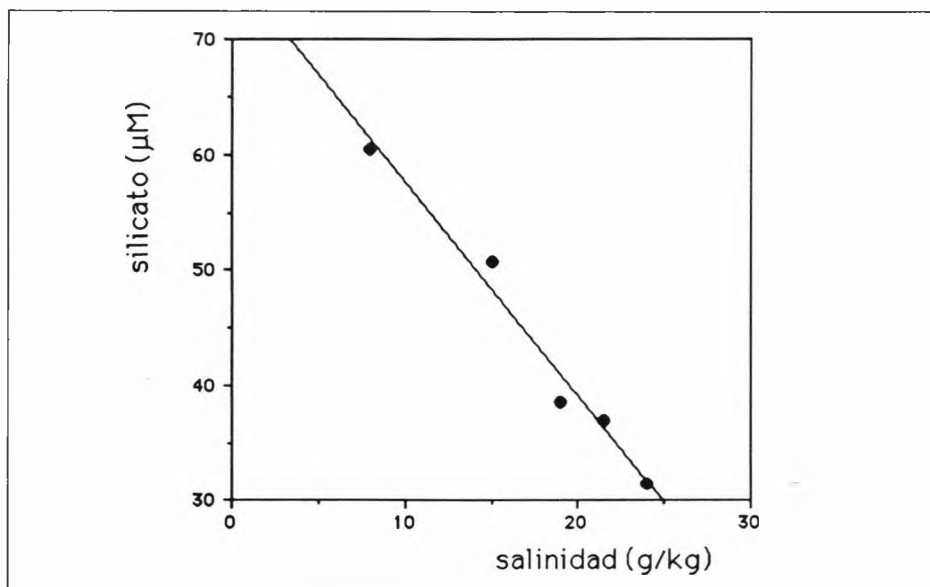


Figura 4.- Representación de la salinidad frente a la concentración inicial de silicato en los testigos, el blanco y el agua de superficie en la zona de muestreo.

g kg<sup>-1</sup>; mientras que el blanco eran de 50,8 μMSi y 15 g kg<sup>-1</sup>. Estos valores son prácticamente lineales como muestra la Fig.4, indicando que entre el agua dulce y la marina en la zona de muestreo solo existe un proceso físico de mezcla, de acuerdo con la ecuación:

$$[H_4SiO_4] = 76,1 - 1,85 \text{ Salinidad} \quad r = 0,988 \quad (6)$$

La gran variación de salinidad en el pequeño espesor de la columna de agua (unos 4 m) hace que haya un fuerte gradiente de silicato. De esta forma se puede entender como el agua del blanco, extraída de la parte superior de cada testigo, es más rica en silicato disuelto.

## CONCLUSIONES

1.- A partir de las características de funcionamiento de la box-core, el sistema de incubación, y los resultados obtenidos, la técnica descrita se muestra útil para trabajar en una ría gallega.

2.- En las condiciones del muestreo, invierno y altos caudales fluviales, la mezcla de agua dulce-marina es prácticamente conservativa, lo que sugiere que en la zona muestreada el aporte de silicato disuelto desde el sedimento al agua es proporcionalmente pequeño con respecto a los aportes de origen fluvial.

Agradecimientos: Deseamos agradecer la colaboración prestada en el muestreo por D. Ricardo Casal, patrón de la embarcación "Lampadena".

Este artículo es una contribución al proyecto XUGA 40203B92, financiado por la Xunta de Galicia.

## BIBLIOGRAFIA

- ASTON, S.R. y CHESTER, R. (1976). Estuarine sedimentary processes. En "Estuarine chemistry" (Eds. J.D. Burton y P.S. Liss). Academic Press. Londres. pp: 37-52.
- HALE, S.S. (1974). The role of benthic communities in the nitrogen and phosphorus cycles of an estuary. *Recent Adv. Estuar. Res.*, 1: 291-308.
- HANSEN, H.P. y GRASSHOFF, K. (1983). Automated chemical analysis. En "Methods of seawater analysis" (2a Ed.). Ed. por K. Grasshoff, M. Ehrhardt y K. Kremling. Verlag Chemie. Weinheim. pp: 369-376.
- MENZEL, D.W. (1974). Primary productivity of dissolved and particulate organic matter, and the sites of oxidation of organic matter. En "The Sea, Vol.5. Marine Chemistry" (Ed. E.D. Goldberg). Wiley, Nueva York. 659 pp.
- NOMBELA, M.A. (1989). Oceanografía y sedimentología de la ría de Vigo. Tesis Doctoral, Universidad Complutense de Madrid. Vol.2, p.96.
- VARIOS (1986). Proceeding of the 20th European Marine Biology Symposium: "Nutrient cycling. Processes in marine sediments". *Ophelia*, 26.



# INTERCAMBIO DE FOSFATO Y ADSORCIÓN POR EL SEDIMENTO DEL ESTUARIO DEL RIO PALMONES.

*Vicente CLAVERO<sup>1</sup>, J. Antonio FERNÁNDEZ<sup>2</sup> y F. Xavier NIELL<sup>1</sup>*

1. Departamento de Ecología. 2. Departamento de Biología Vegetal.  
Universidad de Málaga. Facultad de Ciencias. Campus de Teatinos.  
29071. Málaga

**Palabras claves:** Estuario, sedimento, adsorción, fósforo.

## RESUMEN

Se han realizado una serie de experimentos con el fin de obtener los parámetros cinéticos que rigen los procesos de adsorción de fósforo en el sedimento, tanto en presencia de oxígeno como en condiciones anóxicas. El coeficiente de adsorción obtenido (K) en presencia de oxígeno fue de  $190 \text{ ml g}^{-1}$ , estimándose una concentración de fosfato en equilibrio (EPCo) de  $0.78 \mu\text{mol L}^{-1}$  frente a valores de  $20 \text{ ml g}^{-1}$  para K y de  $1.34 \mu\text{mol L}^{-1}$  de EPCo en condiciones anóxicas. De igual modo, en presencia de oxígeno la concentración de fósforo que se encuentra adsorbida en condiciones de equilibrio es muy superior a las encontradas en condiciones anóxicas ( $0.15$  y  $0.027 \mu\text{mol g}^{-1}$ , respectivamente).

Los coeficientes de adsorción obtenidos fueron utilizados en las ecuaciones de difusión (Krom y Berner, 1980). Asumiendo una densidad media de las partículas del sedimento de  $2.3 \text{ g cm}^{-3}$  y una porosidad de 0.90, resulta que el flujo de fosfato en condiciones anóxicas es hasta 10 veces superior al estimado en presencia de oxígeno.

## ABSTRACT

It has been performed a set of experiments in oxic and anoxic conditions in order to quantify the different kinetic parameters involved on phosphorus adsorption in the sedi-

ment. The coefficient of adsorption (K) in oxic conditions was  $190 \text{ ml g}^{-1}$ , with a value of EPCo (equilibrium phosphate concentration) around  $0.78 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  in contrast to those obtained in anoxic conditions ( $K=20 \text{ ml g}^{-1}$ ;  $\text{EPCo}=1.34 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ). In this way, the phosphorus adsorbed in equilibrium in oxic conditions was higher than the obtained in anoxic ones ( $0.15$  y  $0.027 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1}$ , respectively).

The obtained values of K were used in the diffusion equations (Krom and Berner, 1980). Assuming a mean density of the particles of the sediment of  $2.3 \text{ g cm}^{-3}$  and a porosity of 0.90 the flux of phosphate in anoxic conditions was 10 times higher than in oxic ones.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El estuario del río Palmones se encuentra en la bahía de Algeciras ( $36^{\circ} 10' \text{ Lat.}$ ,  $35^{\circ} 27' \text{ Long.}$ ) en el término municipal de los Barrios (Cádiz). Está formado por materiales limosos pertenecientes a formaciones postorogénicas del Cuaternario. El contenido del sedimento es de un 75% de arenas, 20% limos y 5% arcillas, considerándose de tipo arenoso-limoso. Más detalles sobre el mismo puede encontrarse en Clavero (1992).

Las muestras de sedimento fueron tomadas en septiembre de 1989 mediante cores de PVC (20 cm de diámetro interno, 20 cm de longitud) y transportado en nevera portátil a  $4^{\circ}\text{C}$ . En el laboratorio el sedimento fue depositado en tres acuarios (dimensiones  $20 \times 20 \times 20 \text{ cm}$ ) y preservado en obscuridad a temperatura constante ( $15^{\circ}\text{C}$ ) durante 10 horas. A continuación se le añaden agua procedente del estuario a las que previamente se les determinó las concentraciones de fosfato. La proporción sedimento/agua en los acuarios fue de 1/5. El sistema fue dejado en equilibrio durante 24 horas. Tras este tiempo una cantidad conocida de fosfato fue añadida a partir de una solución stock de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Este fue considerado como el tiempo cero para cada experimento. Durante cinco horas, en intervalos de 30 minutos, se tomaron muestras de sedimento mediante pequeños cores de cristal (5 cm de diámetro y 10 cm de longitud). Una vez extraído el sedimento de los cores, se fraccionó en dos muestras; una de ellas fue utilizada para extraer el agua intersticial mediante centrifugación (3000 rpm durante 15 minutos), la cual era filtrada de inmediato (Whatman GF/C) para determinar la concentración de fosfato soluble siguiendo el método de Fernández et al. (1985) en Technicon AAII. La otra submuestra fue utilizada para determinar peso seco ( $75^{\circ}\text{C}$ ) y fósforo total en el sedimento previa digestión ácida (Sommers y Nelson, 1972).

Este procedimiento fue seguido tanto para los experimentos realizados en presencia de oxígeno como en los de anoxia. Para éstos últimos se burbujeó, de modo continuo, nitrógeno al agua de los acuarios.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evolución en el tiempo de las concentraciones de fosfato en solución se presentan en la Figura 1, que sigue una cinética de saturación, similar a la encontrada en estos

tipos de experimentos (Froelich, 1988). Para la obtención de los resultados obtenidos en los experimentos de adsorción de fósforo fue utilizada (Berner, 1980) la relación lineal entre el fósforo disponible para ser intercambiado por el sedimento ( $P_s$ ,  $\mu\text{mol g}^{-1}$ ) y la concentración de fosfato en solución ( $P_d$ ,  $\mu\text{mol l}^{-1}$ ). Dicha relación está relacionada con el coeficiente de adsorción lineal ( $K$ ,  $\text{ml g}^{-1}$ ) según la expresión:

$$\Delta P_s \approx K \Delta P_d.$$

En la Figura 2 se presentan los resultados obtenidos, tanto en presencia de oxígeno como en anoxia. En el primer caso el coeficiente de adsorción obtenido fue de  $190 \text{ ml g}^{-1}$ , estimándose una concentración de fosfato en equilibrio (EPCo) de  $0.78 \mu\text{mol l}^{-1}$ , que viene a representar (Siever y Woodward, 1973; Mayer y Gloss, 1980) la condición de equilibrio en este sistema, o dicho de otro modo, la concentración a la cual no se produce intercambio o éstos tienen un balance de cero. Por el contrario, en anoxia, el coeficiente de adsorción es casi diez veces menor al obtenido en presencia de oxígeno, con un valor de  $20 \text{ ml g}^{-1}$  pero con una concentración de fosfato en equilibrio de  $1.34 \mu\text{mol l}^{-1}$ .

TABLA I

Comparación de los valores del coeficiente de adsorción ( $K$ ,  $\text{ml g}^{-1}$ ); concentración de fosfato en equilibrio (EPCo,  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) y fósforo adsorbido en condiciones de equilibrio ( $P_s$ -EPCo,  $\mu\text{mol g}^{-1}$ ) en diferentes localidades. (\* en condiciones anóxicas).

Localidad	K	EPCo	$P_s$ -EPCo	Referencia
Río Colorado	600	1.29	0.7	Mayer y Gloss, 1980
Río Amazonas	—	0.3	—	Gessner, 1980
Estuario L. Island*	1.14	0.15	—	Krom y Berner, 1980
Estuario L. Island	50.15	—	—	Krom y Berner, 1980
Estuario Palmones*	20	1.34	0.03	Presente trabajo
Estuario Palmones	190	0.78	0.15	"

Una información adicional obtenida en este tipo de representación es la de poder estimar la concentración de fosfato (Krom y Berner, 1980) adsorbida en el equilibrio ( $P_s$ -EPCo) que es función (Froelich, 1988) del coeficiente de adsorción y de la concentración de fosfato en equilibrio:

$$P_s\text{-EPCo} \approx K \text{EPCo}$$

Realizando los cálculos oportunos, en presencia de oxígeno la concentración de fosfato que se encuentra adsorbida es de  $0.15 \mu\text{mol g}^{-1}$  frente a  $0.027 \mu\text{mol g}^{-1}$  en el experimento realizado en anoxia.



El coeficiente de adsorción calculado puede ser utilizado en las ecuaciones de difusión. Krom y Berner (1980) apuntan la siguiente expresión de la ecuación de difusión corregida por el mencionado coeficiente.

$$J \approx \frac{D_s}{1 + K} \frac{\partial C}{\partial X}$$

Para que la ecuación resulte homogénea, en cuanto a dimensiones, Rosenfeld (1979) propone modificar el valor del coeficiente de adsorción obtenido en función de la densidad media ( $d$ ) de las partículas del sedimento y de la porosidad ( $\emptyset$ ) del mismo:

$$K' \approx K \cdot d \frac{1 - \emptyset}{\emptyset}$$

Asumiendo una densidad media de las partículas del sedimento de  $2.3 \text{ g cm}^{-3}$  y una porosidad de 0.90 (Clavero, 1992), resulta un valor de  $K'$  de 48 en presencia de oxígeno frente a 5 en anoxia. Si se considera dos medios, con igual gradiente de concentración y porosidad, resulta que el flujo, en condiciones anóxicas es hasta 10 veces superior al que se pudiera obtener en presencia de oxígeno. así, incluyendo la constante de adsorción en las ecuaciones de difusión obtenidas para el estuario (Clavero et al., 1991, 1992) resulta un flujo de hasta  $28.8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  debido a procesos de adsorción-deadsorción de fósforo a partículas en condiciones anóxicas, frente a  $3 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  en presencia de oxígeno

Los experimentos realizados tanto en presencia de oxígeno como en anoxia mostraron valores distintos en los distintos parámetros tenidos en cuenta. Así en presencia de oxígeno se obtuvo un coeficiente de adsorción de hasta  $190 \text{ ml g}^{-1}$ . Generalmente se ha relacionado una alta capacidad de adsorción de fósforo en el sedimento con los compuestos de hierro y aluminio (Borggaard, 1983; Wood et al., 1984; Richardson, 1985) cuyo resultado se refleja en altos valores del coeficiente de adsorción ( $K$ ) y bajas concentraciones de equilibrio (EPCo). Como se puede observar en la Tabla I la EPCo obtenida, para un valor de  $K=190 \text{ ml g}^{-1}$ , fue de  $0.78 \mu\text{mol l}^{-1}$ , que se puede interpretar como una alta afinidad por parte del fosfato para unirse a compuestos de hierro, aluminio o calcio (Chen et al., 1973; Blanchar y Stearman, 1984).

Por otro lado los valores de concentración de equilibrio del fosfato son bastante inferiores a los encontrados en el agua intersticial del sedimento, lo que sugiere (Froelich, 1988) que las condiciones del fósforo en el estuario se encuentran alejadas del equilibrio ya que al ser la diferencia positiva (mayor concentración en el agua intersticial) se presume que está ocurriendo una adsorción adicional de fósforo a partículas (Froelich, 1988).

Una limitación en este tipo de experimentos es su duración. Barrow (1983a) explica que existen dos procesos en estos mecanismos con distinta escala de tiempo. Por una parte el fósforo es rápidamente adsorbido a la superficie de partículas en una escala de tiempo de minutos a horas mientras que el segundo proceso, difusión al interior del agregado sólido tiene una duración de meses e incluso años (Barrow, 1983b; Crosby et al., 1984; Bolan et al., 1985). Por otro lado, la mayoría de los trabajos realizados en sedimentos de estuarios

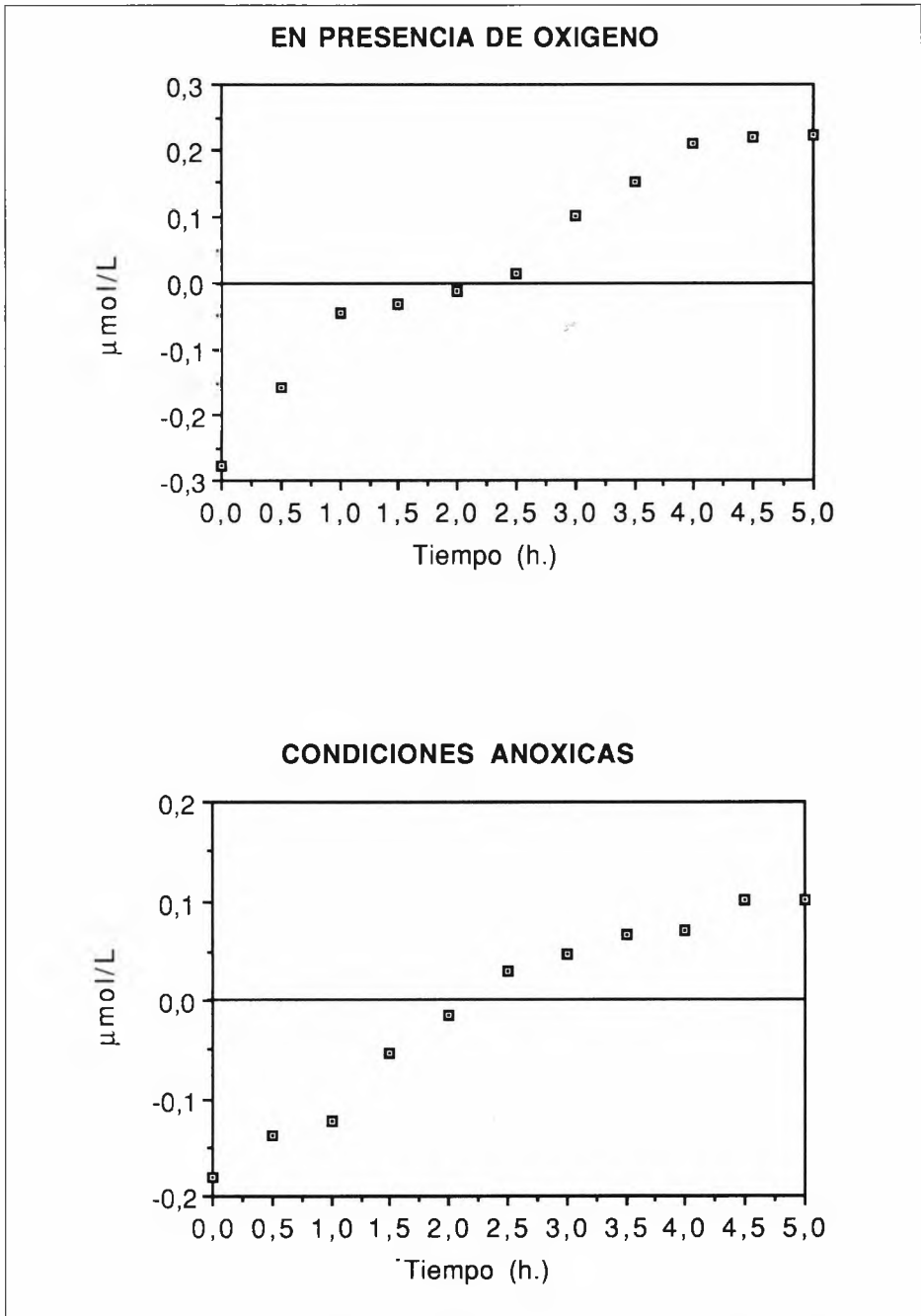


Figura 1.- Evolución de las concentraciones de fosfato, en presencia y ausencia de oxígeno, durante cinco horas.

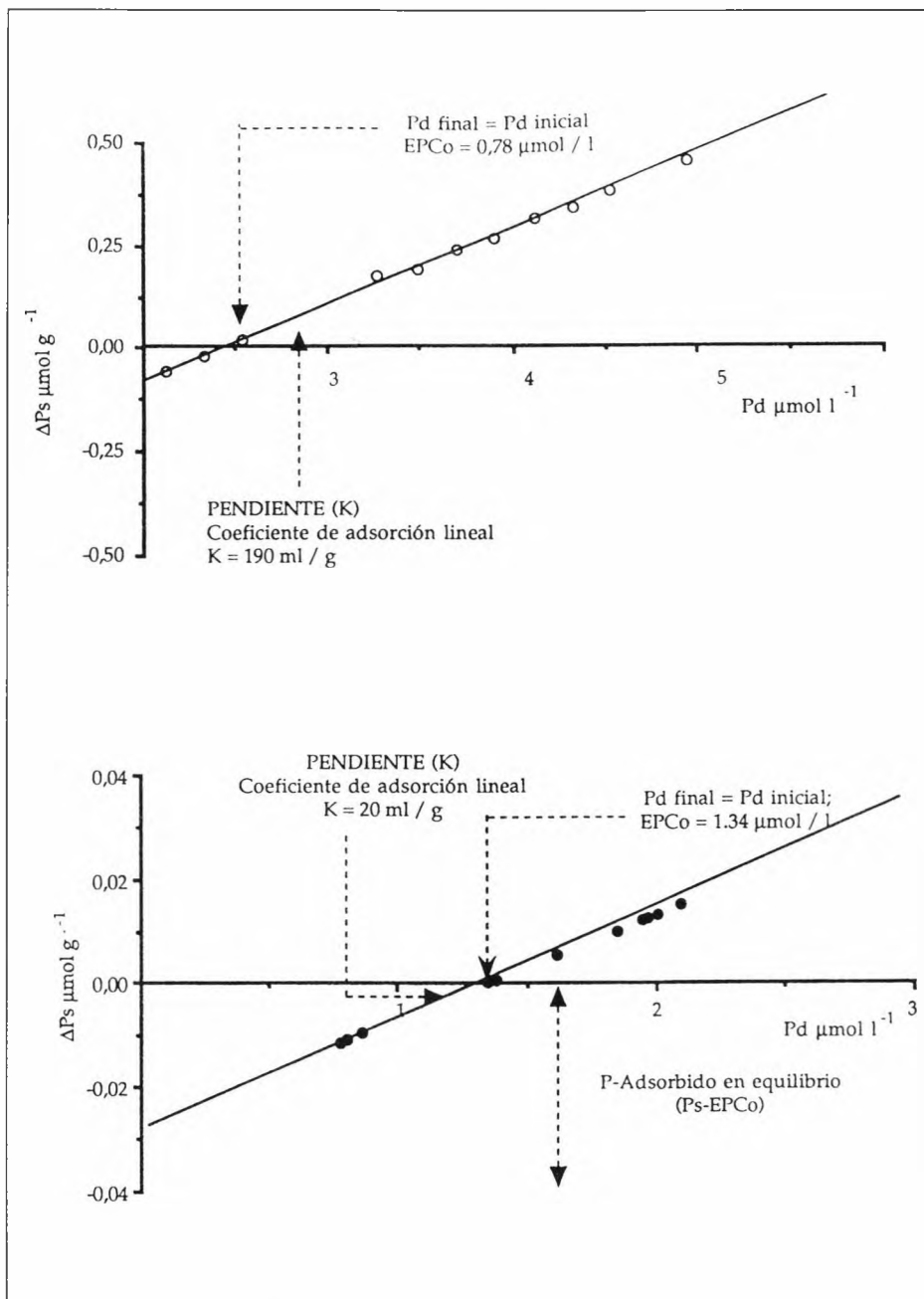


Figura 2.- Cálculo de los distintos parámetros cinéticos de adsorción de fósforo en el sedimento. En la parte superior se presentan los obtenidos en presencia de oxígeno y en la inferior en condiciones anóxicas.

(Froelich, 1988) se han centrado en estudiar el control del paso a formas solubles de fósforo a partir de las formas minerales del mismo (Vieillard y Tardy, 1984). Conociendo la variedad de las distintas formas de fósforo, así como las constantes y condiciones de equilibrio parece relativamente fácil calcular la disponibilidad de fosfato en el sedimento y que fracción del mismo puede ser transportada a la columna de agua (Chase y Sayles, 1984; Klotz, 1985). Sin embargo resulta que las concentraciones medidas no coinciden con las esperadas a partir de los procesos de solubilización de fósforo (Emerson y Widmer, 1978). Este hecho es especialmente importante en el estuario del río Palmones (Clavero, 1992) donde la importancia de la bioturbación se refleja en la dinámica de nutrientes, sobre todo en estuarios poco profundos, como el estudiado, donde las concentraciones de fosfato soluble en el agua intersticial del sedimento son superiores a las encontradas en el agua sobre el mismo, por lo que se define un gradiente entre ambas fases regulando los mecanismos y disponibilidad de fósforo.

Este trabajo ha sido finalizado por el proyecto AMB96-0782 de la CICYT.

## BIBLIOGRAFIA

- Barrow, N.J., 1983a. On the reversibility of phosphate sorption by soils. *J. Soil Sci.*, 34: 751-758
- Barrow, N.J., 1983b. A mechanistic model for describing the sorption and desorption of phosphate by soil. *J. Soil. Sci.*, 34: 733-750.
- Berner, R.A., 1980 *Early diagenesis*. Princeton Press, Princeton, 241pp.
- Blanchar, R.W. y Stearman, G.K., 1984. Ion products and solid-phase activity to describe phosphate sorption by soils. *Soil. Sci. Soc. Am. J.*, 48: 1253-1258.
- Bolan, N.S., Barrow, J. y Posner, M., 1985. Describing the effect of time of sorption of phosphate iron and aluminium hydroxyoxides. *J. Soil Sci.*, 36: 187-197.
- Borggaard, O.K., 1983. The influence of iron oxides on phosphate adsorption by soil. *J. Soil. Sci.*, 34: 333-341.
- Chase, E.M. y Sayles, F.L., 1980. Phosphorus in suspended sediments of the Amazon River. *Est. Coast. Shelf Sci.*, 11:383-391.
- Chen, R., Butler, J.N. y Stumm, S., 1973. Kinetic study of phosphate reactions with aluminium oxide and kaolinite. *Environ. Sci. Technol.*, 7: 327-732.
- Clavero, V., Niell, F.X. y Fernandez, J.A., 1991. Effects of *Nereis diversicolor* O.F. Müller abundance on the dissolved phosphate exchange between sediment and overlying water in Palmones River Estuary (Southern Spain). *Est. Coast. Shelf Sci.*, 33(2): 193-202.
- Clavero, V., Niell, F.X. y Fernandez, J.A., 1992. Bioturbation by *Nereis* sp. and its effects on the phosphate flux across the sediment-water interface in Palmones River Estuary. *Hydrobiol.*, 235/236: 387-392.
- Clavero, V., 1992. Estudio experimental y modelo de intercambio de fosfato en la interfase sedimento-agua en el estuario del río Palmones. Tesis Doctoral. Universidad de Málaga. 206 pp.

- Crosby, S.A., Millujard, G.E., Butler, E.J., Turner, D.R. y Whitfield, M., 1984. Kinetic of phosphate adsorption by iron oxyhydroxides in aqueous systems. *Est. Coast. Shelf Sci.*, 19: 207-270.
- Emerson, R. y Widmer, G., 1978. Early diagenesis in anaerobic lake sediment. 2 Thermodynamic and kinetic factors controlling the formation of iron phosphate. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 42: 1307-1316.
- Fernandez, J.A., Niell, F.X. y Lucena, J., 1985. A rapid and sensitive automated determination of phosphate in natural waters. *Limnol. Oceanogr.*, 30(1): 227-230.
- Froelich, P.N., 1988. Kinetic control of dissolved phosphate in natural rivers and estuaries: primer on the phosphate buffer mechanisms. *Limnol. Oceanogr.* 33(4/2): 649-668.
- Gessner, F., 1960. Untersuchungen über den phosphathaushalt des Amazonas. *Inter. Rev. Gesamten Hydrobiol.*, 45; 399-345.
- Klotz, R.L., 1985. Factors controlling phosphorus limitation in stream sediment. *Limnol. Oceanogr.*, 30: 543-553.
- Krom, M.D. y Berner, R.A., 1980. Adsorption of phosphate in anoxic marine sediments. *Limnol. Oceanogr.*, 25(5): 797-806.
- Mayer, T y Gloss, S.P., 1980. Buffering of silica and phosphate in a turbid river. *Limnol. Oceanogr.*, 25(1): 12-22.
- Richardson, C.J., 1985. Mechanisms controlling phosphorus retention capacity in freshwater wetlands. *Science*, 288: 1424-1247.
- Rosenfeld, J.K., 1979. Ammonium adsorption in nearshore anoxic sediments. *Limnol. Oceanogr.*, 24: 356-364.
- Siever, R. y Woodford, N., 1973. Sorption of silica by clay minerals. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 37: 717-724.
- Sommers, L.E. y Nelson, D.W., 1972. Determination of total phosphorus by a rapid perchloric acid procedure. *Soil. Sci. Soc. Am. Proc.*, 36: 902-904.
- Vieillard, P. y Tardy, Y., 1984. Thermochemical properties of phosphate. En: *Phosphate minerals*. J.O. Nriagy & P.B. Moore eds.
- Wood, T.F., Borman, H. y Voight, G.K., 1984. Phosphorus cycling in a northern hardwood forest: biological and chemical control. *Science*, 223: 391-3.

## ADSORCION DE LINEAL ALQUILBENCENOSULFONATO SODICO (LAS) EN SEDIMENTOS MARINOS.

*J.A. Rubio<sup>a</sup>, E. González-Mazor<sup>a</sup> y A. Gómez-Parra<sup>b</sup>*

<sup>a</sup>Departamento de Química Física, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad de Cádiz, 11510 Puerto Real (Cádiz), España.

<sup>b</sup>Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (CSIC), Campus Rio San Pedro s/n, 11510 Puerto Real (Cádiz), España.

### RESUMEN

Se ha caracterizado la adsorción, tanto del LAS comercial como de sus diferentes homólogos por separado, sobre sedimentos marinos procedentes de la Bahía de Cadiz.

Los datos experimentales obtenidos se ajustan al modelo de Freundlich, encontrándose valores del coeficiente de adsorción  $K$ , que varían desde 96 para el homólogo fenil $C_{10}$  hasta 1112 para el homólogo fenil $C_{13}$ , cuando  $x$  se expresa en  $\mu\text{g/g}$  y  $c$  en  $\text{mg/L}$ .

En el intervalo de temperaturas estudiado (5 - 25 °C) se observa una pequeña disminución de  $K$  al aumentar la temperatura.

La dependencia de  $K$  con la salinidad es significativa. Para el homólogo estudiado, fenil  $C_{11}$ , esta dependencia es lineal, triplicándose el valor de  $K$  al pasar de salinidad 0 a 75.

### ABSTRACT

The adsorption of commercial grade LAS and its different homologous compounds has been characterized in marine sediments from the Bay of Cadiz (SW Spain).

Experimental data was fitted to a Freundlich model, and the adsorption coefficient  $K$  ranged from 96 for the homologous  $C_{10}$ -LAS to 1112 for the homologous  $C_{13}$ -LAS, when

the adsorption was measured in  $\mu\text{g LAS/g}$  of sediment and the concentration of LAS is expressed in  $\text{mg/L}$ .

A slight decrease in  $K$  was observed at higher temperatures within the range studied ( $5 - 25^\circ\text{C}$ ). There existed a significant dependence of  $K$  on salinity. This dependence is linear for the homologous  $\text{C}_{11}$ -LAS, achieving a three-fold increment when changing salinity from 0 to 75.

## INTRODUCCION

Para poder establecer el comportamiento de los microcontaminantes orgánicos en el medio natural, es esencial el conocimiento de los procesos involucrados en la distribución entre distintos compartimentos del ecosistema. Entre éstos productos orgánicos sintéticos, merecen una especial atención los lineal alquilbenceno sulfonato sódico (LAS) debido a su elevada utilización (alrededor de 4,5 g por habitante y día en los países desarrollados) como tensioactivos en detergentes y agentes de limpieza.

La adsorción del LAS por sedimentos naturales es una cuestión conocida. En su mayor parte, estos estudios se han llevado a cabo con sedimentos de río (Hon-Nami y Hanya, 1980; Urano *et al.*, 1984; Matthijs y De Henau, 1985; Takada y Ishiwatari, 1987; Kobuke, 1988; Amano *et al.*, 1989; Amano *et al.*, 1992; Amano y Fukushima, 1993) o con componentes de suelos (principalmente óxidos metálicos y arcillas; Matthijs y De Henau, 1985).

La modelización del fenómeno de adsorción permite estimar la proporción del tensioactivo vertido al medio, que se retira de la columna de agua y se acumula en un lugar donde su velocidad de degradación es sustancialmente distinta (Takada y Ogura, 1992). El conocer las isoterms de adsorción permite, también, estimar la distribución del tensioactivo en forma disuelta y asociada a los sólidos en suspensión. Esto es importante con vistas a cuantificar la cantidad total de LAS que se dispersa en los sistemas acuáticos.

En lo que respecta al medio marino, la adsorción del LAS ha recibido hasta el momento una pequeña atención, a pesar que la concentración de LAS en los sedimentos, especialmente en las zonas costeras, comienza a ser considerable. Kikuchi *et al.* (1986), encontraron concentraciones de LAS entre 0.2 y  $69 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  en sedimentos de la Bahía de Tokio; Marcomini *et al.* (1988), citan valores entre 2 y  $20 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , para la laguna de Venecia; Takada y Ogura (1992), presentan valores entre 0.5 y  $24 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  en sedimentos procedentes del estuario Tamagawa en la bahía de Tokio. Estas zonas costeras están generalmente sometidas a una gran variabilidad en sus condiciones fisicoquímicas, algunas de las cuales, como la salinidad y la temperatura, pueden afectar en gran medida a los procesos de adsorción.

En el presente estudio discutimos los primeros datos acerca de la adsorción del LAS sobre sedimentos marinos. El estudio se ha llevado a cabo con un LAS comercial y con sus homólogos, entre  $\Phi\text{C}_{10}$  y  $\Phi\text{C}_{13}$ , por separado. Adicionalmente, se ha estudiado el efecto sobre la adsorción de la salinidad y de la temperatura.

## EXPERIMENTAL

### Material y métodos

El sedimento utilizado en los experimentos de adsorción fue tomado de una salina próxima a la Bahía de Cádiz (SW de España), en una zona que había sido dragada recientemente, y que mantuvo desde entonces una baja exposición al LAS. El sedimento fue secado a 80°C y tamizado. Sus características se muestran en la Tabla I.

Tabla I.

Características del agua utilizada en los ensayos de adsorción. Los valores indicados se refieren al agua original, a partir de la cual se prepararon las de distinta salinidad.

SEDIMENTO		AGUA	
C Orgánico (%)	1.44	Salinidad	36.2
N Orgánico (%)	0.161	pH	7.90
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (µg g <sup>-1</sup> )	235	HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (µM)	0.2
Fe (%)	4.05	LAS	n.d.
Mn (µg g <sup>-1</sup> )	235	HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (µM)	0.2
LAS (µg g <sup>-1</sup> )	<0.2	Ca <sup>2+</sup> (mM)	10.5
Limos (%)	35.5	Mg <sup>2+</sup> (mM)	80.2
Arena (%)	61.5		
Arcilla (%)	3.0		

El agua de mar utilizada se ha tomado de un pozo cerca de la costa y, consecuentemente, estaba prácticamente exenta de LAS. Algunas de sus principales características se muestran, también, en la Tabla I. El agua de mar se concentró en un rotavapor ( $t < 60^{\circ}\text{C}$ ) hasta una salinidad próxima a 75. El agua hipersalina obtenida fue filtrada a 0.45 µm (AP-40 Millipore), y por dilución con agua Milli-Q se obtuvieron las salinidades requeridas.

El LAS comercial utilizado y sus distintos homólogos fueron proporcionados por Petroquímica Española S.A. El porcentaje de sustancia activa y la distribución de los distintos homólogos se indica en la tabla II.

La adsorción fue determinada poniendo en contacto alrededor de 0.4 g de sedimento con 100 mL de solución de LAS en agua de mar de la salinidad adecuada en un frasco Pirex provisto con tapón de teflón. La concentración de LAS estuvo generalmente comprendida entre 0 y 1000 ppb. El sistema se llevó al equilibrio en un baño termostático provisto de agitación orbital. Los ensayos se realizaron a  $25 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  durante 19-20 h. Las fases se separaron por filtración a 0.45 µm usando filtros (AP-40 Millipore). La primera porción del filtrado se desechó, tomándose 50 mL para determinar la concentración de LAS de



**Tabla II.**

Porcentaje de materia activa y proporción de homólogos en las muestras de LAS utilizadas.

Compuesto	I.A.	φC10	φC11	φC12	φC13	φC14
φC10	12.00	99.49	—	—	—	—
φC11	26.35	5.50	93.61	0.79	—	—
φC12	25.18	0.62	14.21	84.38	0.79	—
φC13	21.10	0.21	0.52	9.93	75.11	—
φC14	28.44	0.21	0.42	1.02	16.52	76.16
LAS comercial	6.62	3.90	37.40	35.40	23.10	0.20

equilibrio. La duración de los ensayos para determinar la influencia de la temperatura en la adsorción fué de 7 horas y en ellos el control de temperatura fué de  $\pm 2^{\circ}\text{C}$ .

Los ensayos de desorción se llevaron a cabo en tubos de centrifuga de vidrio (Pyrex) de 100 mL provistos de tapón, usando una cantidad de sedimento y un volumen de solución mitad que la descrita antes. Después de alcanzado el equilibrio, el sedimento se separó de la solución de LAS sobrenadante por centrifugación a 3300 g durante 20 min a  $25^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente, se tomó una alícuota para analizar el LAS y el resto de la solución se retiró del tubo aspirando lentamente a través de una pipeta Pasteur. El sedimento se resuspendió con 50 mL de agua de mar sin LAS y se procedió como en los ensayos de adsorción. Esta operación se repitió dos veces.

En los experimentos de adsorción se llevó un blanco (solución de LAS sin sedimento) para verificar la inexistencia de biodegradación del LAS.

## ANALISIS DEL LAS

Los análisis de LAS fueron realizados de acuerdo con el método propuesto por González-Mazo *et al.*(1993).

El LAS fué analizado en un cromatografo Waters, con detector de fluorescencia a 225 nm de excitación y 295 nm de emisión. Cada homólogo era separado usando una columna Lichosorb RP-8-DB de 250 mm de longitud y 4.0 mm de diámetro interno, con un tamaño de partícula de 10  $\mu\text{m}$ ., y precolumnas de la misma fase estacionaria. El eluyente usado era perclorato sódico (10 g  $\text{L}^{-1}$ ) en metanol-agua (80:20) a una velocidad de flujo de 1.0 mL  $\text{min}^{-1}$ . El LAS se cuantificó en base al área del pico, usando patrones externos. Estos patrones fueron sometidos al mismo tratamiento que las muestras.

## RESULTADOS Y DISCUSION

La figura 1 muestra los resultados obtenidos para la adsorción de un LAS comercial a la salinidad de 36 y a una temperatura de 25°C. El ensayo que se muestra corresponde a un intervalo de concentración inicial de LAS entre 30 y 1000 ppb. En todos los casos, los datos se ajustan, como se muestra en la figura 1, a una isoterma de Freundlich linealizada del tipo:

$$\lg x = \lg K + n \lg C_e$$

donde  $x$  = cantidad de LAS adsorbido por unidad de adsorbente ( $\mu\text{g/g}$ ),

$C_e$  = concentración de equilibrio de LAS en solución ( $\text{mg/L}$ ).

$K$  = una constante para el sistema, relacionada con la energía de enlace. Puede ser definida como el coeficiente de distribución o sorción y representa la cantidad de LAS adsorbido en  $\mu\text{g/g}$  de sedimento por unidad de concentración.

$n$  = una medida de la intensidad de la adsorción

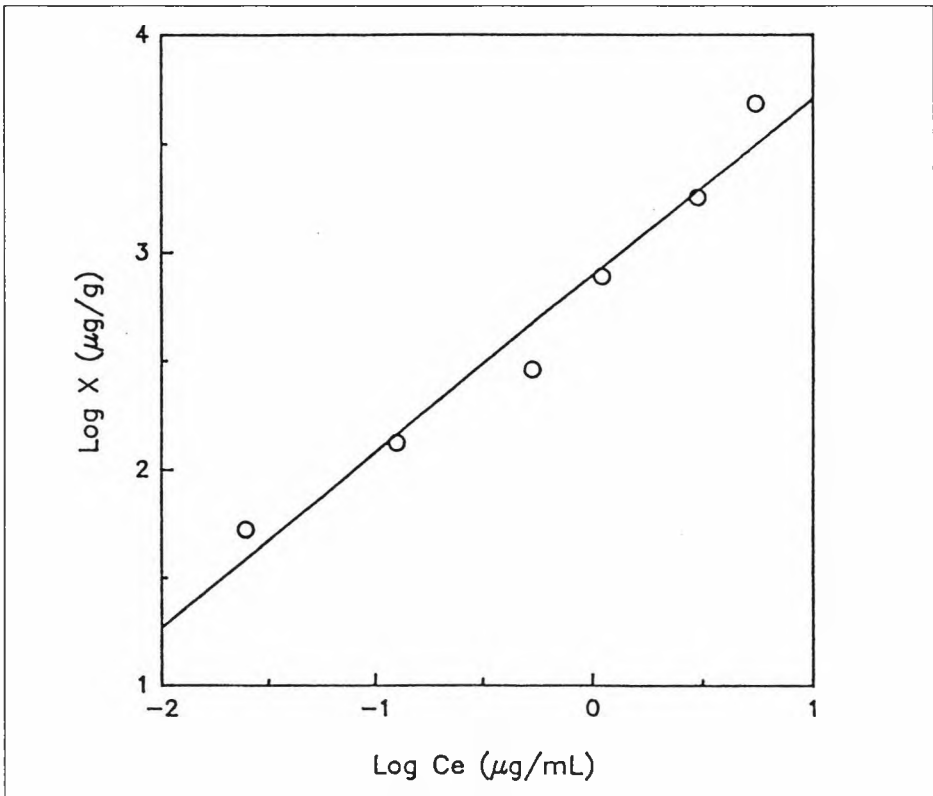


Figura 1. Linealización de la isoterma de Freundlich para la adsorción de un LAS comercial sobre un sedimento marino ( $S = 34$ ,  $T = 25^\circ\text{C}$ )

Hand y Willians (1987) han publicado un resultado similar (con  $n = 1$ ) usando sedimentos de río y concentraciones de LAS análogas a las empleadas por nosotros.

Sin embargo, los resultados obtenidos por otros autores con sedimentos de río pueden describirse satisfactoriamente por medio de las isothermas de Langmuir y Freundlich (Matthijs y De Henau, 1985). Las isothermas determinadas en éste trabajo, así como en el de Urano *et al.* (1984), se hicieron utilizando disoluciones de LAS a concentraciones del orden de  $\text{mg L}^{-1}$ .

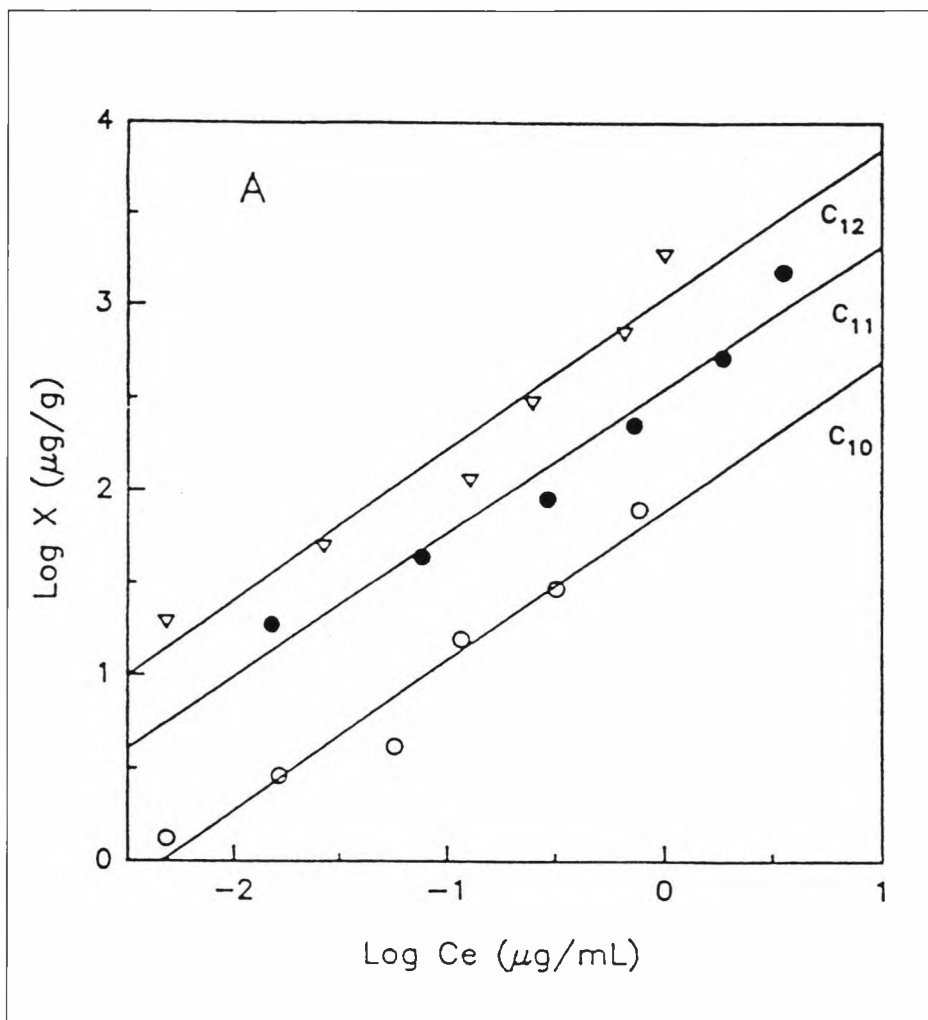


Figura 2. Linealización de las isothermas de Freundlich para la adsorción de diferentes homólogos del LAS.

La figura 2 muestra de manera separada las isotermas de adsorción obtenidas en el experimento anterior para los homólogos C<sub>10</sub> a C<sub>12</sub>. Los datos correspondientes al C<sub>13</sub> no se incluyen debido a que su cunatificación es muy imprecisa en el rango de concentraciones empleado. Esto está motivado por su pequeña proporción en el LAS comercial y su alta capacidad de adsorción.

Los resultados muestran que existe un aumento de K al aumentar la longitud de la cadena alifática (Tabla III). El valor de n fue similar para todos los homólogos en ambos ensayos.

**Tabla III.**

Valores de los parámetros de la isoterma de Freundlich en los diferentes ensayos realizados. A: adsorción de LAS comercial; B: adsorción de los homólogos por separado. x se expresa en µg de LAS/g de sedimento, y C en mg/L.

HOMOLOGOUS	EXPERIMENT	K	n	r <sup>2</sup>
φC10-LAS	A	78±18	0.81±0.08	0.98
φC11-LAS	A	350±52	0.77±0.08	0.98
φC12-LAS	A	1084±256	0.81±0.09	0.97
φC10-LAS	B	96±10	1.15±0.10	0.99
φC11-LAS	B	377±28	1.20±0.10	0.99
φC12-LAS	B	640±99	1.15±0.13	0.98
φC13-LAS	B	1112±267	0.99±0.16	0.95
φC11-LAS	C	142±59	1.38±0.29	0.92
φC12-LAS	C	655±131	0.99±0.09	0.99
φC13-LAS	C	1145±263	0.74±0.08	0.98

Desde un punto de vista cualitativo, estos resultados concuerdan con los obtenidos por Hand y Williams (1987) en sedimentos no marinos y son consistentes con el mecanismo sugerido para la adsorción de tensioactivos sobre sedimentos naturales (Di Toro et al., 1990. La secuencia que sigue el valor de K, (que es una medida de la energía de enlace entre el adsorbente y el adsorbato) al aumentar la longitud de la cadena, concuerda con la forma en que varían otras propiedades relacionadas con el grado de hidrofobicidad( Leo et al., 1971; citado en: Hand and Williams, 1987).

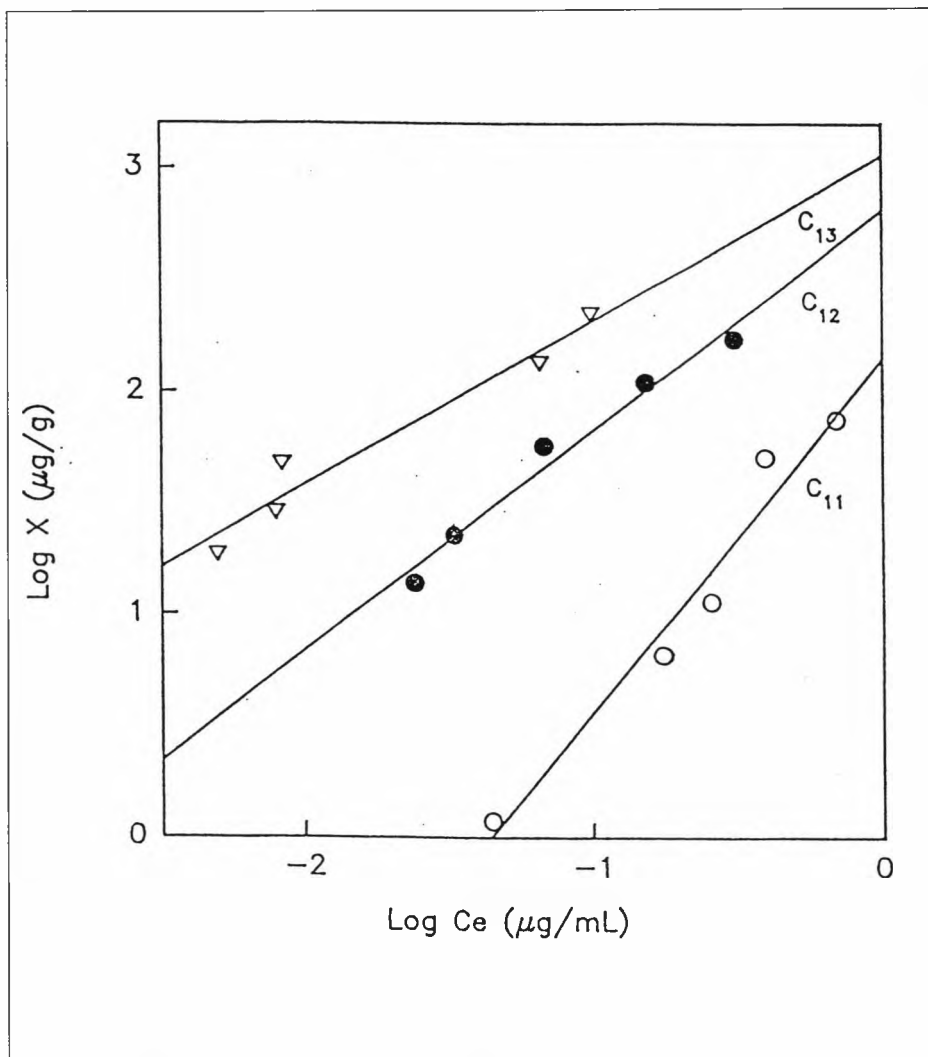


Figura 3. Linealización de las isothermas de Freundlich para la adsorción de los distintos homólogos por separado.

La figura 3 muestra las isothermas de adsorción de los homólogos C<sub>11</sub> a C<sub>13</sub> en ensayos realizados con cada uno de ellos por separado. Se ha encontrado que la forma en que varía K al pasar de un homólogo a otro es similar a cuando la adsorción se produce de manera conjunta. Para el valor de n se observa, en este caso, una cierta tendencia que podría tener relación con la forma en que la longitud de la cadena pueda afectar a alguno de los procesos implicados en el mecanismo de adsorción.

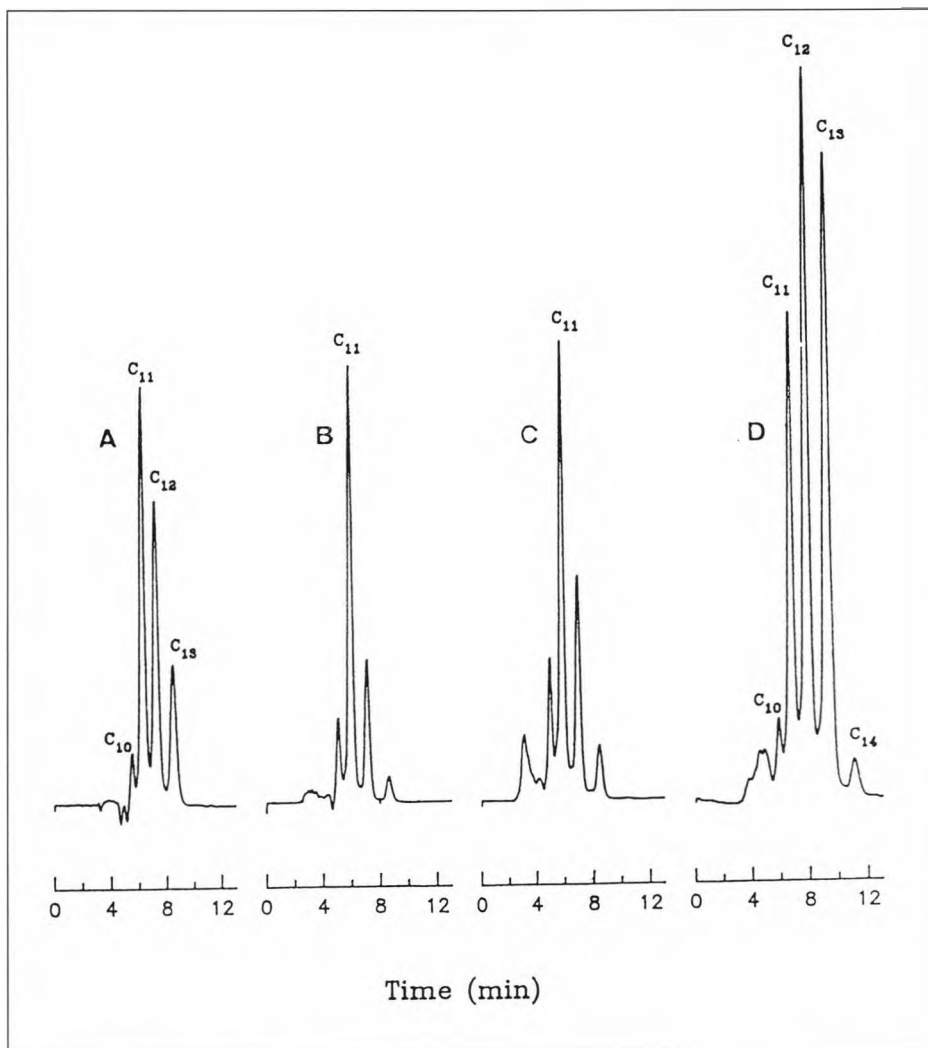
No obstante, los valores de los parámetros de la ecuación de Freundlich que se han obtenido están afectados de un error apreciable (tabla III), por lo que esta hipótesis debe contemplarse con reservas. La magnitud de los errores se debe a la incertidumbre experimental que se produce cuando se trabaja con concentraciones bajas de LAS (próximas a los valores ambientales). Esto es una limitación de la metodología analítica que hay que emplear y es difícil de eliminar.

Para los sedimentos fluviales se encontró (Hand y Williams, 1987; Marin *et al.*, 1994) que la adsorción del LAS es, en una extensión apreciable, un proceso reversible. En los experimentos realizados por nosotros, la cantidad de LAS que se recupera del sedimento tras sucesivos tratamientos con agua de mar es inferior al 6% de la cantidad adsorbida, en el caso del homólogo cuya capacidad de adsorción es menor ( $C_{10}$ ). Esta discrepancia puede tener un doble motivo: i) existe un aumento en el valor de la constante de adsorción al aumentar la fuerza iónica del medio (esto se discute posteriormente), y ii) en comparación con ensayos anteriores, nuestros experimentos de adsorción se han realizado en un intervalo de concentraciones bajas (< 1000 ppb) y con sedimentos que presentan una elevada superficie específica y un alto contenido en materia orgánica. Ambos factores afectan a la capacidad de adsorción del LAS.

La importancia de la adsorción como principal mecanismo a través del cual se elimina el LAS de la columna de agua en el medio marino, puede deducirse de los cromatogramas mostrados en la figura 4. Los cromatogramas B y C corresponden, respectivamente, al agua en equilibrio con el sedimento después de un ensayo de adsorción y a una muestra de agua de mar procedente de un vertido próximo a la Bahía de Cádiz. Puede observarse que ambos cromatogramas son muy similares y que, en comparación con un LAS comercial (fig. 4A), se aprecia una importante disminución en la proporción en que están presentes los homólogos de cadena más larga.

En la figura 4D se muestra un cromatograma de un extracto en metanol (Soxhlet, 24 hr) de una muestra de sedimento procedente del mismo lugar que la muestra de agua anterior. Estos sedimentos, que están en condiciones reductoras ( $E_h \approx -230$  mV), presentan una concentración de los homólogos C12 y C13 superiores al C11. Se aprecia, incluso, la presencia del homólogo C14, a pesar de que su concentración en los productos detergentes comerciales es muy pequeña. Desde un punto de vista medioambiental, la tendencia que siguen los distintos homólogos en el proceso de adsorción implica que se retiran de la columna de agua aquellos homólogos que son más fácilmente degradables en disolución. Posteriormente, estos compuestos se almacenan en una parte del ecosistema donde la velocidad de degradación del LAS en condiciones anóxicas es muy extremadamente lenta. La presencia de C14 en cantidades apreciables confirma esta última idea.

La constante de adsorción ( $K$ ) tiene una notable dependencia con la salinidad (fig. 5). En el intervalo estudiado, desde agua dulce hasta los valores máximos de salinidad que se alcanzan en verano en los esteros de la Bahía de Cádiz ( $S \approx 75$ ), el valor de  $K$  para el homólogo  $C_{11}$  varía en más de un 300%. Esto implica que, en ausencia de otros factores que afecten a su presencia en el medio (como es la degradación o la dispersión), el LAS tiende a acumularse en los sedimentos de las zonas que presentan un mayor estancamiento.



**Figura 4.** Cromatogramas obtenidos, siguiendo la metodología descrita, para:  
 A) Un patrón de LAS ; B) agua en equilibrio con el sedimento, tras un ensayo de adsorción; C) agua de un caño próximo a la Bahía de Cádiz, y D) extracto en metanol de una muestra de sedimento superficial del lugar donde se tomó la muestra de agua.

La dependencia de K con la temperatura es pequeña (fig.5). Existe una disminución de la adsorción a medida que aumenta T, aunque para el intervalo de variación que suelen experimentar las aguas costeras (5 - 25°C) la variación de K es muy pequeña. No obstante, esto habrá de ser confirmado con experimentos de mayor duración, sobre todo a bajas temperaturas.

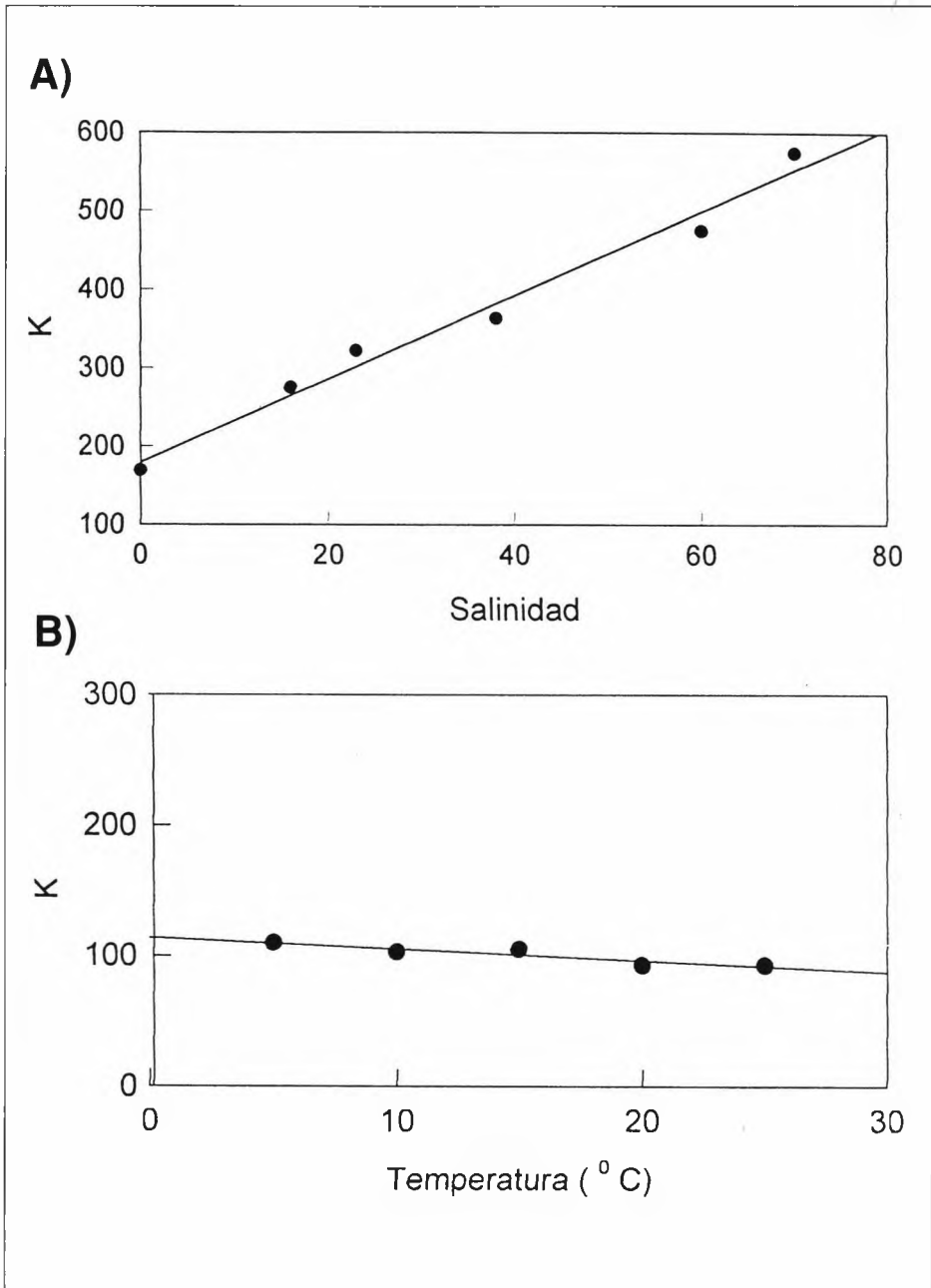


Figura 5. A) Variación de la constante de adsorción del homólogo C<sub>11</sub> del LAS con la salinidad. B) Variación de la constante de adsorción del homólogo C<sub>11</sub> del LAS con la temperatura.



## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado dentro de un programa de investigación suscrito por Petroquímica Española S.A. con el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (nº 3897/91) y la Universidad de Cádiz (nº 9/91).

## REFERENCIAS

- Amano, K., Fukushima, T., Inaba, K., Nakasugi, O., 1989. Adsorption of Linear Alkylbenzenesulfonates with the Suspended Solids in Natural Aquatic Systems. *Jap. J. Wat. Poll. Res.*, 12: 505-515.
- Amano, K., Fukushima, T., Nakasugi, O., 1992. Diffusive exchange of linear alkylbenzenesulfonates (LAS) between overlying water and bottom sediment. *Hydrobiología*, 235/236: 491-499.
- Amano, K., Fukushima, T., 1993. Partitioning of Linear Alkylbenzenesulfonates in Natural Water and Sediment. *J. Environ. Sci. Health.*, A28: 683-696.
- Di Toro, D.M., Dodge, L.J., Hand, V.C., 1990. A model for Anionic Surfactant Sorption. *Environ. Sci. Technol.*, 24: 1013-1020.
- González-Mazo, E., Quiroga, J.M., Sales, D. y Gómez-Parra, A. 1993. Determinación de alquilbencenosulfonato lineal en agua y sedimentos marinos por cromatografía líquida de alta resolución. *Series de Química Oceanográfica. Serie II. Volumen 2/3*: pag. 60 a 76.
- Hand, V.C., Williams, G.K., 1987. Structure-Activity Relationships for Sorption of Linear Alkylbenzenesulfonates. *Environ. Sci. Technol.*, 21: 370-373.
- Hand, V.C., Rapaport, R.A., Pittinger, C.A., 1990. First validation of a model for the adsorption of linear alkylbenzenesulfonate (LAS) to sediment and comparison to chronic effects data. *Chemosphere*, 21: 741-750.
- Hon-nami, H., Hanya, T., 1980. Linear alkylbenzene sulphonates in river, estuary and bay water. *Water Res.*, 14: 1251-1256.
- Kikuchi, M., Tokai, A., Yoshida, T., 1986. Determination of trace levels of linear alkylbenzenesulfonates in the marine environment by high-performance liquid chromatography. *Wat. Res.*, 20: 643-650.
- Liu, Z., Edwards, D.A., Luthy, R.G., 1992. Sorption of Non-ionic surfactants onto soil. *Wat. Res.*, 26: 1337-1345.
- Marcomini, A., Pavoni, A., Sfriso, A., Orio, A. A., 1988. Aromatic Surfactants in the marine environment: analysis and occurrence of LAS, NPEO, and NP. In: CEP Consultants Ltd. (Editors), *Proceedings of the 3rd International Conference on Environmental Contamination, Venice 1988*. Edinburgh, pp. 94-98.
- Marin, M.G., Pivotti, L., Campesan, G., Turchetto, M., Tallandini, L., 1994. Effects and Fate of sediment-sorbed linear alkylbenzene sulphonate (LAS) on the bivalve mollusc *Mytilus Galloprovincialis* Lmk. *Wat. Res.*, 28: 85-90.

- Matthijs, E., De Henau, H., 1985. Adsorption and Desorption of LAS. *Tenside Detergents*, 22: 299-304.
- Takada, H., Ogura, N., 1992. Removal of linear alkylbenzenesulphonates (LAS) in the Tamagawa Estuary. *Marine Chemistry*, 37: 257-273.
- Urano, K., Saito, M., Murata, C., 1984. Adsorption of surfactants on sediments. *Chemosphere*, 13: 293-300.



# INFLUENCIA DE LAS BACTERIAS EN LA DISPONIBILIDAD DE FOSFATO EN EL SEDIMENTO DEL ESTUARIO DEL RIO PALMONES.

*Vicente CLAVERO<sup>1</sup>, J. Antonio FERNÁNDEZ<sup>2</sup> y F. Xavier NIELL<sup>1</sup>*

1. Departamento de Ecología. 2. Departamento de Biología Vegetal.

Universidad de Málaga. Facultad de Ciencias. Campus de Teatinos.

29071. Málaga

**Palabras claves:** Estuario, sedimento, fósforo, bacterias.

## RESUMEN

Una cantidad importante de fósforo forma parte de la biomasa bacteriana que se encuentra en los primeros centímetros del sedimento. En el estuario del Río Palmones se contabilizan hasta  $9 \times 10^9$  bacterias por gramos de peso seco de sedimento (Clavero, 1992). Con el fin de poner de manifiesto la influencia de las mismas en la disponibilidad de fosfato en el sedimento se realizaron una serie de experimentos con medios esterilizados y medios sin tratar, en los cuales fueron calculados los flujos de fosfato entre el sedimento y el agua y los cambios en las concentraciones de fósforo total en el sedimento. En presencia de bacterias los flujos debidos a difusión fueron hasta 70 veces superiores en relación a los calculados en medios esterilizados, siendo las diferencias de fosfato encontradas en ambos medios de hasta un 20%.

Por otra parte, el contenido de fósforo total en el sedimento se incrementa en presencia de bacterias, mientras que en ausencia de las mismas el balance calculado es de pérdidas.

## ABSTRACT

An important amount of the total phosphorus in the first centimeters of the sediment is found forming part of bacterial biomass. In the estuary of Palmones River a bacterial density up to  $9 \times 10^9$  /g dw has been estimated (Clavero, 1992). A set of experiments has been designed in order to demonstrate their influence on the availability of phosphate in the sediment, using sterilized and non-sterilized media, where fluxes of phosphate between sediment and water and changes in total phosphorus in the sediment has been estimated. In the presence of bacteria, fluxes were 70 times higher than in sterilized conditions, with an absolute difference of concentration between the two conditions up to 20%. Moreover, the total phosphorus content in the sediment increased in the presence of bacteria whereas in sterilized conditions a net loss of phosphorus has been calculated.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El estuario del río Palmones se encuentra en el término municipal de Los Barrios (Algeciras, Cádiz). Es un estuario poco profundo, con rango de salinidad comprendido entre el 29 y 35 ‰ y sometido a vaciado diario de marea. Una descripción más exhaustiva del estuario se encuentra en Clavero (1992).

Las muestras de sedimento fueron tomadas mediante cores de PVC de 20 cm de longitud e igual diámetro y las de agua mediante botellas de 5 litros de capacidad. En el laboratorio se dispusieron cuatro acuarios (20x20x20 cm) a los cuales se les depositó hasta una altura aproximada de 15 cm sedimento procedente del estuario, a dos de ellos sin tratar y a los otros sedimento esterilizado en autoclave. El volumen de agua añadido a todos fue idéntico, 150 ml. Los acuarios se situaron en cámara a temperatura constante (15°C) y se dejó transcurrir un día hasta el inicio del experimento. Transcurrido este tiempo, se tomaron muestras a diario de agua mediante jeringuilla estéril de 20 ml de capacidad y de sedimento mediante cores de 5 cm de diámetro y 10 de longitud. La duración del experimento fue de 12 días. Las muestras de agua fueron filtradas de inmediato (Whatman GF/C) y analizadas por el método de Fernández et al., (1985) para determinar la concentración de fosfato en Technicon AAI.

Por su parte, de los cores se utilizaron porciones de 2 cm de profundidad. A cada una de éstas se les determinó en número de bacterias en el agua intersticial, previa centrifugación a 3000 rpm durante 15 minutos, siguiendo la metodología de Hobie et al., (1977) y recuento en microscopio de fluorescencia Leitz. Del agua intersticial también se determinó la concentración de fosfato, filtrando la misma (Whatman GF/C) y siguiendo igual metodología analítica que la del agua sobre el sedimento. Otro core fue utilizado para la determinación del contenido de fósforo total en el sedimento mediante digestión ácida (Sommers y Nelson, 1972).

Las concentraciones de fosfato soluble en el agua y agua intersticial, respectivamente, fueron utilizadas para la estimación del flujo en la interfase sedimento-agua (Aller et al., 1985) y los flujos a partir de las ecuaciones de difusión (Krom y Berner, 1980).

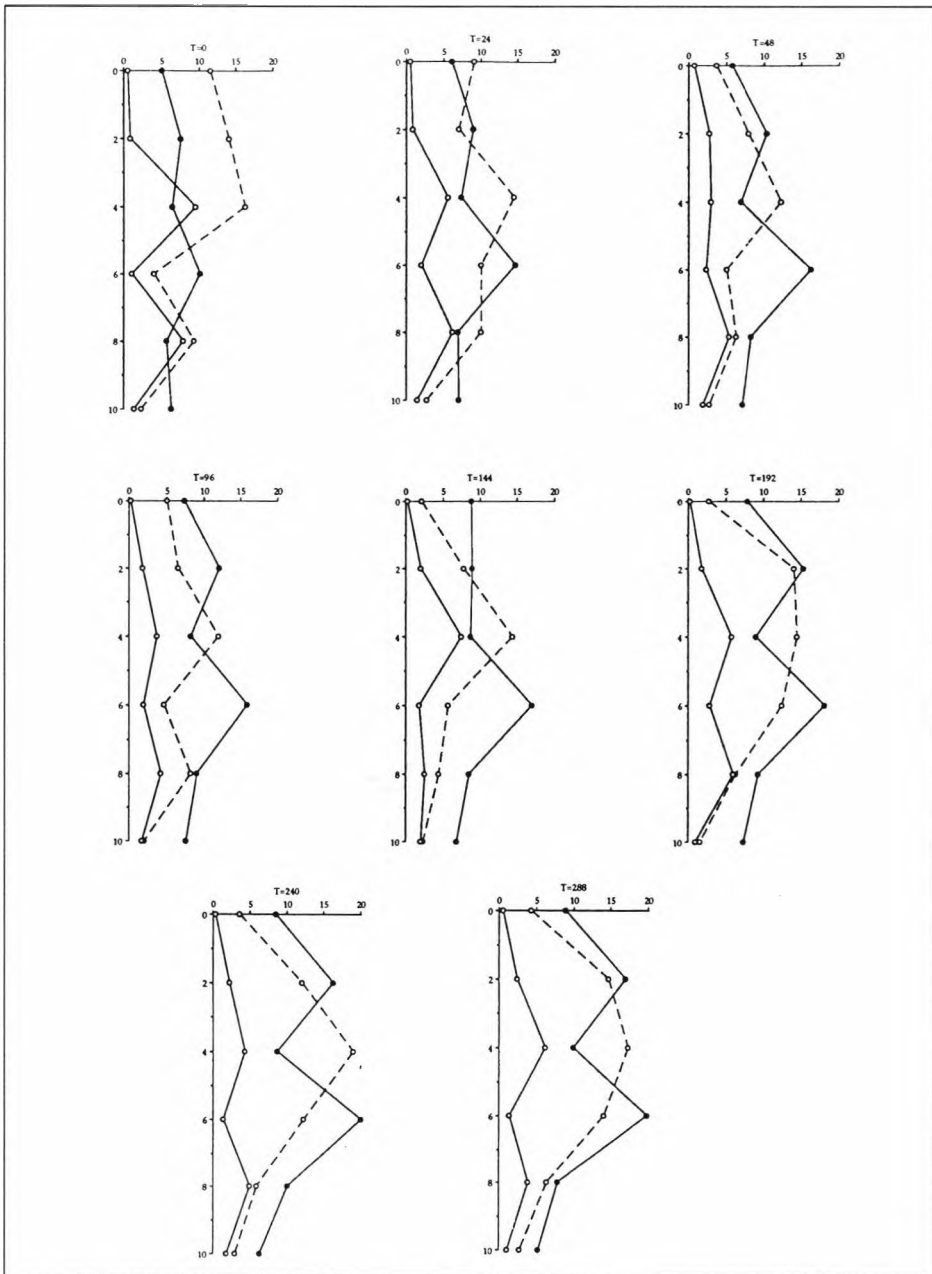


Figura 1.- Evolución en el tiempo (horas) y profundidad (cm) de las concentraciones ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) de fosfato (círculos vacíos y trazo continuo) en el medio sin tratar y medio esterilizado (círculos vacíos y trazos discontinuo) en el agua intersticial y número de bacterias ( $\times 10^9$ , círculos llenos).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se presentan los perfiles en profundidad del número de bacterias y las concentraciones de fosfato en el agua intersticial, tanto en el blanco como en el medio esterilizado. En todos los intervalos de tiempo considerados son mayores las concentraciones de fosfato en el medio esterilizado que en el blanco, con un máximo de concentración a 6 cm de profundidad y un valor medio en el tiempo de  $15 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Por su parte, las concentraciones de fosfato en el agua intersticial en el medio sin tratar, con un valor medio en el tiempo de  $3 \mu\text{mol L}^{-1}$ , presentan máximos a dos profundidades distintas, 4 y 8 cm, que normalmente coinciden con la profundidad donde es menor el número de bacterias, cuyo máximo se encontró a 6 cm de profundidad durante todo el experimento, con un número entre  $5$  y  $18 \times 10^9$ . En el anova doble efectuado (Tabla I) entre las concentraciones de fosfato en ambos medios, se encontraron diferencias significativas tanto en profundidad como en el tiempo.

A la vez que se cuantificó el número de bacterias en el tiempo y a cada profundidad, se procedió a estimar la concentración de fosfato por bacteria a cada profundidad y tiempo. El objetivo fue comprobar si cambios en las concentraciones de fosfato en el agua intersticial se reflejaban en cambios del contenido interno en bacterias y, a su vez, si el procedimiento era distinto para cada profundidad. En la Figura 2 se presenta, a cada profundidad, la relación de los cambios de las concentraciones de fosfato por bacterias y unidad de tiempo frente a los cambios en igual intervalo de tiempo de las concentraciones en el agua intersticial. En todos los casos se encontró un ajuste lineal (Tabla II) que relacionaba ambas. Como característica más importante de estos ajustes cabe destacar que las pendientes

TABLA I.- Anova doble sobre las concentraciones de fosfato con y sin bacterias, considerando la fuente de variación debida a la profundidad, tiempo y concentración. (\*\*significativo para  $\alpha=0.05$ ; ns.- no significativo).

Fuente de variación	g.l.	S.C.	M.C.	Fs
Profundidad (P)	5	720.5		
Tiempo (T)	7	63.0		
Concentración (C)	1	755.8		
P x T	35	155.7	4.45	0.95 ns
P x C	5	357.9	71.58	15.36**
T x C	7	79.4	11.34	2.43**
P x T x C	35	163.6	4.66	
TOTAL	95	2295.9		

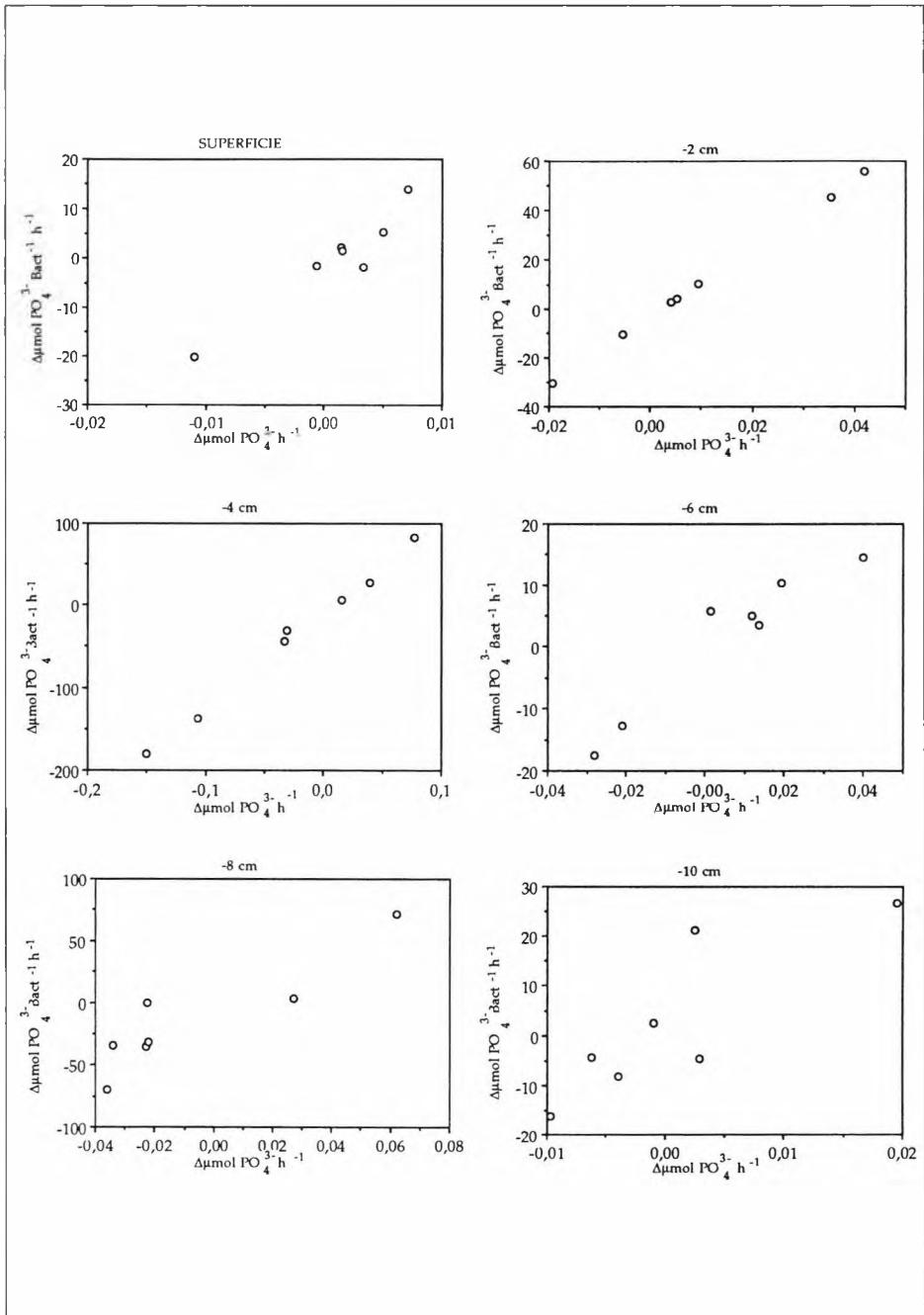


Figura 2.- Relación del incremento en fosfato por bacterias ( $\times 10^{10}$ ) y tiempo a distintas profundidades frente al incremento de fosfato por unidad de tiempo en el agua intersticial.



encontradas tienen igual orden de magnitud ( $10^{10}$ ) y con valores próximos a 1. También se aprecia como la pendiente disminuye de modo casi lineal desde la superficie hasta la máxima profundidad estudiada (10 cm), excepto a 6 cm donde el valor se sitúa en 0.48.

Respecto a los flujos calculados, en todos los casos fueron siempre superiores los del blanco. Así el calculado en la interfase sedimento-agua fue de  $26 \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$  (media estimada en 12 días) en el blanco frente a  $15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$  en el acuario donde el sedimento fue previamente esterilizado. En los flujos calculados a partir de las ecuaciones de difusión las diferencias medias son aún superiores, hasta 70 veces. En el blanco el flujo debido a difusión fue de  $7 \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$  frente a  $0.1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$  en el medio con sedimento esterilizado. En cuanto a los balances de fósforo total en el sedimento, en el blanco se encontró un incremento de fósforo durante el experimento de  $1 \times 10^{-3} \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$  frente a pérdidas de  $8 \times 10^{-3} \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$  en el medio esterilizado.

El uso de estos medios esterilizados frente a un blanco sin tratar ha puesto de manifiesto que las concentraciones de fosfato en el agua intersticial son superiores en los sedimentos con presencia de bacterias. Se sabe que éstas pueden acumular fosfato en forma de cadenas de polifosfatos (Kulaev, 1979) y que incluso pueden ser hasta el 20% del peso seco de algunas especies (Deinema et al., 1980). En nuestro experimento se comprobó la disminución en la disponibilidad de fosfato en el medio sin tratar debido, probablemente, a la actividad bacteriana tal y como se ha puesto de manifiesto con el crecimiento de las mismas a distintas profundidades (Clavero, 1992).

Doresmus y Clesceri (1982) y Gätcher et al., (1988) apuntan que es la conexión de dos tipos de procesos simultáneos, uno de carácter biótico debido a la actividad de las bacterias y otro químico, debido a la capacidad de adsorción de fósforo en medios esterilizados, los responsables de lo descrito anteriormente. Así, en nuestros experimentos las diferencias de las concentraciones de fosfato entre el medio esterilizado-no esterilizado fue de aproximadamente un 20%, cercano al 30% encontrado por Gätcher et al., (1988).

Otra cuestión de interés es el tiempo de generación de las bacterias en el sedimento. Novitsky (1983) trabajando con bacterias tanto de la interfase sedimento-agua como del

TABLA II.- Ajustes lineales obtenidos en las relaciones de fosfato por bacterias y hora frente a las concentraciones de fosfato en el agua intersticial a distintas profundidades en el sedimento.

Superficie	$Y = -1.70 \times 10^{13} + 1.69 \times 10^{10}X$	$R^2=0.96$
-2 cm	$Y = -3.27 \times 10^{13} + 1.40 \times 10^{10}X$	$R^2=0.99$
-4 cm	$Y = -8.42 \times 10^{13} + 1.14 \times 10^{10}X$	$R^2=0.99$
-6 cm	$Y = -1.31 \times 10^{13} + 0.48 \times 10^{10}X$	$R^2=0.98$
-8 cm	$Y = -4.67 \times 10^{13} + 1.10 \times 10^{10}X$	$R^2=0.94$
-10 cm	$Y = -1.59 \times 10^{13} + 1.04 \times 10^{10}X$	$R^2=0.93$

agua adyacente al mismo, comprobó que el tiempo de generación de las mismas, sin añadir sustrato específico, fue de 4.5 días. En nuestro caso solo se duplicaron las bacterias encontradas a 2 y 6 cm de profundidad, con tasas de generación de 3.36 y 4.04 días, respectivamente. Estos valores permiten estimar Novitsky (1983) que al menos el 8% del total de las bacterias están activas y dividiéndose debido a que el DNA bacteriano no es completamente estable en las células bacterianas, especialmente bajo limitación de sustratos (Novitsky y Morita, 1977). Parece que los requerimientos de nutrientes por parte de las bacterias son distintos según la profundidad, tal y como se aprecia en los resultados obtenidos al calcular las pendientes que relacionan el incremento de fosfato por bacteria y los cambios en las concentraciones de fosfato en el agua intersticial. La disminución encontrada también podría ser debida a cambios en las condiciones redox del sedimento. Sin embargo, el valor de la pendiente es menor a 6 cm, coincidiendo con el mayor número de bacterias encontrado. Otros autores (Christian et al., 1982) apuntan la posibilidad de que al llegar a la fase estacionaria de crecimiento las concentraciones internas de ATP bajan de nivel o bien se pudiera producir una movilización de fosfato (Böstrom et al., 1982) si hay cambios en las condiciones de oxígeno a consecuencia de alteraciones fisiológicas.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto AMB96-0782 de la CICYT.

## BIBLIOGRAFIA

- Aller, R.C., Mackin, J.E., Ullman, W.J., Chen-You, W., Shing-Min, T., Jian-Cai, J., Yong-Nian, S. y Tia-Zhen, H. 1985. Early chemical diagenesis, sediment-water exchange, and storage of reactive organic matter near the mouth of Changjians East China. *Cont. Shelf. Res.*, 4(1/2):227-251.
- Böstrom, B., Jansson, M. y Forsberg, C. 1982. Phosphorus release from lake sediment. *Arch. Hydrobiol. Beih.*, 18: 5-59.
- Christian, R.R., Hanson, R.B. y Newell, S.H. 1982. Comparison of methods for measurements of bacterial growth rates in mixed batch cultures. *Appl. Environ. Microbiol.*, 435: 1160-1165.
- Clavero, V., 1992. Estudio experimental y modelo de intercambio de fosfato en la interfase sedimento-agua en el estuario del rio Palmones. Tesis Doctoral. Universidad de Málaga. 206 pp.
- Deinema, M.H., Habets, L.H.A., Schlten, J., Therkstra, E. y Webers, H.A.A.M. 1980. The accumulation of polyphosphate in *Acinetobacter* spp. *Microbiol. Lett.*, 9: 275-279.
- Doresmus, C. y Clesceri, L.S. 1982. Microbial metabolism in surface sediments and its role in the immobilization of phosphorus in oligotrophic lake sediment. *Hydrobiol.*, 91: 261-268.

- Fernandez, J.A., Niell, F.X. y Lucena, J., 1985. A rapid and sensitive automated determination of phosphate in natural waters. *Limnol. Oceanogr.*, 30(1): 227-230.
- Gätcher, R., Mayer, J.S. y Mares, A. 1988. Contribution of bacteria to release and fixation of phosphorus in lake sediment. *Limnol. Oceanogr.*, 33(6/2): 1542-1558.
- Hobbie, J.E., Daley, R.I. y Jasper, S. 1977. Use of nucleopore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Appl. Environ. Microbiol.*, 33: 1225-1228.
- Krom, M.D. y Berner, R.A., 1980. The diffusion coefficients of sulphate, ammonium, and phosphate ions in anoxic marine sediments. *Limnol. Oceanogr.*, 25: 327-337.
- Kulaev, I. 1979. The biochemistry of inorganic polyphosphates. Wiley Eds. New York.
- Novitsky, J.A. 1983. Heterotrophic activity through a vertical profile of seawater and sediment in Halifax Harbour, Canada. *Appl. Environ. Microbiol.*, 45(6): 1753-1760.
- Novitsky, J.A. y Morita, R.Y. 1977. Survival of a psychophilic marine vibrio under long-term nutrient starvation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 33: 635-641.
- Sommers, L.E. y Nelson, D.W., 1972. Determination of total phosphorus by a rapid perchloric acid procedure. *Soil. Sci. Soc. Am. Proc.*, 36: 902-904.

# DISTRIBUCION DE SALES NUTRIENTES EN EL BORDE DE LA BANQUISA ANTARTICA DEL MAR DE WEDDELL: UTILIDAD DE LOS DIAGRAMAS SILICATO-SALINIDAD Y SILICATO-NITRATO

*Ricardo Prego & María Jesús Belzunce*

Biogeoquímica Marina. Instituto de Investigaciones Marinas (CSIC).  
rúa Eduardo Cabello, 6. 36208 Vigo

## RESUMEN:

Durante la campaña antártica realizada a bordo del B/O "Profesor Siedlecki" del 26 de Diciembre de 1988 al 18 de Enero de 1989 se estudió la distribución de sales nutrientes, silicatos y nitratos, en un área comprendida entre la Isla Elefante y las Islas Orcadas del Sur, siguiendo el borde de la banquisa próxima al mar de Weddell. El muestreo se realizó en 29 estaciones desde la superficie hasta 150 metros de profundidad. Para el análisis de nutrientes se utilizaron métodos autoanalíticos.

Los resultados se presentan en mapas de isolíneas, tanto para los silicatos como para los nitratos, y en diagramas silicato-salinidad y silicato-nitrato. En base a estos últimos se ha llegado a una buena interpretación e identificación de los distintos cuerpos de agua presentes y definidos con anterioridad en la zona de estudio: "Weddell Surface Water"; "Antartic Surface Water" y "Circumpolar Warm Deep Water".

## ABSTRACT:

NUTRIENT SALTS DISTRIBUTION ALONG OF THE ANTARTIC PACK-ICE EDGE OF WEDDELL SEA: THE USEFULNESS OF SILICATE-SALINITY AND SILICATE-NITRATE DIAGRAMS.

During an antarctic cruise made aboard the R/V "Profesor Siedlecki" from December 26, 1988 to January 18, 1989, the distributions of nutrient salts, silicates and nitrates, was studied. The area choosed for this survey was located between Elephant Island and South Orkneys Islands, following the pack-ice edge near to the Weddell Sea. The samples were collected in 29 stations from the surface to 150 meters depth. The nutrients were analysed using standar methods.

The obtained results were represented by isolines maps for both, silicate and nitrate concentrations, and by silicate-salinity and silicate-nitrate diagrams. The last ones were used for a good interpretation and identification of the different water masses presented and defined before in the studied area: Weddell Surface Waters, Antartic Surface Waters and Circumpolar Warm Deep Waters.

## INTRODUCCION

El océano Austral tiene su límite norte en la Convergencia Antártica. La concentración de sales nutrientes aumenta rápidamente al atravesar dicha zona frontal desde el océano Atlántico hasta el Antártico. Cerca del paso de Drake y al sur de la convergencia antártica se halla, próxima al meridiano 53,5° W, la confluencia de Weddell-Escocia (WSC), que ha sido descrita por Patterson y Sievers (1980). En ella, el agua fría del mar de Weddell se junta con el agua menos densa del mar de Escocia. Esta zona suele presentar un meandro casi estacionario (Stein, 1981) al este de la isla Elefante debido a la topografía del fondo y a la circulación del agua en el mar de Weddell.

La campaña antártica realizada dentro del proyecto BIOMASS-IV se desarrolló en ese área (Fig.1) antes descrita y siguió la línea del borde de la banquisa desde la isla Elefante hasta las islas Orcadas del Sur. Los cuerpos de agua presentes corresponden a la CWS (Prego, 1991; Tokarczyk et al., 1991). La mayor parte de la zona investigada (estaciones 29 en adelante, Fig.1) está ocupada por agua superficial del mar de Weddell (Weddell Surface Water, WSW) con una temperatura comprendida entre -0,2 y -1,0 °C y una salinidad entre 34,0 y 34,5 usp; estos valores varían ligeramente cerca de la superficie a partir de la estación 54 (ver Fig.1) por efecto del deshielo de la banquisa. En el resto de las estaciones (25 a 27, Fig.1) se halla un agua superficial proviniente del mar de Bellinghausen (Antartic Surface Water, ASW), salinidad de 33,9 a 34,0 usp y temperatura de 0,4 a 0,8 °C, la cual fluye a través del estrecho de Bransfield; y por debajo está presente un agua circumpolar antártica (Circumpolar Warm Deep Water, CWDW), con salinidad 34,6 usp y temperatura 1,8 °C, procedente del paso de Drake.

Este área antártica presenta una distribución de sales nutrientes que se describe en el presente artículo. Para ello se propone la utilización de diagramas salinidad-silicato y silicato-nitrato, que resultan apropiados para identificar los cuerpos de agua presentes en la zona oeste de la WSC.

## MATERIAL Y METODOS

La campaña oceanográfica tuvo lugar desde el 26 de diciembre de 1988 hasta el 18 de enero de 1989. Se desarrolló, Fig.1, entre la isla Elefante y las islas Orcadas del Sur en

una zona de 40 millas, próxima a la banquisa antártica del borde del mar de Weddell. Los detalles del crucero han sido descritos por Rakusa-Suszczewski (1991). Desde el B/O "Profesor Siedlecki" se tomaron muestras de agua, utilizando botellas "Hydrobios" de 5 l, a profundidades de 0, 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100 y 150 m en las estaciones cuya posición se indica en la Fig.1.

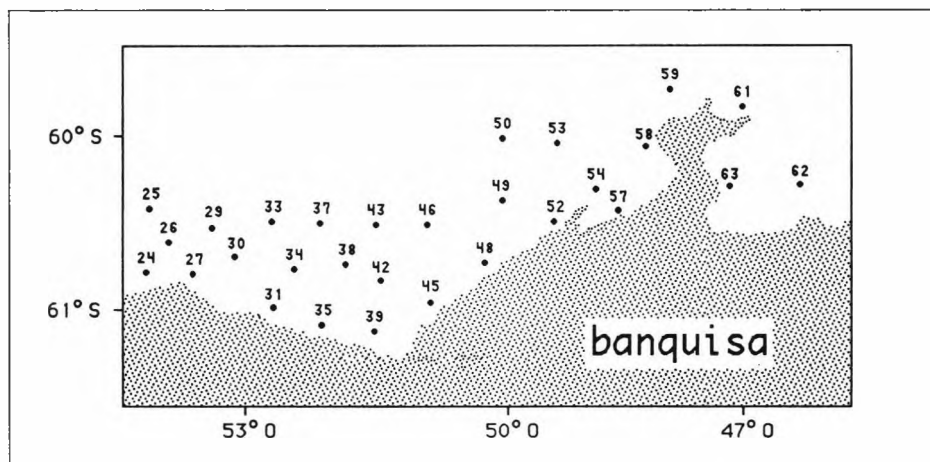


Figura 1.- El área investigada en el B/O Profesor Siedlecki esta situada en el sector Atlántico del océano Antártico, al borde de la banquisa del mar de Weddell entre la isla Elefante y las islas Orcadas del Sur. Se tomaron muestras de agua en las estaciones numeradas, desde la superficie hasta 150 m. de profundidad.

Los análisis de nitrato y silicato se realizaron inmediatamente después de su toma. Las muestras de agua de mar sin filtrar se analizaron mediante un sistema autoanalítico "Technicon AAII". Para los análisis de nitrato se empleó un método de reducción en columna de Cd-Cu tamponada con una mezcla de cítrico-citrato, de acuerdo con Mourriño y Fraga (1985); el error cometido es de  $\pm 0,05 \mu\text{M}$ . Los análisis de silicato disuelto se hicieron de acuerdo con el método de Hansen y Grasshoff (1983); el error estimado en cada medida de silicato es de  $\pm 0.1 \mu\text{M}$ .

## RESULTADOS Y DISCUSION

Los valores de silicato y nitrato obtenidos en la campaña se han representado en los mapas de isopletas de las Fig. 2 y 3. En dichas figuras se dibujan las isolíneas de silicato en dos secciones horizontales, a 0 y -150 m, y una vertical, en un corte casi paralelo a la línea de la banquisa.

Los resultados para nitrato y silicato son similares a otros obtenidos en esa misma área (Nelson et al., 1987). Hay una zona de concentración relativamente baja de silicato,  $40 \mu\text{M}$ , situada de 0 a 60 m en las estaciones 24 a 27, que se hallan próximas a la isla

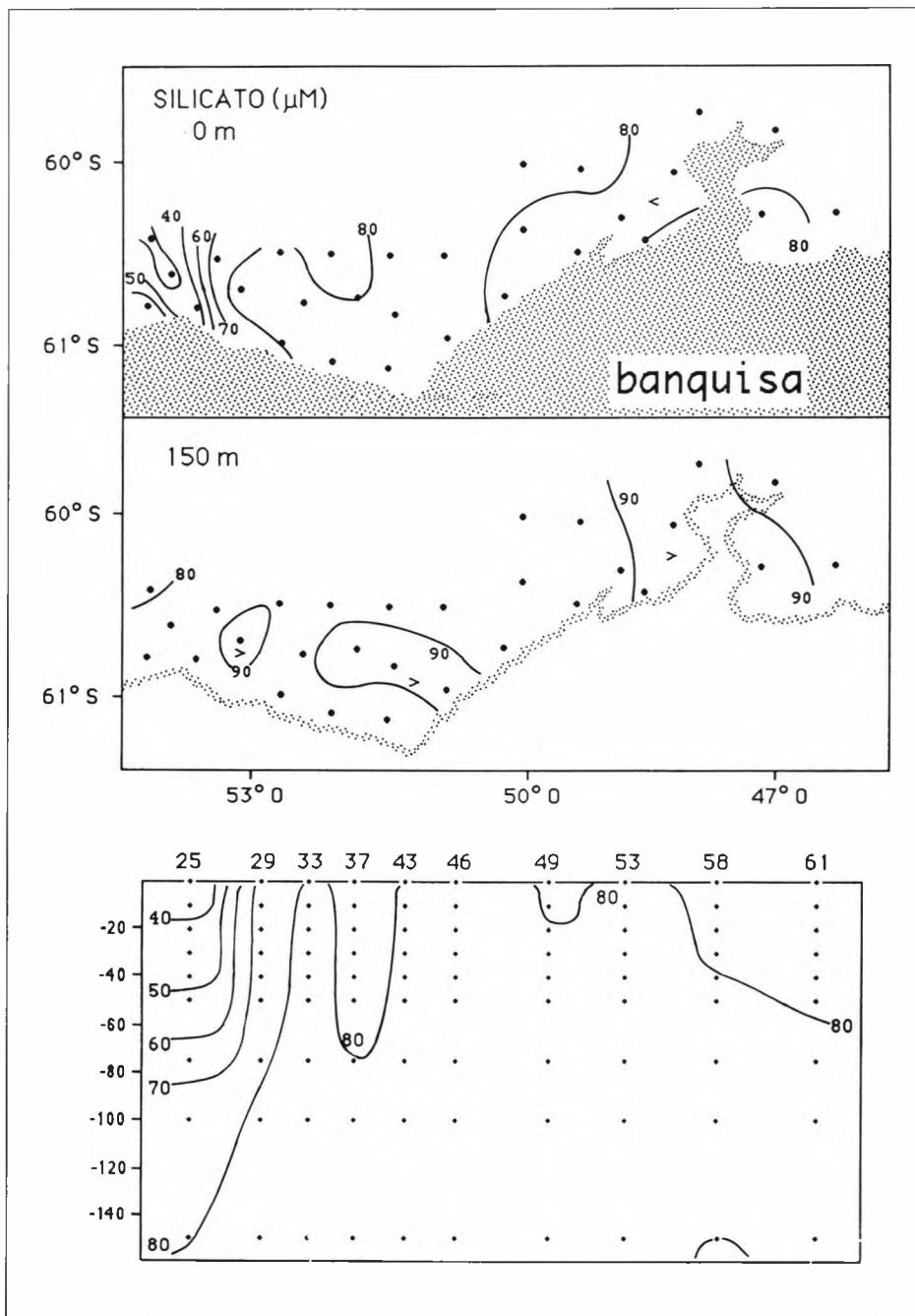


Figura 2.- Mapa de isopletas de silicato disuelto ( $\mu\text{M}$ ) en superficie y a 150 m. de profundidad (figura superior) y en un corte vertical próximo a la banquisa (figura inferior).

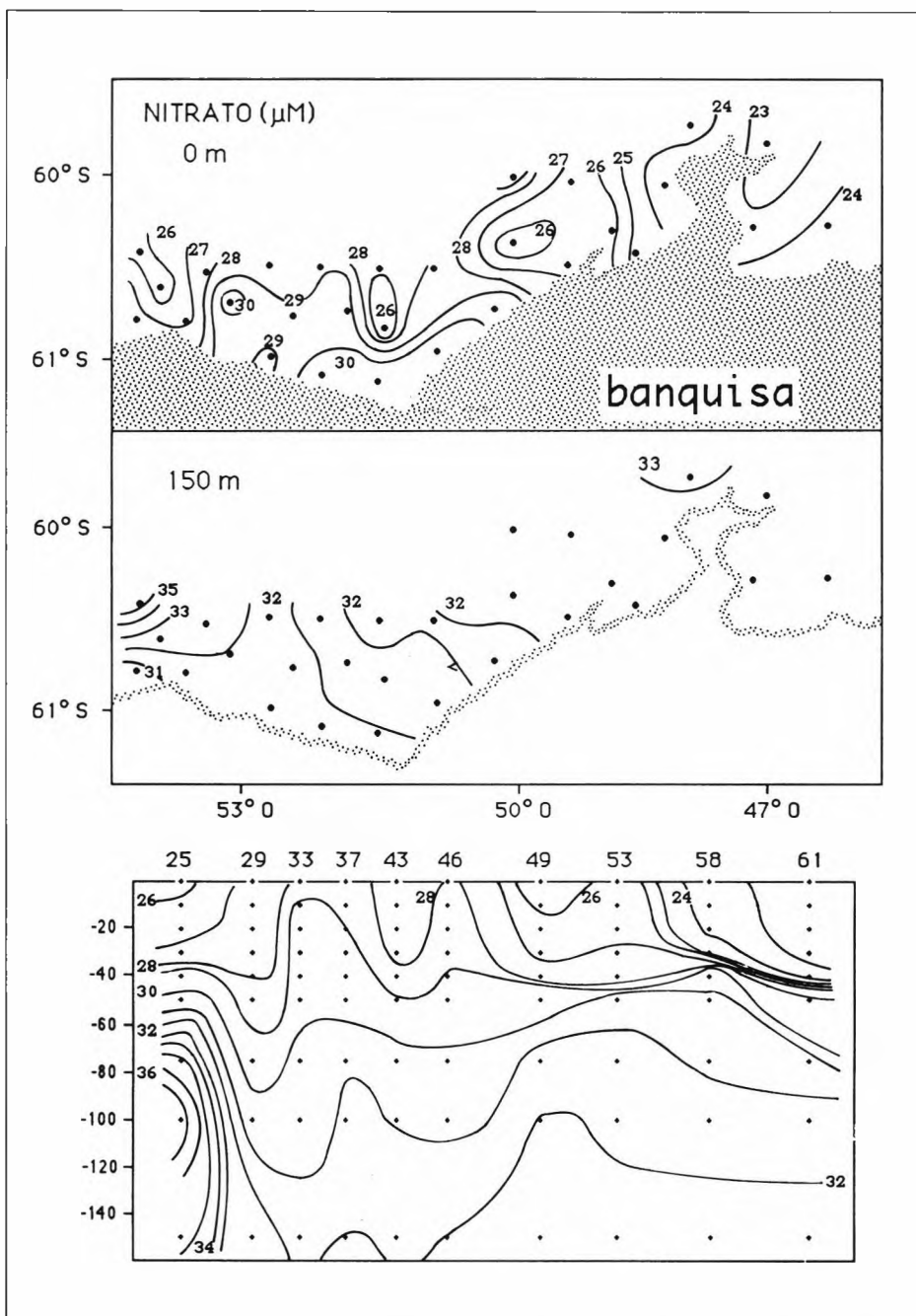


Figura 3.- Mapa de isopletas de nitrato ( $\mu\text{M}$ ) en superficie y a 150 m. de profundidad (figura superior) y en un corte vertical cercano a la banquisa (figura inferior).



Elefante. Por el contrario, los mayores valores de silicato ( $>85 \mu\text{M}$ ) se obtuvieron a  $-150 \text{ m}$  en el resto de las estaciones, llegándose hasta  $95 \mu\text{M}$  en la estación 45. La influencia del agua del mar de Weddell ( $[\text{H}_4\text{SiO}_4]=99$  en su "core" según Foster y Carmack, 1976) es manifiesta a pesar de estar solamente a  $150 \text{ m}$  de profundidad.

El mapa de isopletas de nitrato en el nivel superficial muestra una distribución semejante a la del silicato, pero con un rango de variación unas diez veces menor. Sigue presentándose un mínimo en las estaciones 24-27 con  $26 \mu\text{M}$  de nitrato. Aparece otro mínimo, en torno a  $23 \mu\text{M}$ , en las estaciones 58-63, debido al deshielo y a un florecimiento del fitoplacton (Figueiras y Pérez, 1990) que causa una disminución en la concentración de nutrientes, especialmente de nitrato, como parece ser normal en aguas antárticas (Nelson et al., 1987). En profundidad, se presenta un máximo de  $35 \mu\text{M}$  a partir de  $-60 \text{ m}$  en las estaciones 25 y 26, que se puede asociar a un cuerpo de agua presente en esa zona, como se comenta a continuación.

La distribución de estas dos sales nutrientes se explica mejor en base a los diagramas salinidad-silicato y silicato-nitrato de las Fig.4 y 5.

En el diagrama superior de la Fig.4 se han representado los valores de la concentración de silicato frente a salinidad en las estaciones (24-29) situadas próximas a la zona frontal denominada WSC. Se puede observar como en función de la concentración de silicato, de los valores de salinidad y de la profundidad a que fue tomada la muestra de agua se pueden identificar y situar los diferentes cuerpos de agua presentes. Concentraciones altas de silicato ( $65\text{-}80 \mu\text{M}$ ) y valores de salinidades de  $34,2\text{-}34,6$  ups están indicando la presencia de un agua denominada CWDW; se halla al oeste de la zona frontal a profundidades por debajo de los  $50 \text{ m}$ . Por otra parte, a valores de silicato y salinidad entorno a la recta definida por los puntos  $60 \mu\text{M}\text{-}33,9$  usp y  $90 \mu\text{M}\text{-}34,4$  usp se corresponderían con el cuerpo de agua WSW, el cual se halla situado bajo la zona frontal a partir de  $50 \text{ m}$  de profundidad. Este ocupa la mayor parte del área investigada, de  $0$  a  $150 \text{ m}$ , durante la campaña, como sugiere la abundancia de puntos situados en su espacio definido en el diagrama silicato-salinidad (representación inferior de la Fig.4). Finalmente, las aguas superficiales del frente con una concentración de silicato menor de  $60 \mu\text{M}$  y un rango de salinidad entre  $33,8$  y  $34,3$  ups corresponden a ASW.

La utilidad de los diagramas silicato-salinidad como trazadores de cuerpos de agua en el sector Indico del océano Antártico ya ha sido propuesta por Prego et al. (en prensa), ahora siguen manifestando su interés en el sector Atlántico en la confluencia de Weddell-Escocia (WSC). En esta área antártica también resultan de utilidad los diagramas silicato-nitrato, los cuales diferencian mejor los cuerpos de agua anteriormente descritos.

La representación superior de la Fig.5 representa los valores de concentración de silicato frente a los de nitrato en las estaciones 24 a 29, próximas al frente de agua WSC. Al igual que en la Fig.4, es útil para identificar y situar los distintos cuerpos de agua presentes en la zona: CWDW,  $65\text{-}80 \mu\text{M}$  de silicato y más de  $33 \mu\text{M}$  de nitrato; ASW, menos de  $60 \mu\text{M}$  de silicatos y  $25\text{-}32 \mu\text{M}$  de nitrato; WSW, entorno a la recta definida por los puntos  $70 \mu\text{M Si}\text{-}26 \mu\text{M N}$  y  $95 \mu\text{M Si}\text{-}33 \mu\text{M N}$ . Como en la Fig.4, es el cuerpo de agua más abundante en la zona (representación inferior de la Fig.5).

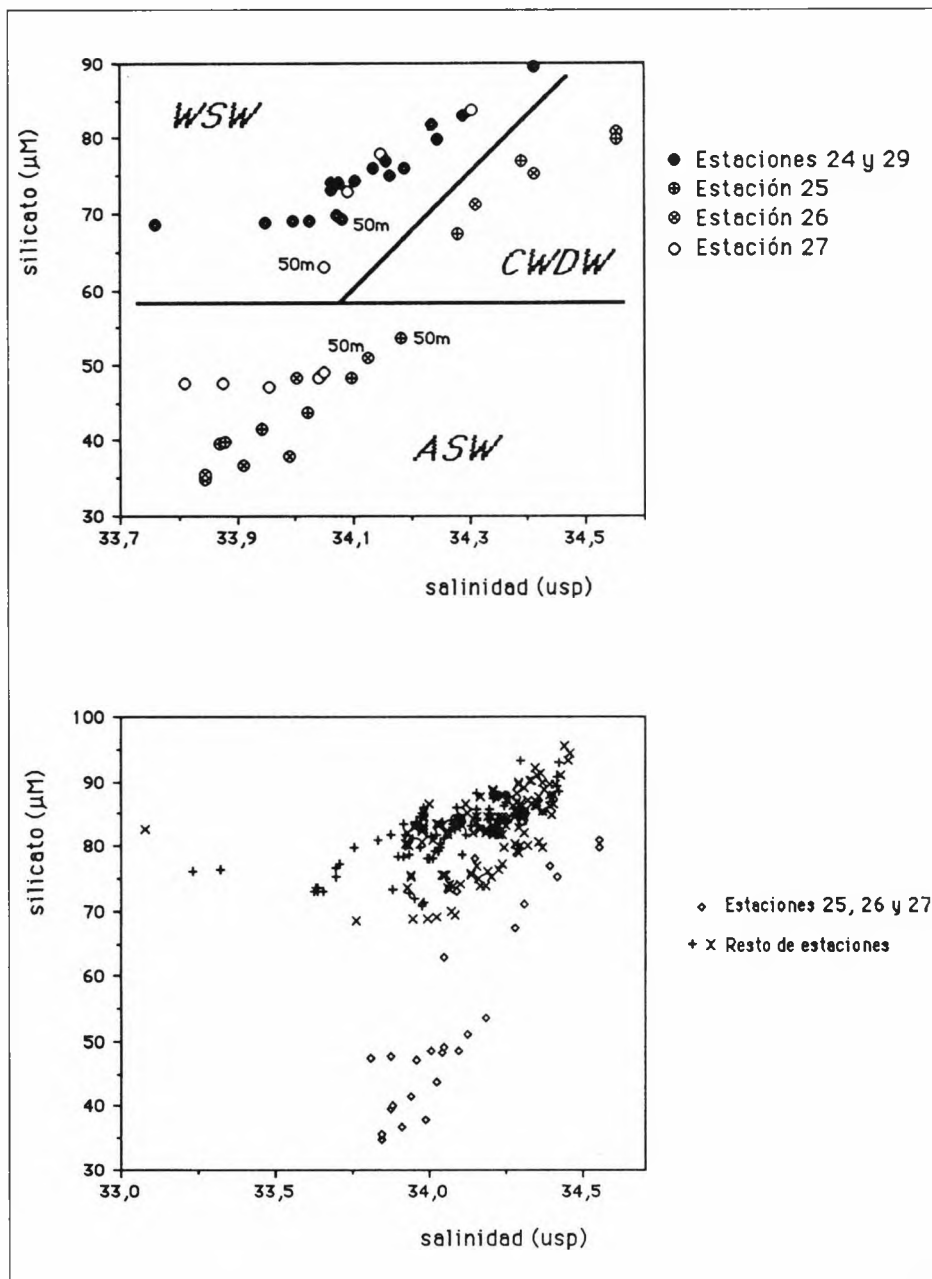


Figura 4.- Diagrama silicato-salinidad para las estaciones (24-29) próximas a la Confluencia de Weddell-Escocia (figura superior) y para todas las estaciones muestreadas (figura inferior). WSW: Weddell Surface Water; CWDW: Circumpolar Warm Deep Water; ASW: Antarctic Surface Water.

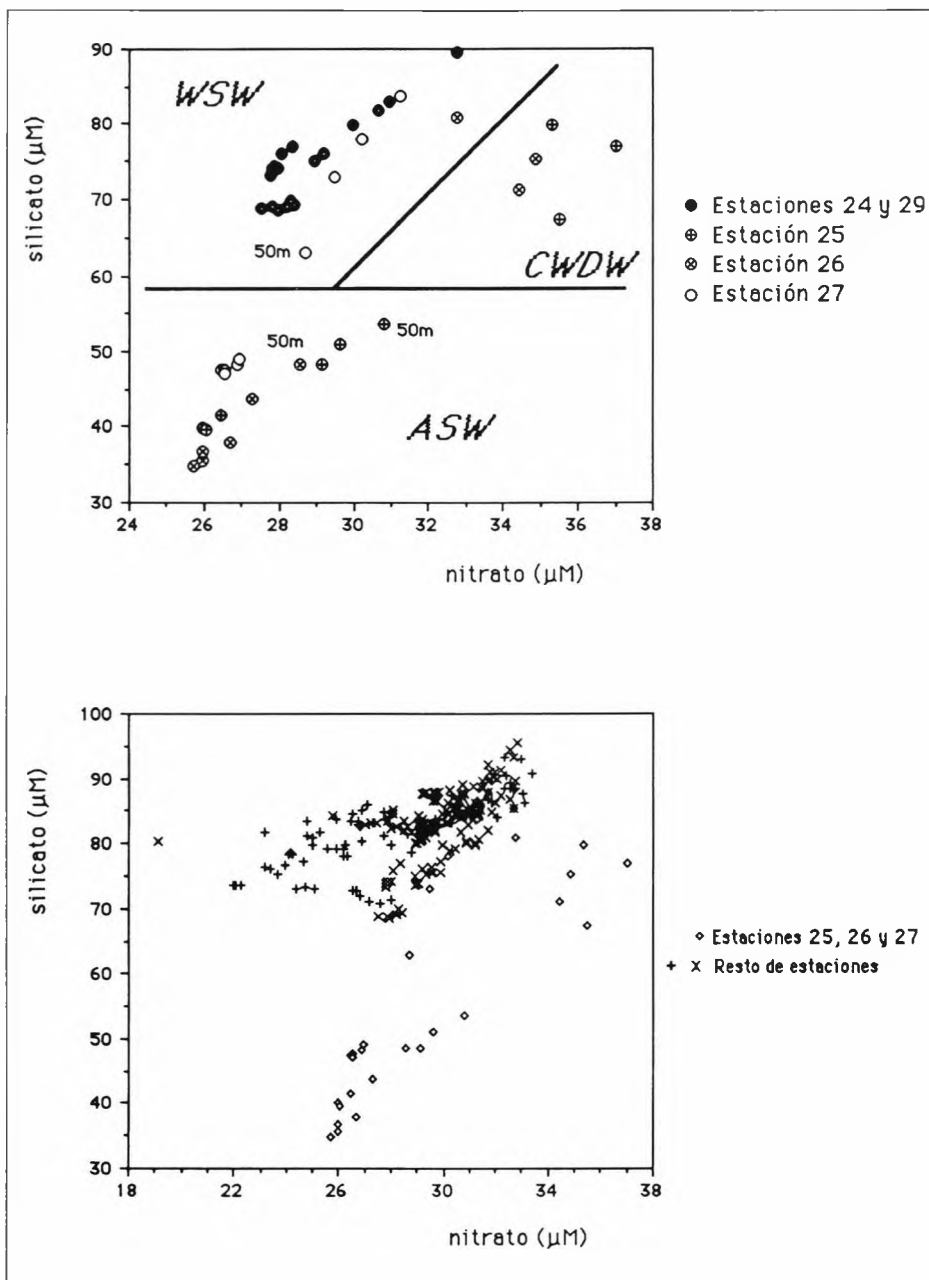


Figura 5.- Diagrama silicato-nitrato para las estaciones (24-29) próximas a la Confluencia de Weddell-Escocia (figura superior) y para todas las estaciones muestreadas (figura inferior). WSW: Weddell Surface Water; CWDW: Circumpolar Warm Deep Water; ASW: Antarctic Surface Water.

## CONCLUSIONES

De acuerdo con lo expuesto anteriormente, se pueden deducir dos conclusiones para la zona investigada próxima a la banquisa del mar de Weddell:

1.- La distribución de sales nutrientes depende principalmente de los cuerpos de agua presentes en el área de muestreo.

2.- El empleo de diagramas silicato-salinidad y, especialmente, silicato-nitrato es muy útil para situar los cuerpos de agua en la zona frontal. Las concentraciones de ambas sales nutrientes, conjuntamente representadas, sirven como trazadores de WSW, ASW y CWDW.

**Agradecimientos:** Deseamos agradecer la colaboración prestada durante la campaña antártica al jefe de dicha campaña, el Prof. Rakusa-Suszczewski, a los científicos participantes, así como a la tripulación del B/O "Profesor Siedlecki", con la cual disfruté de muchos ratos de agradable camaradería. También queremos expresar nuestro agradecimiento a María de los Angeles García por la preparación de las figuras.

Este artículo es una contribución al proyecto ANT90-1231-E, financiado por la CICYT.

## BIBLIOGRAFIA

- FIGUEIRAS, F.G., y PEREZ, F.F. (1990). Hidrografía al borde del hielo entre las islas Elefante y las Orcadas del Sur durante el verano Austral 1988-89. En "*Actas del Tercer Symposium Español de Estudios Antárticos (Gredos, 3 al 5 de Octubre de 1989)*". Ed. J. Castellví, CICYT. Madrid, pp: 9-23.
- FOSTER, T.D. y CARMACK, E.C. (1976). Frontal zone mixing and Antarctic Bottom Water formation in the Southern Weddell Sea. *Deep-Sea Res.*, 28: 1017-1032.
- HANSEN, H.P., y GRASSHOFF, K. (1983). Automated chemical analysis. En "*Methods of seawater analysis*" (2ª Ed.). Ed. por K. Grasshoff, M. Ehrhardt y K. Kremling. Verlag Chemie. Weinheim, pp: 369-376.
- MOURIÑO, C. and FRAGA, F. (1985). Determinación de nitratos en aguas de mar. *Inu. Pesq.*, 49: 81-96.
- NELSON, D.M., SMITH, W.O., Jr., GORDON, L.I. and HUBER, B.A. 1987. Spring distributions of density, nutrients and phytoplankton biomass in the ice edge zone of the Weddell-Scotia Sea. *J. Geophys. Res.*, 92: 7181-71907.
- PATTERSON, S.L., y SIEVERS, H.A. (1980). The Weddell-Scotia Confluence. *J. Phys. Oceanogr.*, 10: 1586-1610.
- PREGO, R. (1991a). Organic carbon in the sea-ice zone between Elephant Island and South Orkney Islands at the start of the Austral summer (1988-89). *Mar. Chem.*, 36: 189-198.

- PREGO, R. (1991b). El carbono orgánico y las sales nutrientes en la campaña antártica BIOMASS-IV. En "Actas del Taller de las Ciencias de la Tierra en la Antártida (24-28 septiembre, 1990)". Servicio Geográfico del Ejército. Madrid, pp: 53-58.
- PREGO, R., PARK, Y.H., MORVAN, J., PONCIN, J. Y TREGUER, P. (en prensa). Dissolved silicate as a tracer of frontal zone water masses in the Indian sector of the Southern ocean. *J. Mar. Systems*.
- RAKUSA-SUSZCZEWSKI, S. (1991). Report on the Antarctic Expedition of the r/v "Profesor Siedlecki" to the Sea-Ice Zone, 1988-89. *Pol. Polar Res.*, 12: 485-494.
- STEIN, M. (1981). "Thermal structure of the Weddell-Scotia Confluence during February 1981". *Meeresforschung*, 29: 47-52.
- TOKARCZYK, R., LIPSKI, M., PEREZ, F.F and PREGO, R. (1991). "Hydrology and hydrochemistry of the surface water layer near the sea-ice edge in the Scotia Sea". *Pol. Polar Res.*, 12: 495-505.

## CAPTACION DE CO<sub>2</sub> Y EDAD DE LAS AGUAS DE LA TERMOCLINA PRINCIPAL DEL ATLANTICO NORTE.

*Fiz F. PEREZ, Aida F. RIOS y Gabriel ROSON*  
Instituto de Investigaciones Mariñas de Vigo, (CSIC)  
Eduardo Cabello, 6 , 36208 Vigo (SPAIN)

**Palabras clave:** Presión parcial de CO<sub>2</sub>, agua de mar, Atlántico Norte.

### RESUMEN

En el presente trabajo se muestra la distribución de los parámetros físicos y químicos característicos de las masas de agua en dos secciones en el Atlántico Nordeste, entre el archipiélago de las Azores y la Península Ibérica. A partir de un modelo de remineralización de la materia orgánica se determinan la presión parcial de CO<sub>2</sub> durante la formación de los cuerpos de agua. Por comparación con la presión parcial de CO<sub>2</sub> existente antes de la era industrial, se determina la cantidad de CO<sub>2</sub> incorporado por los cuerpos de agua oceánicos y se estima la edad de los mismos. Los resultados obtenidos son acordes con los patrones de circulación de las masas de agua implicadas, mostrando incluso que cuerpos de agua de la zona afótica que presentan presiones parciales de CO<sub>2</sub> superiores a la atmosférica pueden, a largo plazo, captar CO<sub>2</sub> de origen antropogénico.

### SUMMARY

In this paper is shown the distribution of a series of physical and chemical parameters typical of intermediate and deep water masses along two sections in the North-East Atlantic between the Azores and the Iberian Peninsula. The partial pressure of CO<sub>2</sub> typical of the water masses at the moment of their formation has been calculated from a remineralization model. The amount of CO<sub>2</sub> taken up by the water masses under study, as well as

their age, were estimated by comparison with  $p\text{CO}_2$  values characteristic of the pre-industrial period. The results presented here are consistent with general circulation patterns and indicate that intermediate water masses, with current  $p\text{CO}_2$  values higher than atmospheric levels have the potential to, in the long-term, constitute a sink for carbon dioxide of anthropogenic origin.

## INTRODUCCION

Una de las cuestiones actualmente más candentes en relación con el ciclo biogeoquímico del carbono, estriba en el desbalance existente entre la emisión y acumulación de  $\text{CO}_2$  en la atmósfera. Así, el aumento observado de la concentración de  $\text{CO}_2$  en la atmósfera desde la mitad del siglo pasado ( $\text{CO}_2$  antropogénico), representa unicamente la mitad del carbono liberado por la deforestación y el uso de combustibles fósiles (Takahashi, 1989). Son tres los factores principales que regulan la capacidad del océano para retener  $\text{CO}_2$ : 1) la velocidad y tipo de circulación del agua, 2) las propiedades del  $\text{CO}_2$  en el agua de mar y 3) la presencia de un bomba biológica que transporta  $\text{CO}_2$  desde la superficie al fondo oceánico.

La grandes diferencias en los niveles de  $\text{CO}_2$  que se observan entre los distintos océanos son el reflejo de las escalas temporales implicadas en la formación y renovación de las masas de agua profundas, del orden de 1000 años (Broecker y Peng, 1982). Existen grandes volúmenes de agua que no han tomado aún contacto con la atmósfera reciente, dependiendo ello fundamentalmente de la circulación oceánica. Cabe pensar que si estos grandes volúmenes de agua con altos niveles de  $\text{CO}_2$  toman contacto con la atmósfera, se producirá en una primera fase una liberación de  $\text{CO}_2$  y por lo tanto un mayor aumento de los niveles atmosféricos del mismo, tal como ocurre en las áreas de afloramiento (Takahashi, 1989). Sin embargo, estos mismos cuerpos de agua fertilizan la capa superficial con altos niveles de nutrientes que finalmente originarán un descenso en los niveles de  $\text{CO}_2$ , induciendo la captación de  $\text{CO}_2$  atmosférico por el océano.

La alta solubilidad del  $\text{CO}_2$  en el agua de mar implica que el océano sea uno de los depósitos más importantes de la biosfera, a la vez que su variabilidad térmica da lugar a que a escala anual, una octava parte del  $\text{CO}_2$  atmosférico se intercambia con el océano (Siegenthaler, 1986).

La actividad biológica tiene la capacidad de modular los intercambios atmósfera-océano al retirar  $\text{CO}_2$  por medio de la fotosíntesis en la capa superficial y aumentar los niveles de  $\text{CO}_2$  de los cuerpos de agua profunda mediante mecanismos de agregación y transporte vertical. Estas masas ricas en  $\text{CO}_2$  afloran o se ventilan durante la mezcla invernal profunda (Takahashi, 1989; Siegenthaler, 1993). Los flujos derivados de la actividad biológica son alrededor de un orden de magnitud inferior a aquellos debidos al régimen térmico anual.

En este trabajo se estudia el balance final de los procesos de ventilación de los cuerpos de agua en el Atlántico Nordeste, diferenciando los diversos factores implicados, para así establecer modelos de funcionamiento del sistema del carbónico oceánico en esta región oceanográfica.

## MATERIAL Y METODOS

Como parte de la expedición "BIOMASS IV", se realizó la campaña ANA en Noviembre de 1988 a bordo del B/O "Profesor Siedlecki". Se muestrearon 20 estaciones hidrográficas entre 42°53'N, 9°28.5'W y 23°29'N, 23°40.1'W (Fig. 1). Nueve de estas estaciones forman un transecto perpendicular a la costa de Galicia; las otras once estaciones constituyen otro transecto perpendicular al anterior a lo largo del meridiano 22°W.

En cada estación se midió salinidad, temperatura y presión con una sonda "Neil Brown" CTD modelo S-N01/1132. Se recogieron también muestras para la determinación de salinidad, alcalinidad, nutrientes, oxígeno y pH, a 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1000 y 1100 metros de profundidad con botellas Nansen.

La salinidad se determinó con un salinómetro de inducción (Plessey Environmental Systems Model 6230N). La concentración de oxígeno se determinó mediante la técnica de Winkler. Un electrodo Ross de Orión 81-04 calibrado con un tampón 7.413, fue usado para determinar el pH, aplicandose además la corrección de temperatura refiriendo todos los valores a 15 °C (Pérez y Fraga, 1987a). Se utilizó un sistema automático de valoración potenciométrica para medir la alcalinidad con HCl a un pH final de 4.44 (Pérez et Fraga, 1987b). El carbono inorgánico total y la presión parcial de CO<sub>2</sub> (pCO<sub>2</sub>) se calcularon utilizando las ecuaciones del sistema del carbónico con las constantes determinadas por Mehrbach et al. (1973) y Weiss (1974). La estimación de los valores de presión parcial de CO<sub>2</sub> preformado (pCO<sub>2</sub><sup>o</sup>), implica el uso de cinco variables, dos físicas y tres químicas, lo cual da lugar a un error en la estimación del orden de 10 µatm. Todas las concentraciones están expresadas en µmol/kg de agua de mar, unidad independiente de las condiciones de presión y temperatura.

## RESULTADOS Y DISCUSION

El área de estudio (Fig. 1) se enmarca en un región oceánica donde han sido descritos previamente los patrones de circulación, y en la cual es posible catalogar los distintos cuerpos de agua por su origen y grado de ventilación (Ríos et al. 1992).

Se ha optado por mostrar las distribuciones verticales de los parámetros físicos y químicos en secciones frente a la anomalía de la densidad por no estar ésta afectada por los fenómenos dinámicos, permitiendo además un análisis isopícnico de los resultados. En estas secciones no se incluye la capa superficial, la cual esta sometida a variaciones estacionales. A partir de la distribución de salinidad (Fig. 2a) se detecta la presencia de tres cuerpos diferenciados de Agua Central del Atlantico Norte (NACW) y el Agua Mediterránea (MW). Los máximos relativos de salinidad en 36°N, 16°W y 10°W corresponden a máximos de MW, mientras que los dos mínimos de salinidad son de diferente origen. El situado al sur de 28°N se debe a la presencia de Agua Intermedia Antártica (AAIW) (Tsuchiya et al., 1993), mientras que el situado sobre el 40°N denota la presencia de Agua de origen subpolar, descrita como NACW del Este (ENAWp, Harvey, 1982)). A niveles más someros, la distribución salina es prácticamente isopícnica siendo su origen subtropical (ENAW, Pollard y Pu, 1985). En general, los valores más bajos de oxígeno disuelto (fig. 2b) se situó



an hacia el sur, coincidiendo por un lado con los cuerpos de AAIW, pero también con las capas más someras de ENAW, situadas al sur del frente subtropical (STF). Al norte de 36°N se aprecian mínimos relativos de oxígeno próximos a los máximos de MW, localizándose los valores máximos en las capas más someras de NACW.

En la figura 3 se muestran los parámetros medidos del sistema del carbónico. La alcalinidad total normalizada (NTA= 35\* Alcalinidad / salinidad) muestra un lento pero progresivo incremento con la profundidad, con una ligera tendencia a presentar mayor NTA los cuerpos de NACW situados al norte de la STF. El pH<sub>15</sub> muestra un comportamiento similar a la distribución salina por encima de la isopicna de 27.2. Por debajo de la misma, el mínimo de pH<sub>15</sub> en el cuerpo de AAIW es consistente con los bajos valores de oxígeno, mientras que por el contrario los máximos de MW muestran máximos relativos.

A partir de las distribuciones anteriores se han calculado las concentraciones de carbono inorgánico total (TIC) y pCO<sub>2</sub> (Fig 4). La variabilidad del NTIC normalizado (NTIC=35 \* TIC/S) está fundamentalmente regulada por el pH<sub>15</sub>, mostrando una distribución muy similar. Los valores mínimos de pCO<sub>2</sub> se localizan en las capas más someras de NACW próximas al STF, observándose un continuo descenso hacia la isopicna de 27.2 (500 m). Por debajo de esta isopicna y al sur del STF se localiza un fuerte máximo de pCO<sub>2</sub> que contrasta con la distribución más homogénea al norte del STF.

Hasta ahora, hemos descrito los parámetros químicos que definen, en la actualidad, el sistema del carbono en las masas subsuperficiales del Atlántico Nordeste, pero estos parámetros no informan directamente de los valores que alcanzaba la presión parcial de CO<sub>2</sub> cuando estas masas de agua se formaron en el pasado, probablemente en regiones apartadas de la actual zona de estudio. Sabiendo que la descomposición de la materia orgánica conlleva el consumo de oxígeno y una generación de nutrientes, y que las tasas en que lo hacen son relativamente fijas (Redfield et al., 1963, Broecker, 1974), es posible extrapolar las condiciones actuales a las condiciones existentes cuando se generaron estos cuerpos de agua basándose en el carácter conservativo de la salinidad y temperatura, y asumiendo que estas masas de agua se formaban en condiciones de saturación de oxígeno (Anderson et al., 1991):

Si asumimos un modelo de remineralización de la materia orgánica en capas subsuperficiales, con una relación  $\Delta O_2/\Delta C=1.3$  y  $\Delta O_2/\Delta alk=20$  (Takahashi et al. 1985, Minster y Boulahdid, 1987, Pérez et al, 1993), podemos obtener los niveles de TIC y NTA durante la formación de las masas de agua (componentes preformados; TIC°, NTA°) a través de la ecuación:

$$TIC^\circ = TIC - (O_{sat} - O_2)/1.3 = TIC - AOU/1.3 \quad (1)$$

$$NTA^\circ = NTA - (O_{sat} - O_2)/20 = NTA - AOU/20 \quad (2)$$

donde  $O_{sat}$  y AOU son la saturación y la utilización aparente de oxígeno respectivamente, y el superíndice 'o' indica el componente preformado. En la figura 5a se muestra la distribución del pCO<sub>2</sub> durante el momento de la formación de los cuerpos de agua presentes actualmente en el área de estudio. Las masas de agua de más reciente formación (ENAWp) situadas próximas a la capa superficial y al norte de la STF se caracterizan por

valores altos de  $p\text{CO}_2$  preformado, del orden de la  $p\text{CO}_2$  atmosférica existente en 1988. Así mismo, la capa de agua en contacto con la capa superficial al sur de la STF muestra valores altos de  $p\text{CO}_2$  preformado. Por otra parte y tal como se espera, los cuerpos antiguos de AAIW muestran valores bajos y próximos a la  $p\text{CO}_2$  existente en la época preindustrial.

Asumiendo un valor de  $p\text{CO}_2$  en la atmósfera de  $280 \mu\text{atm}$  durante la época preindustrial (Nefel et al. 1985), y la alcalinidad igual a aquella dada por la expresión (2), se estima la concentración de TIC existente durante la formación de los cuerpos de agua antes de la época preindustrial ( $\text{TIC}^\circ$ ). Esta aproximación nos permite también estimar la cantidad de  $\text{CO}_2$  de origen antropogénico que ha captado el océano durante este periodo mediante la expresión:

$$\text{CO}_2 \text{ invasión} = \text{TIC}^\circ - \text{TIC}^\circ \quad (3)$$

En la figura 5b se muestra la distribución del incremento de TIC debido al aumento progresivo de  $p\text{CO}_2$  atmosférico. Los cuerpos de agua más ventilados han incorporado entre 40 y  $50 \mu\text{mol/Kg}$  de TIC, mientras que los cuerpos de agua más antiguos apenas sufren un incremento significativo de TIC. Los cuerpos de MW así como los cuerpos de NACW menos ventilados han adquirido de unos 20 a  $30 \mu\text{mol/kg}$  de TIC. Estos resultados están en el mismo rango que los obtenidos en trabajos anteriores por Chen y Millero (1979) de  $40 \mu\text{mol/kg}$ , y Chen y Pytkowicz (1979) de  $22 \mu\text{mol/Kg}$  de TIC, a partir de datos GEOSECS (1973) en el Atlántico Sur y en el Pacífico respectivamente. Recientemente Anderson et al. (1991) estimaron en  $36 \mu\text{mol/Kg}$  la incorporación de  $\text{CO}_2$  antropogénico en el mar de Weddell.

Con objeto de estimar la edad de las aguas en el área de estudio, hemos linearizado la variación temporal de la  $p\text{CO}_2$  atmosférica, dada por Keeling et al. (1985) en la estación de Mauna Loa, mediante la siguiente expresión :

$$p\text{CO}_2 (\mu\text{atm}) = 279 + \exp(0.054+0.031 (y-1850)) \quad (4)$$

con objeto de obtener la edad de las aguas en el área de estudio asumiendo los valores de  $p\text{CO}_2^\circ$  mostrados en la figura 5a. La edad así obtenida (Fig. 6b) muestra un patrón coherente con los patrones generales de circulación oceánica, donde los cuerpos más jóvenes son los cuerpos de ENAW<sub>p</sub> por encima de la isopícnica de 27.1. Los máximos de MW presentan edades entre 10 a 20 años. Al sur de la STF los cuerpos de ENAW<sub>t</sub> son del orden de 10 a 20 años, exceptuado las capas más próximas a la capa superficial. El agua Agua Intermedia Antártica, es lógicamente la más antigua con una edad superior a los 30 años.

De la misma forma que se han estimado los niveles de  $p\text{CO}_2^\circ$  durante la formación de las masas de agua, y con el objeto de conocer cuáles serán los cambios probables en los contenidos de  $\text{CO}_2$  de estas masas de agua, podemos calcular la  $p\text{CO}_2$  que tendrían estas mismas masas de agua si se hubiesen formado en equilibrio con una atmósfera cuya  $p\text{CO}_2$  fuera de  $350 \mu\text{atm}$ . Este proceso implica una escala de tiempo de varias décadas a cientos de años para alcanzar la recirculación de los cuerpos de agua que actualmente tienen una  $p\text{CO}_2^\circ$  próxima a la preindustrial.

Asumiendo que los cambios de  $p\text{CO}_2$  atmosférico van a motivar cambios relativamente pequeños de la alcalinidad, podemos calcular el  $\text{TIC}^\circ$  en equilibrio con un  $p\text{CO}_2$  de

350 ppm. En una fase posterior, y utilizando la expresión (1) se determina el valor de TIC(350) a partir de TIC° y el AOU medido. Finalmente, a partir de TIC(350) y la alcalinidad se determinan las nuevas pCO<sub>2</sub>(350) (Fig. 6a). Por comparación con la distribución de pCO<sub>2</sub> real observada (Fig. 3b), se deduce que, en estas circunstancias las masas de agua más antiguas, caracterizadas por presentar altos valores de pCO<sub>2</sub> y bajos valores de pCO<sub>2</sub>° aumentarían significativamente sus niveles de TIC y pCO<sub>2</sub>. Así, aunque globalmente el agua oceánica en contacto con la atmósfera presentaría valores de pCO<sub>2</sub> superiores a ésta, la recirculación oceánica traería asociada una captación de CO<sub>2</sub> de origen antropogénico mediante un largo proceso según el cual después de fertilizar las capas de agua superficial, liberando el CO<sub>2</sub> en exceso, la posterior actividad biológica y el posterior hundimiento, reintegraría a las capas profundas cuerpos de agua con presiones parciales de CO<sub>2</sub> aún más elevadas.

## CONCLUSIONES

El ciclo del carbono en las capas subsuperficiales del Atlántico Norte se muestra claramente influenciado por el aumento de los niveles de CO<sub>2</sub> atmosférico originado por el hombre. Esta influencia es lógicamente mayor en el NACW de más reciente formación (capas superiores del ENAW<sub>p</sub> y ENAW<sub>t</sub>) mientras que es pequeña en los cuerpos de AAIW. El MW muestra un comportamiento intermedio.

Aunque a escalas temporales cortas, la ventilación de cuerpos de agua antiguos, caracterizados por pCO<sub>2</sub> altas, suponen una apreciable inyección de CO<sub>2</sub> en la atmósfera, este mismo proceso, incrementa la capacidad de captación de CO<sub>2</sub> por el océano a escalas temporales mayores de un año. En consecuencia y a la luz de los resultados mostrados en este trabajo, cabe deducir que el aumento de los fenómenos de afloramiento y de la mezcla invernal profunda favorecerían, a largo plazo, la captación de CO<sub>2</sub> por los océanos.

## BIBLIOGRAFIA

- Anderson L.G., O. Holby, R. Lindergren y M. Ohlson, 1991. The transport of Anthropogenic Carbon Dioxide into the Weddell Sea. *J. Geophys. Res.*, **96**, C9, 16679-16687.
- Broecker W.S. y T.-H. Peng. 1982. *Tracers in the Sea*, 690 pp. Ed. Lamont-Doherty Geological Observatory. New York.
- Harvey, J. 1982.  $\theta$ -S relationship and water masses in the Eastern North Atlantic. *Deep-Sea Research*, **29**(8): 1021-1033.
- Keeling, C. D. R.B. Bacastow y T. P. Whorf, 1982. Measurements of the concentration of carbon dioxide at Mauna Loa Observatory, Hawaii. In: *Carbon dioxide Review* (W.C. Clark ed.), pp. 377-384.
- Mehrbach, C., C.H. Culbertson, J.E. Hawley y R.M. Pytkowicz, 1973. Measurements of the apparent dissociation constants of carbonic acid in seawater at atmospheric pressure. *Limnol. Oceanogr.*, **18**, 897-906.

- Minster, J.F. y M. Boulahdid, 1987. Redfield ratios along isopycnal surfaces - a complementary study. *Deep-Sea Res.*, **34**, 1981-2003
- Neffel A., Moor E., Oeschger H., Stauffer, B., 1985. *Nature*, **315**, 45-47.
- Pérez F. F., C. Mouriño, F. Fraga y A. F. Ríos. 1993. Displacement of Water masses and remineralization rates the off Iberian peninsula by nutrient anomalies. *J. Mar. Res.*, **51**, 869-892.
- Pérez F.F. y F. Fraga. 1987a. The pH measurements in seawater on NBS scale. *Mar. Chem.*, **21**, 315-327.
- Pérez F.F. y F. Fraga. 1987b. A precise and rapid analytical procedure for alkalinity determination. *Mar. Chem.*, **21**, 169-182.
- Pollard R T y S. Pu. 1985. Structure and ventilation of the upper Atlantic Ocean northeast of the Azores, *Prog. in Ocean.*, **14**, 443-462.
- Redfield, A.C., B.H. Ketchum y F.A. Richards. 1963. The influence of organisms on the composition of sea-water. pp 26-77, En: *The Sea* vol 2, (ed. John Wiley y Sons). New York, 554 pp .
- Ríos A.F., F.F. Pérez y F. Fraga. 1992. Water Masses in the upper and middle Atlantic Ocean East of Azores. *Deep-Sea Res.*, **39**, 645-658.
- Siegenthaler U., 1986. Carbon dioxide: its natural cycle and anthropogenic perturbation. En: *The Role of Air-Sea Exchange in Geochemical Cycling* (P. Buat-Ménard ed.). Reidel Publishing Co, Berlin, pp. 209-247.
- Slengenthaler U. y J.L. Sarmiento, 1993. Atmospheric carbon dioxide y the ocean. *Nature* **365**, 119-125.
- Takahashi T., 1989. The Carbon dioxide puzzle. *Oceanus*, **32(2)** 22-29.
- Takahashi, T., W.S. Broecker y S. Langer. 1985. Redfield ratio based on chemical data from isopycnal surfaces. *J. Geophys. Res.*, **90**, 6907-6924.
- Tsuchiya M, L.D. Talley y M.S. McCartney (1992). An eastern Atlantic section from Iceland southward across the equator. *Deep-Sea Res.*, **39(11/12)**: 1885-1917.
- Weiss, R.F., 1974. Carbon dioxide in water and seawater: the solubility of a non-ideal gas. *Mar. Chem.* **2**: 203-215.

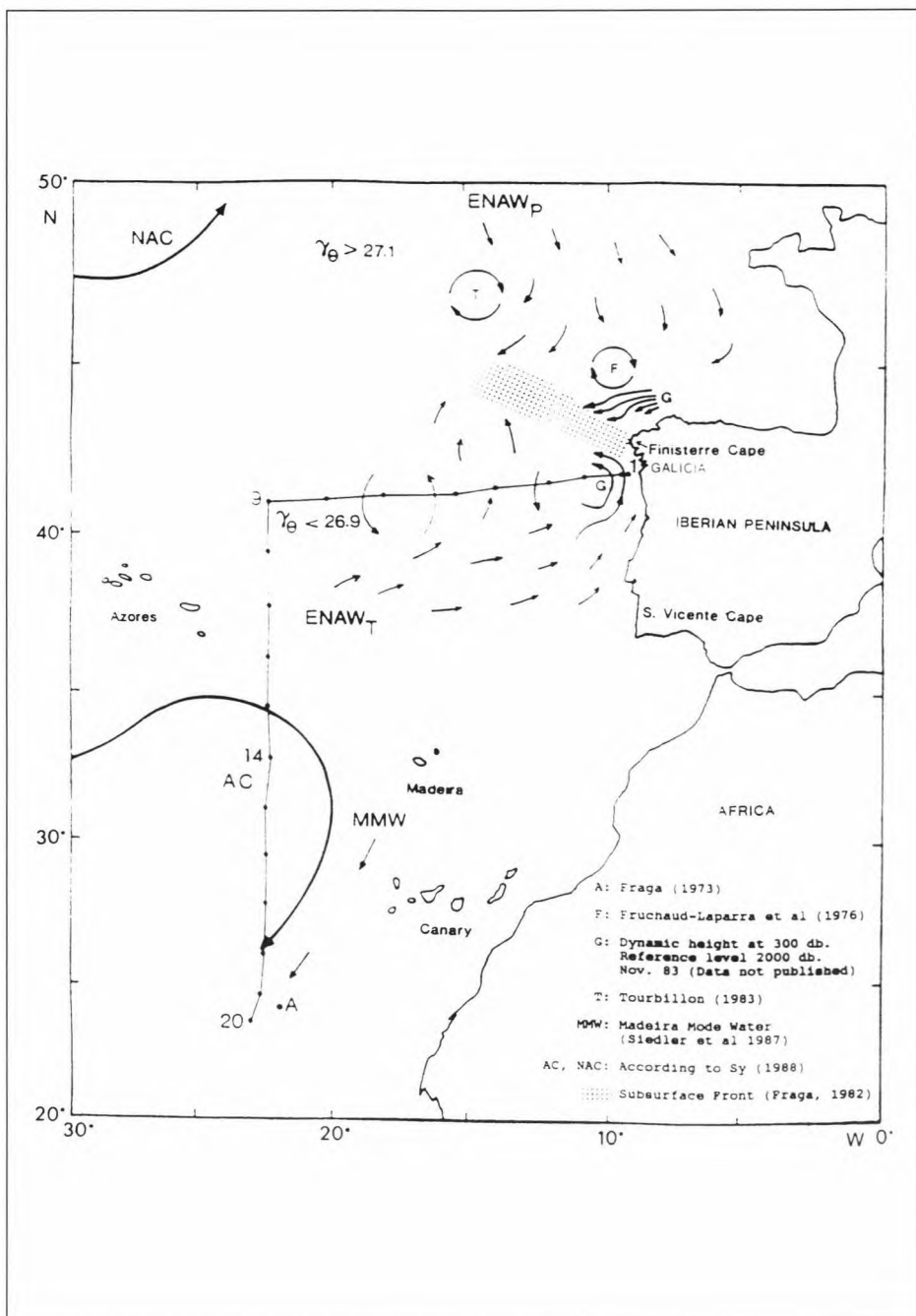


Figura 1.- Esquema de la distribución de ENAW en el Atlántico Norte y posiciones de las estaciones de la campaña "ANA".

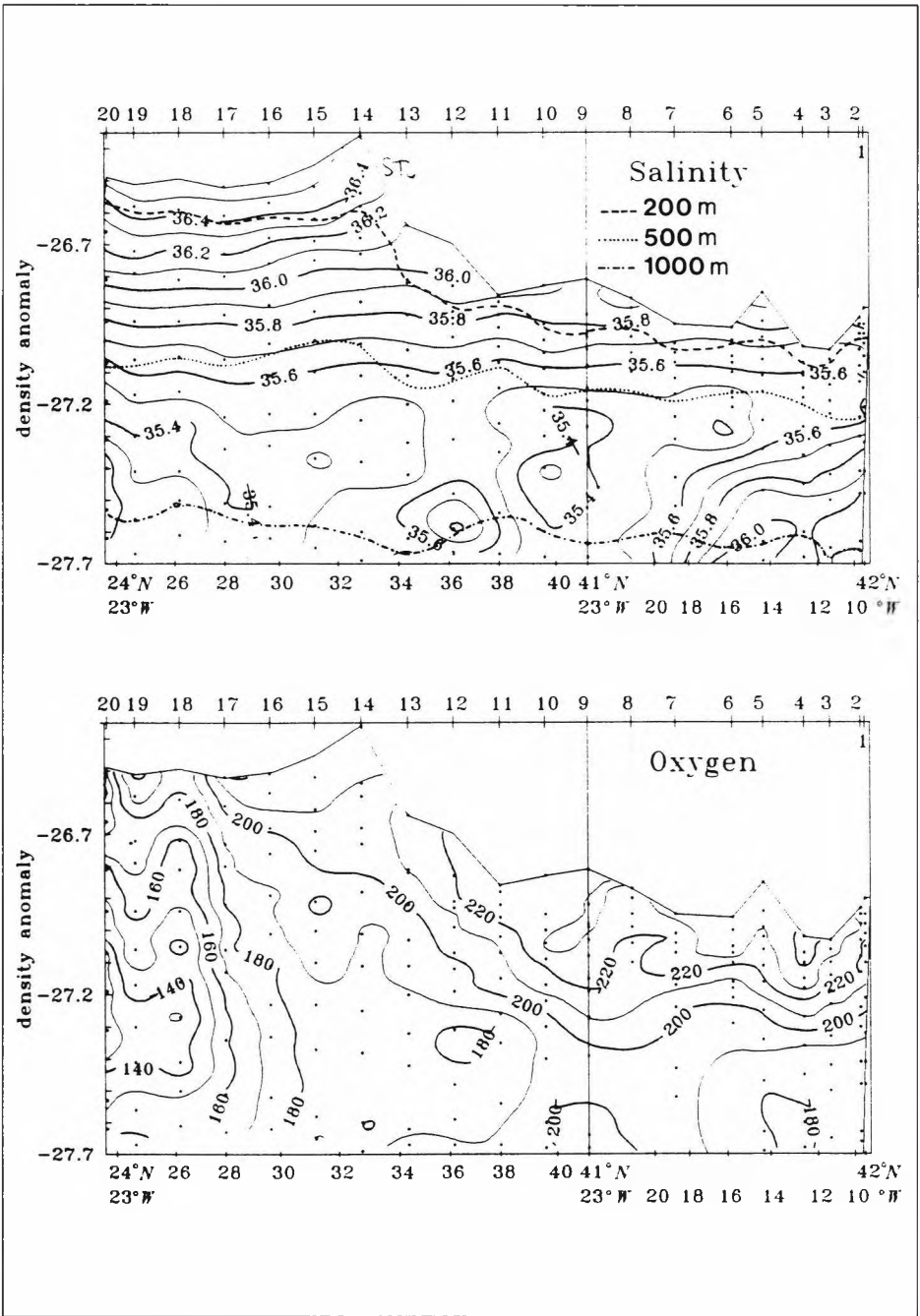


Figura 2.- Distribución de salinidad (a) y oxígeno disuelto (b) frente a anomalía de densidad.

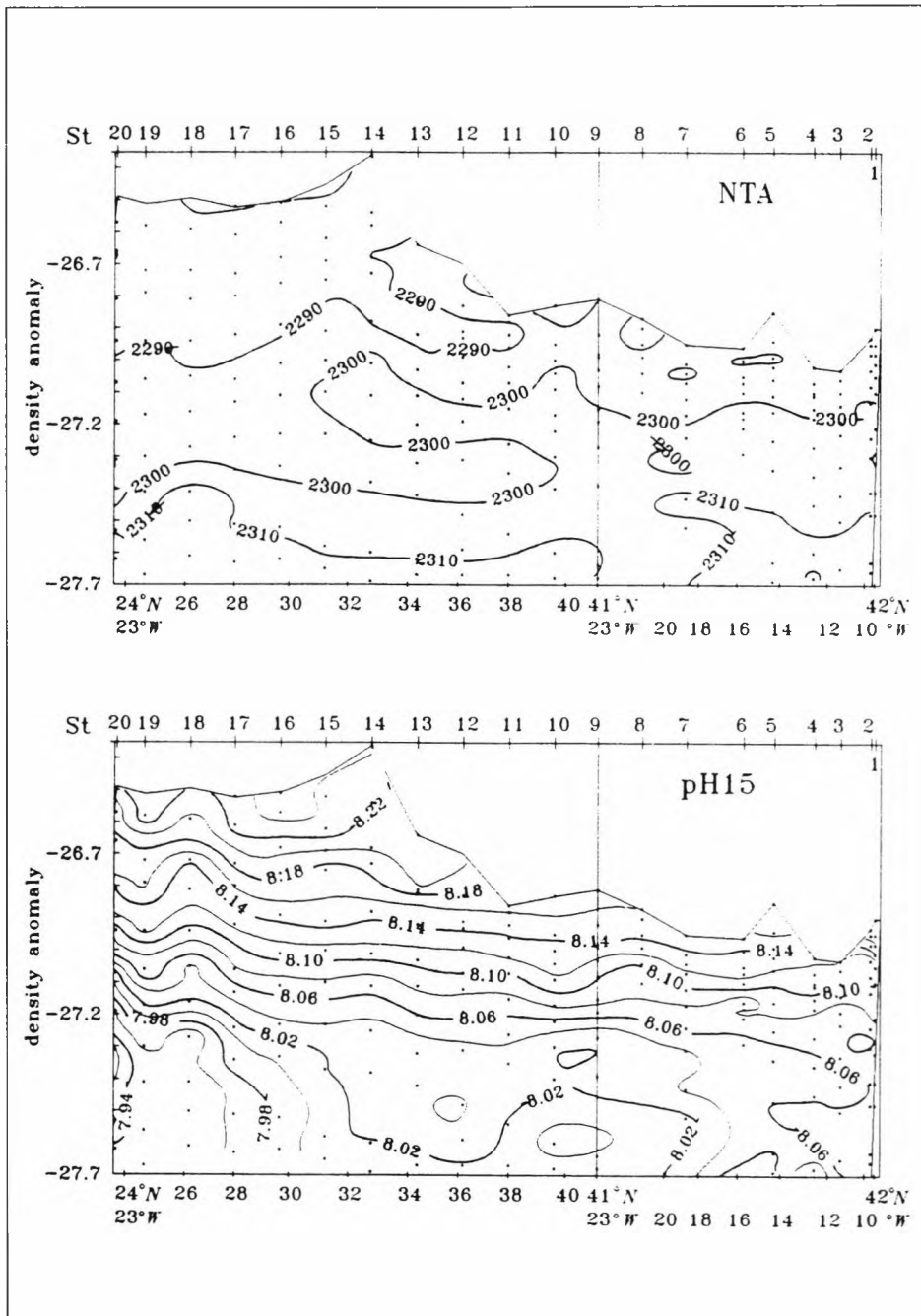


Figura 3.- Distribución de alcalinidad total normalizada (a) y pH<sub>15</sub> (b) frente a anomalía de densidad.

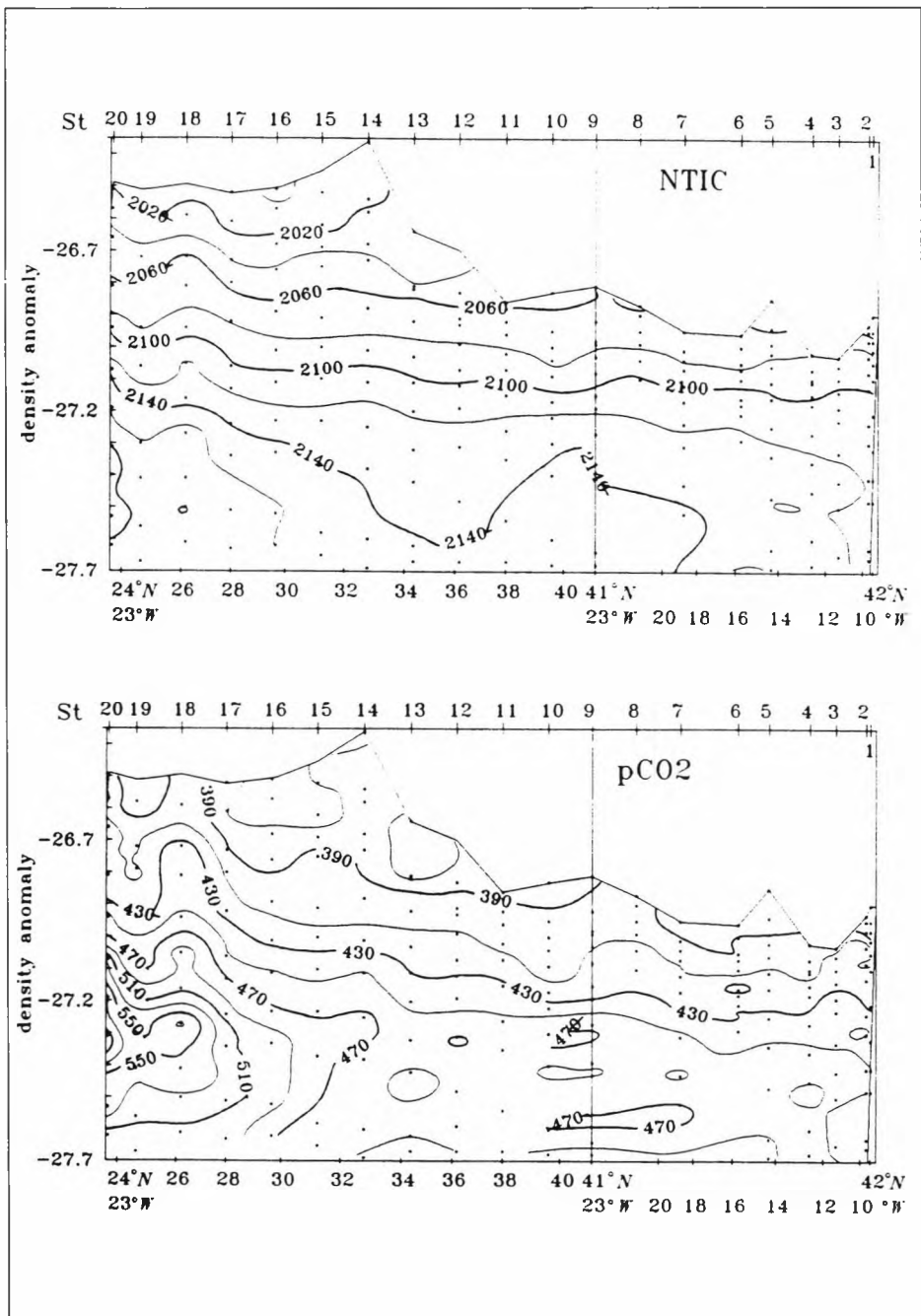


Figura 4.- Distribución de la concentración de carbono inorgánico total normalizado (a) y de la presión parcial de CO<sub>2</sub> (pCO<sub>2</sub>) (b) frente a anomalía de densidad.



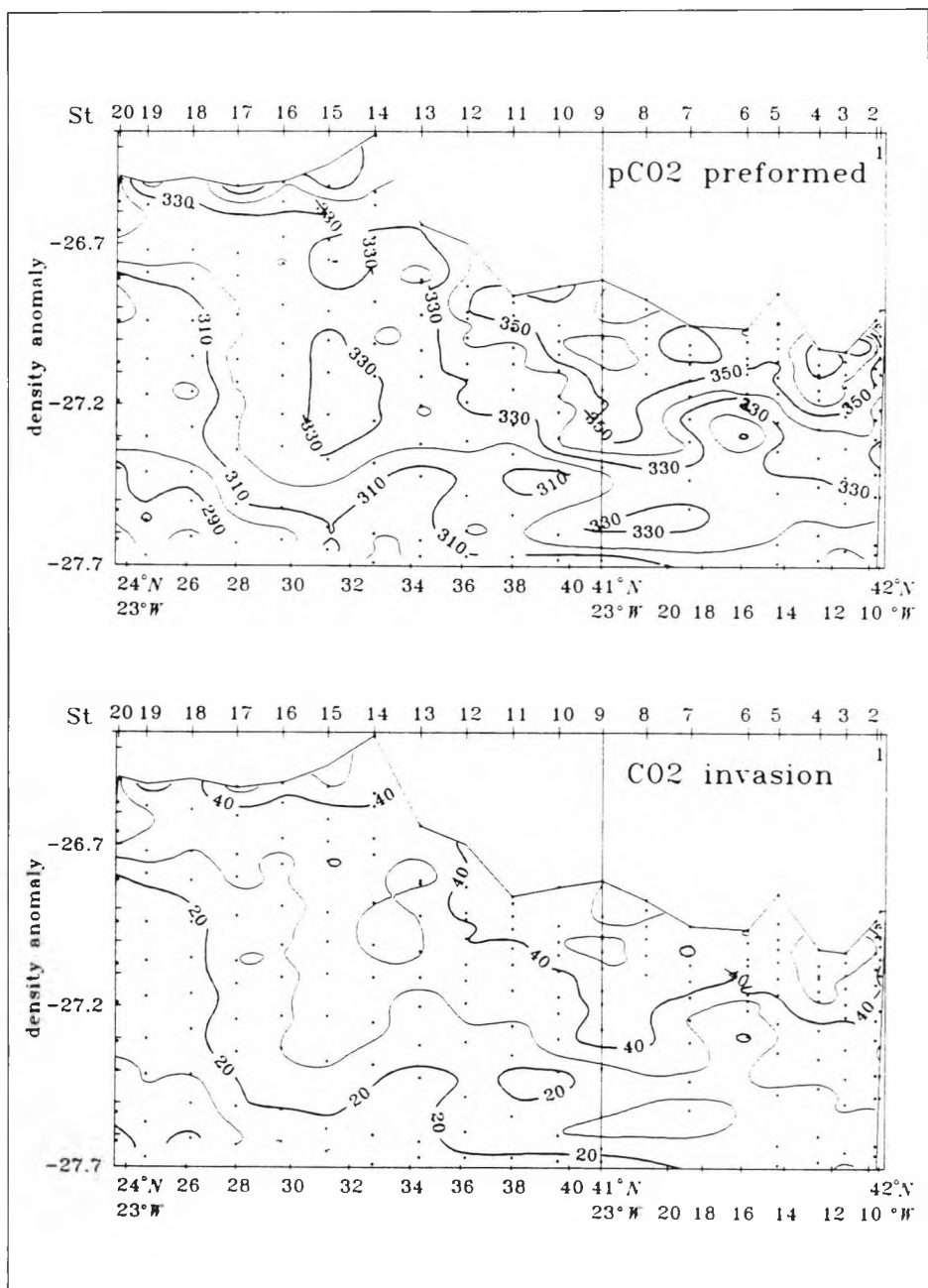


Figura 5.- Distribución de pCO<sub>2</sub> estimada durante la formación de las masas de agua (pCO<sub>2</sub>) (a), y de la cantidad de CO<sub>2</sub> captado por las masas de agua durante la época industrial (b) frente a anomalía de densidad.

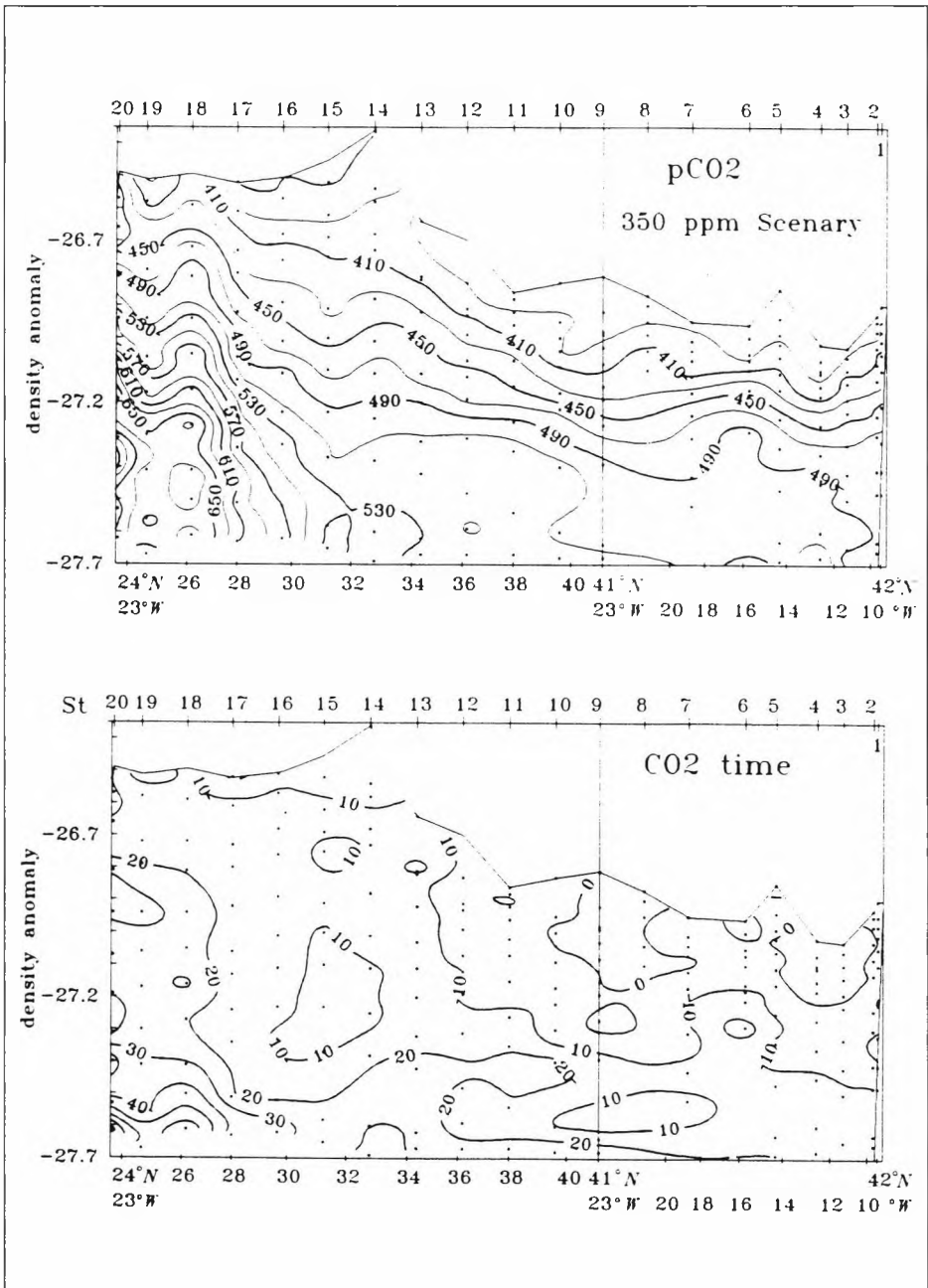


Figura 6.- Distribución de la edad estimada del agua (b) y de la pCO<sub>2</sub> teórica de los cuerpos de agua formados en equilibrio con un atmósfera cuya pCO<sub>2</sub> fuese de 350 ppm (a), frente a anomalía de densidad.



## SIMULACIÓN DE PROCESOS EN ESTUARIOS: APLICACIONES A LA INVESTIGACIÓN Y LA DOCENCIA EN OCEANOGRAFÍA

*Gómez-Parra, A. <sup>1</sup>; Forja, J.M. <sup>2</sup>; Rubio, J.A. <sup>2</sup>; Blasco, J. <sup>1</sup>; DelValls, T.A. <sup>2</sup>; González-Mazo, E. <sup>2</sup>; Frutos, M.D. <sup>2</sup>; Ortega, T. <sup>2</sup>; León, V. <sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía. CSIC. Campus Río San Pedro. 11510 Puerto Real (Cádiz).

<sup>2</sup> Departamento de Química Física. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad de Cádiz. Campus Río San Pedro. 11510 Puerto Real (Cádiz).

### RESUMEN

En este trabajo se presenta un dispositivo experimental de mezcla dinámica de aguas de distinta naturaleza, que permite simular en el laboratorio los gradientes longitudinales de salinidad y los tiempos de residencia que presentaría cualquier estuario en régimen estacionario. En esencia, el equipo se basa en poner en contacto, en contracorriente, un flujo de agua dulce y otro de agua de mar para mantener, en los ocho tanques de que consta, unas salinidades preestablecidas. Se trata, por tanto, del simul de un estuario positivo, verticalmente homogéneo (tipo A de la clasificación de Beer, 1983).

Las dos versiones del equipo que se han construido han sido probadas por los autores y utilizadas en las prácticas de Oceanografía Química por los alumnos de la Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad de Cádiz durante los tres últimos cursos. La experiencia adquirida ha probado su utilidad en la docencia para mostrar el tipo de comportamiento (conservativo o no conservativo) que tienen numerosas sustancias a lo largo de un estuario y calcular, en su caso, las pérdidas o ganancias que experimentan en la fase disuelta.

En este trabajo se muestran algunas aplicaciones al estudio de la reactividad de nutrientes y elementos mayoritarios en el agua de mar y se discute su utilidad como un ins-

trumento de apoyo a la investigación en sistemas litorales en los que existen gradientes acusados de salinidad.

## SUMMARY

In this work we present an experimental device for dynamic mixing water of different salinity, which permit us simulate the longitudinal profile of salinity and the flushing time which would present any estuary in steady state.

During the last three years, the device have been tested by the authors and used in the practical teaching in the Faculty of Marine Science of the Cadiz University. The acquired experience has proved that it is a very useful procedure to show the behaviour of a lot of chemicals along an estuary. In the case of a not conservative behaviour, the extend of gains or losses of a substance in the dissolved phase can be calculated.

This paper shows some of the applications of the simulator in the study on the reactivity of nutrients and the major elements of seawater. We also discuss its utility as an instrument which could help on investigations in littoral ecosystems subjects to a high gradients of salinity.

## INTRODUCCION

La caracterización del comportamiento de una especie química en un estuario es una cuestión compleja. A los problemas generales que se plantean en la formulación de la ecuación de dispersión en un medio no confinado se unen otros específicos, que derivan de la alteración de los flujos por los propios límites del estuario, que hacen que generalmente no sea posible su resolución exacta.

No obstante, para muchos estuarios que pueden ser incluidos en el grupo A de la clasificación de Beer (verticalmente homogéneos) en los que, además, el recorrido de marea es poco variable a lo largo del mismo, pueden asumirse algunas simplificaciones que permiten obtener resultados de gran utilidad. Estas aproximaciones al problema real consisten en suponer que el estuario es monodimensional y admitir que se encuentra en condiciones estacionarias. Debe considerarse también que se desea obtener la información sobre una sustancia dada solo de una manera promediada a lo largo de varios ciclos de marea.

En estas condiciones, la ecuación general de dispersión adopta una forma sencilla, fácilmente integrable, que permite conocer el flujo másico de cualquier sustancia en sentido longitudinal, si se conocen algunos datos relativos al estuario y el coeficiente longitudinal de dispersión de la sustancia en cuestión.

Para aquellas sustancias que experimentan un comportamiento no conservativo es necesario considerar además de los términos de difusión y advección, uno que tenga en cuenta la aparición o desaparición de la sustancia como consecuencia de una reacción química. Este término de reacción suele considerarse que depende de manera directa de la concentración. Esta aproximación es generalmente demasiado grosera, ya que la reactividad de

una especie química en un estuario puede estar provocada por numerosos procesos, que van desde los puramente químicos hasta otros de índole biológica, que difícilmente pueden ser tratados de manera conjunta con una expresión cinética de orden uno.

Además, con independencia de cual sea el orden de reacción, tanto si se trata de una reacción química en sentido estricto o de la expresión formal de un conjunto de procesos que afectan a la concentración de una sustancia, las constantes de velocidad pueden depender de una manera muy acusada de las condiciones fisicoquímicas del medio. Algunas de ellas, como la fuerza iónica o el pH, experimentan durante el proceso de mezcla en los estuarios las mayores variaciones que se pueden registrar en el medio marino.

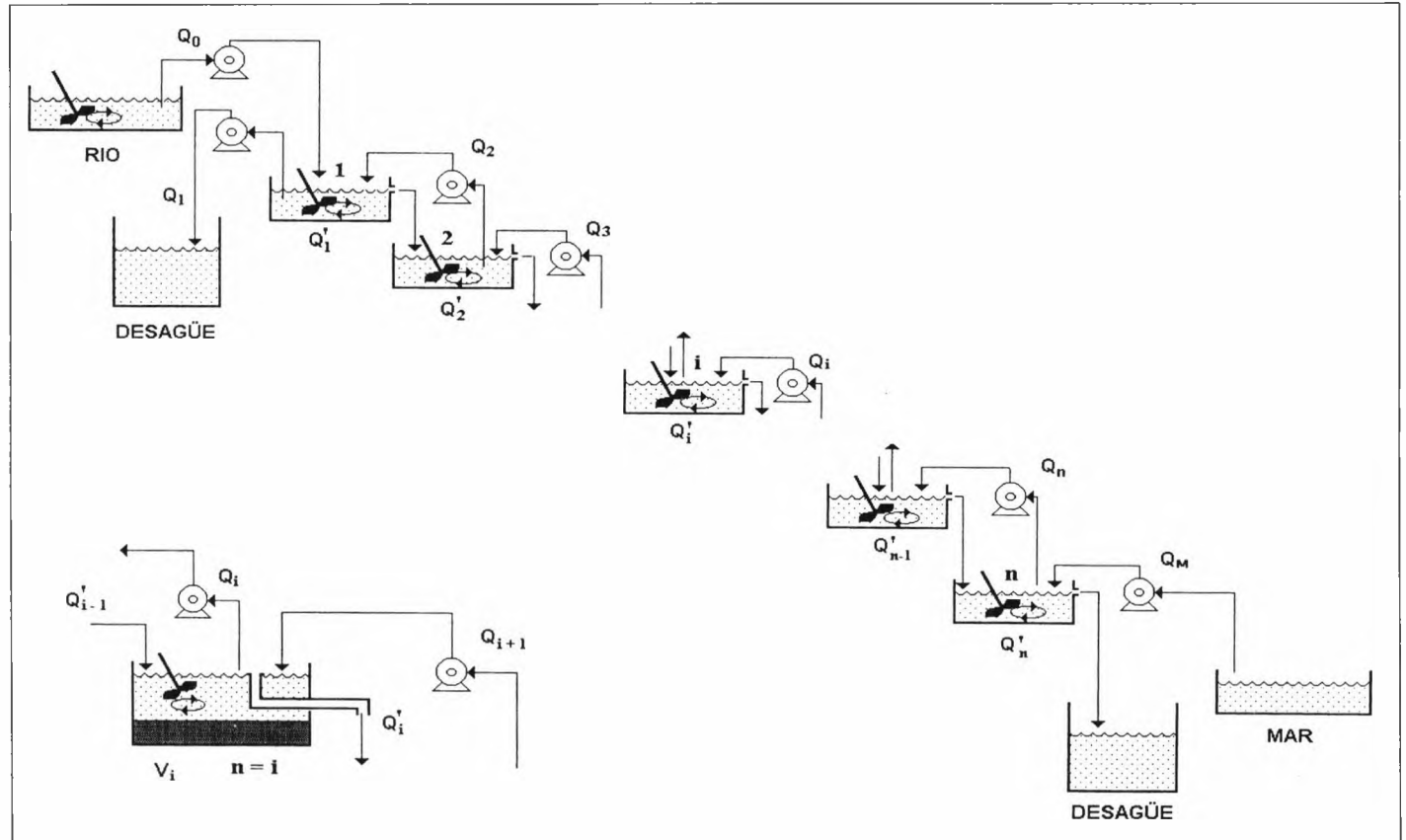
La determinación de las ecuaciones cinéticas y de las constantes de velocidad para aquellos procesos que inducen un comportamiento no conservativo requieren de la experimentación bajo las condiciones cambiantes de un estuario. La dificultad que presenta el estudio de estos sistemas es evidente, por lo que, en este caso, la simulación en el laboratorio de los procesos que se desean conocer resulta especialmente útil.

Básicamente existen dos procedimientos para simular el gradiente de salinidad en el que se desea estudiar un determinado proceso: de manera discontinua, dejando que éste transcurra en recipientes aislados a salinidades preestablecidas o realizando la mezcla de aguas de distintas salinidades de manera continua. Este segundo procedimiento es más complejo, aunque simula mejor las condiciones naturales en que se produce el tránsito de una sustancia dada a lo largo de un estuario concreto.

En este trabajo se describe un simulador de mezcla dinámica -construido inicialmente con una finalidad docente- y se presentan los resultados obtenidos en ensayos realizados para determinar el comportamiento de nutrientes y algunos elementos mayoritarios del agua de mar en un estuario. En concreto, los objetivos que se perseguían eran: 1) Verificar las prestaciones del simulador en términos de las posibilidades de generación de gradientes de salinidad en estado estacionario, la estabilidad del sistema durante la simulación y el grado de aproximación a un estuario del tipo A de la clasificación de Beer (1983), y 2) Determinar mediante simulación la reactividad en un estuario de nutrientes ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  y  $\text{SiO}_2$ ) y determinados elementos mayoritarios del agua de mar ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{F}^-$  y  $\text{B}(\text{OH})_3$ ).

## DESCRIPCION DEL SIMULADOR

En la figura 1 se muestra un esquema del equipo construido. En esencia, el equipo realiza una mezcla dinámica de aguas de distintas salinidades poniendo en contacto, en contracorriente, un flujo de agua dulce con otro de agua de mar. En cada uno de los ocho tanques de que consta el equipo, que representan diferentes zonas del estuario, se realiza una mezcla completa de los caudales de agua que acceden a ellos. Los tanques están dispuestos en una estructura de manera que el fondo de cada uno de ellos está a un nivel inferior que el del precedente. Las dimensiones que se dió a la estructura permiten utilizar tanques de hasta 80 litros de capacidad. El equipo está basado en una idea original de Bale y Morris (1981), aunque es notablemente superior en cuanto a sus dimensiones y prestaciones. En la figura 2 puede apreciarse una vista casi general del dispositivo experimental.



**Figura 1.** Representación esquemática del simulador dinámico de estuarios. En la parte inferior izquierda se indica la notación de los flujos empleada para los balances de masas (ver texto).

El flujo ascendente de agua salina desde cada tanque al inmediatamente superior se consigue por medio de bombas peristálticas, cuyos caudales  $Q_i$  pueden ser iguales o distintos. El tanque situado en el nivel inferior se alimenta con agua de mar a razón de  $Q_M$  mL  $\text{min}^{-1}$ . El flujo de agua de río se introduce en el sistema a través del tanque primero, con otra bomba que proporciona un caudal  $Q_0$ . En cada tanque se mantiene el volumen constante por medio de un rebosadero que vierte al tanque inmediatamente inferior un caudal  $Q'_i$ , resultante de la diferencia entre el agua que entra en el tanque, ya sea por rebose desde el tanque  $i-1$  ( $Q'_{i-1}$ ) o por bombeo desde el  $i+1$  ( $Q_{i+1}$ ), y la que se retira hacia el tanque  $i-1$  ( $Q_i$ ) y el  $i+1$  ( $Q'_i$ ). El criterio seguido para la notación de los caudales se indica en la figura 1.

El sistema de rebose instalado en los tanques permite poner en ellos sedimento y fijar el volumen de agua sobrenadante, con lo que se puede elegir el tiempo de flujo en cada uno de ellos. Los tanques se mantienen con una agitación suficiente para asegurar que la salinidad es uniforme en el interior.

En estas circunstancias, el equipo reproduce las condiciones de un estuario verticalmente homogéneo (tipo A de la clasificación de Beer, 1983). Si los caudales  $Q_0$ ,  $Q_M$  y  $Q_i$  se mantienen constantes, la simulación correspondería al sistema en estado estacionario, esto es, cuando  $(\delta S/\delta t)_i=0$ . Esta abstracción limita la capacidad predictiva de la simulación, ya que corresponde a una escala temporal superior a la del periodo de las mareas y a la del tiempo de flujo en el estuario. No obstante, proporciona la información que se requiere cuando lo que se pretende es determinar el comportamiento de una sustancia en un estuario, y no el estudio de cuestiones esporádicas, u ocasionales, producidas por variaciones súbitas del caudal del río o de la concentración de las especies que se investigan.

El equipo permite simular cualquier gradiente longitudinal de salinidad que presenten los estuarios reales. Para ello, los caudales  $Q_i$  de las bombas pueden obtenerse a partir de las salinidades que se desea obtener en cada tanque por medio de las 16 ecuaciones siguientes (para  $1 \leq i \leq 8$ ):

$$Q'_{i+1} + Q_{i+1} = Q_i + Q'_i \quad (1)$$

$$(Q'_{i-1} + Q_{i-1}) S_{i-1} + (Q_{i+1} + Q'_{i+1}) S_{i+1} = (Q_i + Q'_i) S_i \quad (2)$$

Las ecuaciones (1) constituyen un balance de masas general para cada tanque y las ecuaciones (2) son los balances particulares referidos a las sales. Estos balances consideran de manera implícita que el volumen y la salinidad de cada tanque no varían con el tiempo. En esas expresiones se ha considerado también que la densidad del agua es igual a 1 en todo el estuario.

A diferencia de los demás  $Q_i$ , el valor de  $Q_1$ , que se desagua, puede ser cero (Fig. 2). En ese caso existe en los primeros tanques una mayor influencia del agua dulce, aunque el tiempo de residencia en el primero de ellos varía considerablemente con respecto a los siguientes.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Condiciones de operación utilizadas

Se han realizado dos ensayos con gradientes de salinidad diferentes. En ambos casos se utilizó para producir los caudales  $Q_i$  una única bomba multicanal, por lo que todos los





Figura 2. Vista parcial del simulador de estuarios.

**Tabla 1.**

Condiciones de operación de los ensayos de simulación.

Gradiente	Simulación 1	Simulación 2
nº de tanques	8	8
$Q_0$ (mL min <sup>-1</sup> )	26,1	12,5
$Q_1$ (“)	0	0
$Q_2$ (“)	25	25
$Q_m$ (“)	25	25
$T_1$ (h)	7,65	15,51
$T_8$ (h)	3,96	4,84
$T_{Total}$ (días)	2,22	3,98

$Q_i$  se mantuvieron iguales entre sí. Los distintos gradientes utilizados se generaron, por tanto, variando la relación  $Q_m/Q_i$ . El volumen  $V_i$  fue también igual para todos los tanques en los dos ensayos realizados. En la tabla 1 se han resumido las condiciones de operación de los dos ensayos realizados.

Los gradientes de salinidad se generaron a partir del simulador lleno de agua de río. En la figura 3 se muestra la variación que experimentó con el tiempo el gradiente de salinidad. Puede observarse que a partir de los tres días (unas 1,3 veces el tiempo de flujo del simulador), el perfil de salinidades se aproxima mucho al teórico. No obstante, los muestreos se realizaron en todos los casos 10 días después del comienzo de los ensayos. En este momento, el grado de concordancia de la salinidad de los distintos tanques con los valores previstos fue muy bueno (Fig. 4).

El agua de mar utilizada se tomó en la bahía de Cádiz, en un punto próximo al bajo de La Cabezueta. Los muestreos se hicieron en pleamar y se tomó un volumen en torno a 400 L para asegurar que no existieran variaciones en la composición durante cada ensayo. El agua de mar se filtró a través de 45  $\mu$ m. El agua de río de la primera simulación procedía del embalse de los Hurones y se tomó en la arqueta de recepción de la planta depuradora de El Montañés, en Puerto Real. Para la segunda simulación se utilizó agua mineral embotellada a la que se añadió sedimentos del embalse de los Hurones de manera que se mantuviera, en todos los tanques, una concentración de sólidos en suspensión en torno a 100 mg L<sup>-1</sup>.

### Estrategia de muestreo

Una vez que el simulador alcanzó las condiciones estacionarias en lo que se refiere al gradiente longitudinal de salinidad, se procedió al muestreo de los 8 tanques que constitu-

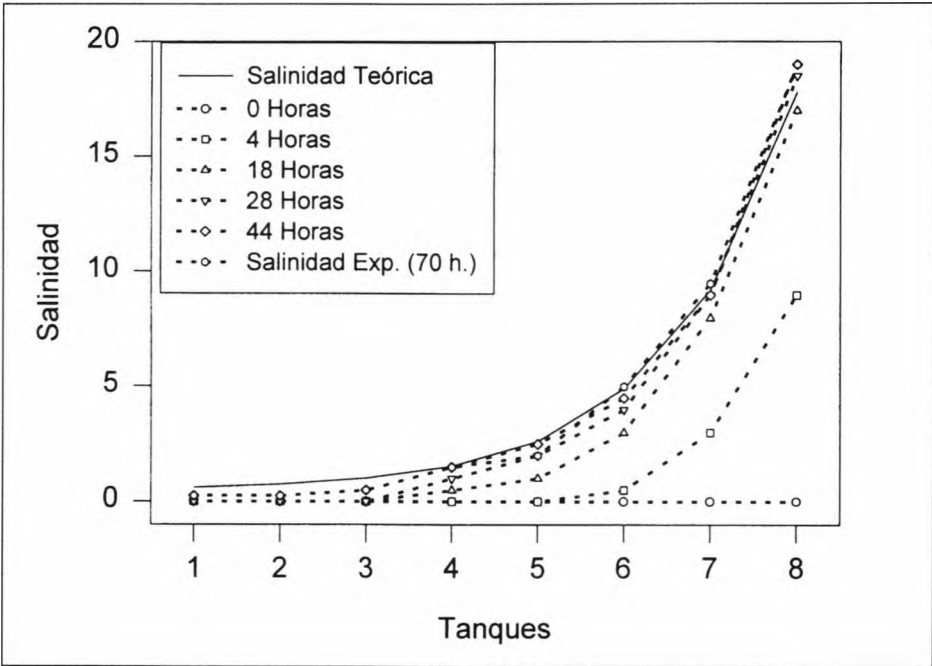


Figura 3. Desarrollo temporal del gradiente de salinidad en el simulador.

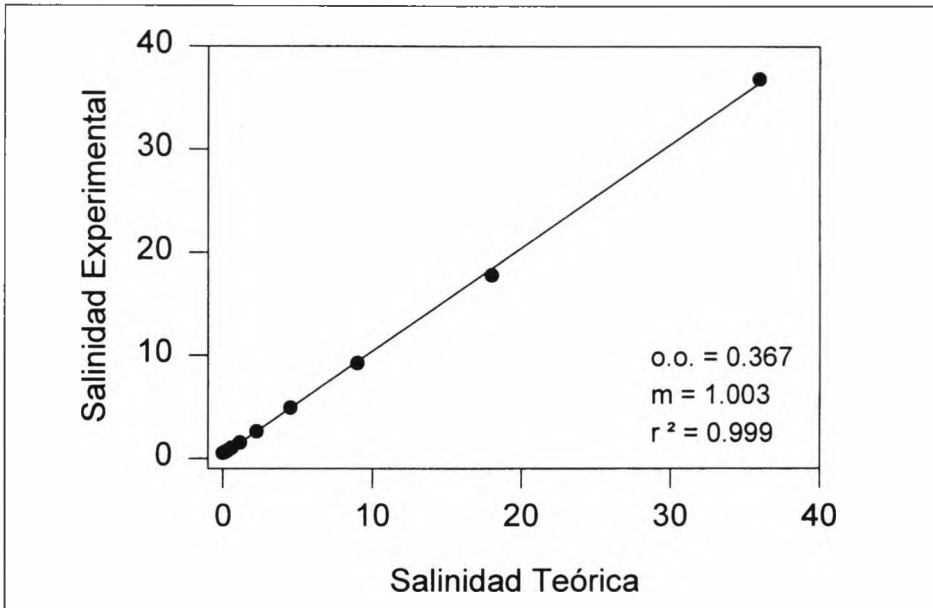


Figura 4. Salinidad medida en los distintos tanques del simulador frente a los valores calculados a partir de los balances de masa.

yen el simulador, así como los que contenían el agua de mar y de río. Para ello se pararon las bombas y los aireadores dispuestos en los tanques 10 minutos antes.

Las muestras se tomaron con botes que previamente se habían lavado con  $\text{HNO}_3$  (Grashoff *et al.*, 1983). En un plazo inferior a dos horas, las muestras se filtraron a través de filtros de acetato de celulosa de  $0,22\mu\text{m}$  (MILLIPORE). Las alícuotas que se destinaron a la medida de la concentración de nutrientes se congelaron a  $-20^\circ\text{C}$  hasta su análisis. Las muestras en las que se midió la alcalinidad se mantuvieron a  $4^\circ\text{C}$  en frascos de polietileno completamente llenos y cerrados herméticamente. Estos análisis se realizaron en un plazo inferior a 3 días.

### Métodos analíticos

La salinidad se midió con un salinómetro de inducción BECKMAN modelo RS-10 con control automático de temperatura, que fue calibrado previamente con agua de mar estándar (IAPSO, bath P93), Los nutrientes se analizaron con un autoanalizador de flujo continuo segmentado (TRAACS 800 de Technicon). Los circuitos analíticos empleados fueron descritos por Arjonilla *et al.* (1990). Para el análisis de fluoruro se empleó una modificación del método espectrofotométrico basado en la formación de un complejo con alizarina, propuesto por Gremhalgh y Riley (1961). La concentración de sulfato se midió a través de una modificación del método gravimétrico convencional (Forja, 1991). La concentración de borato se obtuvo a partir de la modificación de Uppström (1968) del método espectrofotométrico de la curcumina (Grasshoff *et al.*, 1983). Para la determinación de oxígeno disuelto se utilizó una adaptación de Strickland y Parsons (1972) del método iodométrico clásico del Winkler. La determinación de cloruros se realizó por medio de una valoración potenciométrica de las muestras con  $\text{AgNO}_3$  (0.1 M), que se siguió con un electrodo de potencial redox (Metrohm, ref. 6.0412.100). La determinación de la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  se realizó por medio de una valoración potenciométrica utilizando un electrodo selectivo de Ca (Metrohm, ref. 6.1441.050) y como agente valorante ácido etilenglicol-bis-(2-aminoetiler)-N,N,N',N', tetracético (EGTA) 0.01 M. Para estas tres últimas determinaciones se empleó un valorador automático (Metrohm 670 titiprosesor), provisto de un dosificador automático Dosimat.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Comportamiento de nutrientes

El fosfato muestra en el ensayo realizado un comportamiento claramente no conservativo (Fig. 5A), que coincide con lo obtenido generalmente en trabajos de campo (e.g., Aston, 1980; Clark *et al.*, 1992; Lebo, 1991; Lebo *et al.*, 1992; Balls, 1994). Las pérdidas en la fase disuelta se producen en la región de salinidades bajas, llegándose a obtener para una salinidad en torno a 5 una concentración aparente en el agua de río ( $c^* = c - s (dc/ds)$ ) cuyo valor es  $9,1\mu\text{M}$ . Esto supone una pérdida de fosfato en la parte alta del simulador de  $0,11 \text{ mmol día}^{-1}$ , que representa el 25% de la cantidad total que entra en el sistema en fase disuelta a través del agua del río.

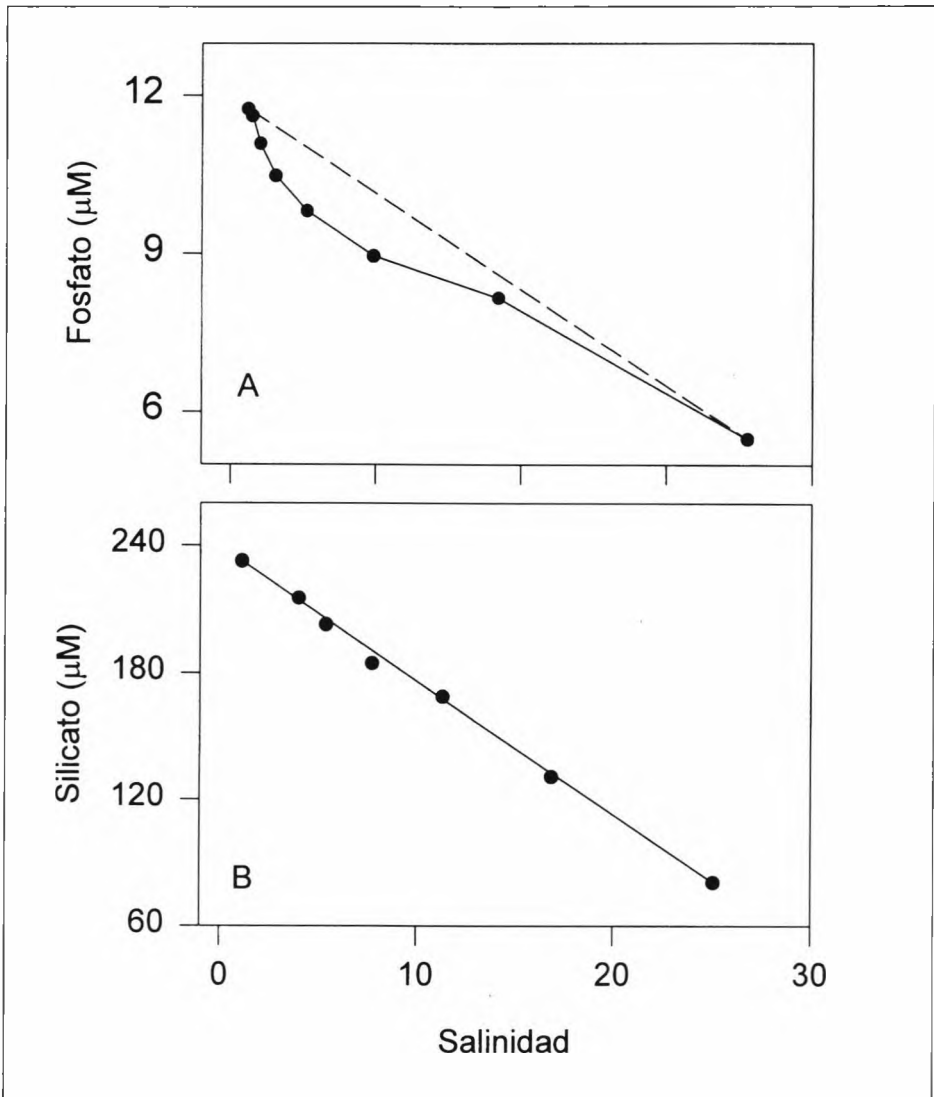


Figura 5. Perfil longitudinal de la concentración de fosfato y silicato en el simulador de estuarios.

Es conocido que el fosfato tiene una acusada tendencia a adsorberse sobre los óxidos hidratados de hierro, que tienen una elevada superficie específica. La precipitación de estos hidróxidos se produce preferentemente en la zona alta de los estuarios, ya que pequeños aportes de agua de mar provocan un notable aumento del pH. A la retirada de fosfato en esta zona del estuario puede contribuir también su precipitación como fosfato cálcico (Prego, 1990). Por otra parte, Clavero *et al.* (1990), han señalado que un aumento de la

salinidad favorece la desorción del fosfato desde el sedimento, por lo que en las proximidades del límite marino del simulador la separación del comportamiento conservativo no es tan acusada.

Los valores tan elevados que se han obtenido para la pérdida de fosfato en la simulación realizada guarda relación con la calidad del agua dulce empleada. En este ensayo procedía del embalse de Los Hurones y fue tomado cuando éste tenía un nivel muy bajo. En estas circunstancias, su contenido en metales pesados, sobre todo Fe y Mn era muy elevado (Confederación Hidrográfica del Guadalquivir, comunicación personal).

El silicato, cuya variación con la salinidad se muestra en la figura 5B, no experimentó pérdidas ni ganancias, en la fase disuelta. Este comportamiento conservativo guarda relación con la baja reactividad de este nutriente, y coincide con el que se ha encontrado en el estudio de numerosos estuarios (e.g. Wollast, 1973; Máeda, 1952, 1953; Máeda y Takesue, 1961)

Las distintas formas del N inorgánico mostraron un comportamiento diferente (Fig. 6). Para el nitrato se obtuvo una ganancia, mientras que para el nitrito y el amonio se produjeron pérdidas. En los tres casos el paso hacia o desde la fase disuelta fué muy apreciable y tuvieron lugar preferentemente en la zona de mayor influencia fluvial.

Existen pocas referencias en las que se haya abordado en sistemas reales el estudio conjunto de las tres formas del N inorgánico. En los trabajos de campo se han encontrado casi exclusivamente la determinación del comportamiento del nitrato, ya que constituye la especie nitrogenada predominante en los estuarios (Shenguan, 1993). Steffanson y Richard (1963) encontraron un comportamiento no conservativo para el nitrato en el estuario del Columbia, especialmente en sus zonas menos salinas. En ese mismo trabajo se determinó que el nitrito y amonio presentaban también una alta reactividad, pero en estos casos su reactividad se manifestaban a todo lo largo del estuario. Mackay y Leatherland (1976) encontraron que el nitrato experimentaba pérdidas que imputaron a su consumo por el plancton y a la reducción a través de la desnitrificación en condiciones deficitarias de oxígeno.

En la simulación realizada se ha obtenido que el nitrato experimenta una ganancia en la fase disuelta, que sólo es aplicable por alguno de los siguientes procesos: i) la liberación, vía desorción o solubilización, desde la fase particulada, ii) su regeneración a través de la materia orgánica disuelta o particulada, y iii) que exista una interconexión entre las distintas formas inorgánicas del nitrógeno.

La primera de las posibilidades apuntadas es poco verosímil, ya que el nitrato no tiende a adsorberse ni forma sales insolubles. Su aparición como consecuencia de la mineralización del N orgánico es también poco probable, ya que si esa fuera la causa, debería de producirse con anterioridad un aumento de la concentración de amonio.

Por exclusión, podría explicarse la ganancia de nitrato en la fase disuelta como consecuencia de la nitrificación. Esta idea explicaría también las pérdidas que experimentan el nitrito y el amonio. Por otra parte, la representación de la suma de las concentraciones de las especies inorgánicas del nitrógeno frente a la salinidad se aproxima a una línea recta (Fig. 7A), lo que podría expresarse en términos de un comportamiento conservativo del N

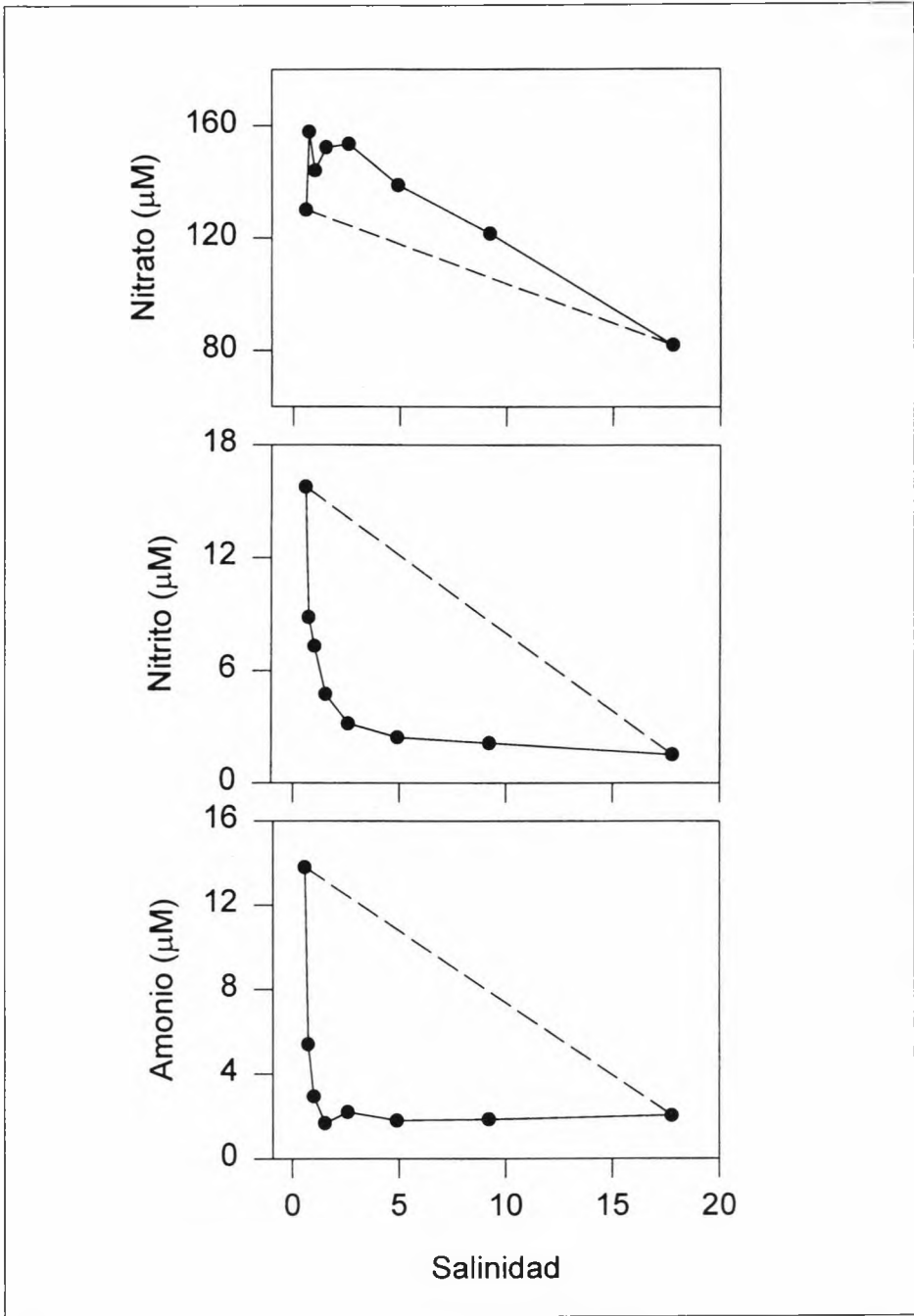


Figura 6. Perfil longitudinal de la concentración de nitrato, nitrito y amonio en el simulador de estuarios.

inorgánico. Este hecho, refuerza la hipótesis de la oxidación de amonio y nitrito a través de la nitrificación. No obstante, es una idea generalizada que la velocidad con que transcurre la nitrificación en condiciones de naturales es lenta, lo que está en contradicción con la necesidad de que el proceso deba producirse en días, que es el tiempo de residencia del agua en el simulador.

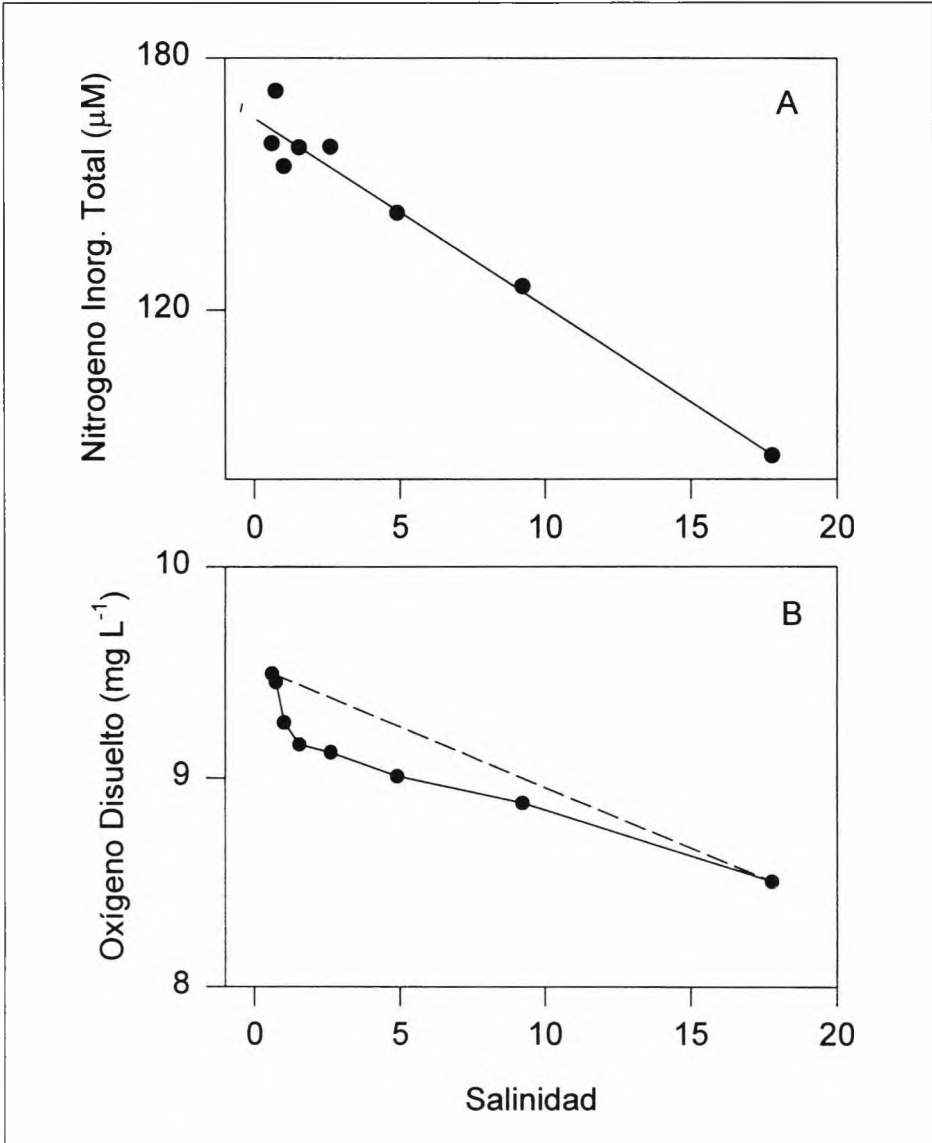


Figura 7. Perfil longitudinal de la concentración de nitrógeno inorgánico total y de oxígeno disuelto en el simulador de estuarios.



Aunque no se dispone de pruebas concluyentes, puede establecerse la hipótesis de que la oxidación a nitrato sea más rápida en las condiciones en las que se realizó el ensayo. Al trabajar con aguas naturales que experimentaron un cierto estancamiento en su tránsito por el simulador pudo favorecerse el desarrollo de la flora bacteriana responsable de la nitrificación. La existencia de una intensa actividad microbiana puede inferirse de la evolución que experimentó la concentración de oxígeno disuelto a lo largo del simulador (Fig. 7B). A pesar de que todos los tanques estaban fuertemente aireados el porcentaje de saturación de oxígeno osciló entre el 82 y el 92 %. Además, el mayor déficit de oxígeno se producía en la zona en la que la ganancia de fosfato es mayor.

### Comportamiento de elementos mayoritarios

En la figura 8 se muestra la variación de la concentración del sulfato y del borato en función de la salinidad. En lo que respecta al sulfato, no existen muchas diferencias de su comportamiento en los estuarios. Hosawaka *et al.* (1970) encontraron que mantenía un comportamiento conservativo en el estuario del Chikugogawa, coincidente con el obtenido en la simulación realizada. Para el borato se ha obtenido un comportamiento claramente conservativo. En el ensayo en que se estudió la reactividad de este anión, se mantuvo en el simulador una alta concentración de sólidos en suspensión, por lo que las pérdidas de borato en la fase disuelta deben imputarse a su adsorción sobre este material particulado. El efecto de este proceso en la eliminación del boro es, por otra parte, bien conocido (Levinson y Ludwick, 1966; Liss y Pointon, 1973). Al igual que ocurre con otros aniones orgánicos (Rubio *et al.*, 1994), la adsorción es más intensa a medida que aumenta la salinidad.

Al igual que para numerosos estuarios reales (e.g., Windom, 1971; Warner, 1972; Hosawaka *et al.*, 1970), se ha encontrado que el fluoruro no presenta ninguna reactividad en el simulador (Fig. 9A). Para el cloruro se ha obtenido, lógicamente, una relación lineal con la salinidad a lo largo de todos los tanques. El cloruro es el índice conservativo de mezcla por excelencia y su utilización está recomendada sobre todo en los estuarios que reciben aguas continentales con un elevado contenido salino, ya que en esos casos no suele mantenerse la misma proporción entre la concentración de los iones que existe en el agua de mar. Esta circunstancia hace que el concepto de salinidad no sea aplicable, en un sentido estricto, en el límite fluvial del estuario.

La relación obtenida entre la salinidad y la concentración de cloruro ha sido:

$$S = 1.805 [\text{Cl}] + 0.09$$

Cuando [ Cl ] se expresa en g Kg<sup>-1</sup> y S se mide en la escala práctica de salinidades.

Esta relación es diferente a la que se admite para el agua de mar, lo que confirma lo expuesto anteriormente.

La relación entre el calcio y la salinidad que se muestra en la figura 10 es aproximadamente lineal, lo que sugiere que su comportamiento es también conservativo. Gordeev *et al.* (1993) encontraron una tendencia similar en el estuario del Lena.

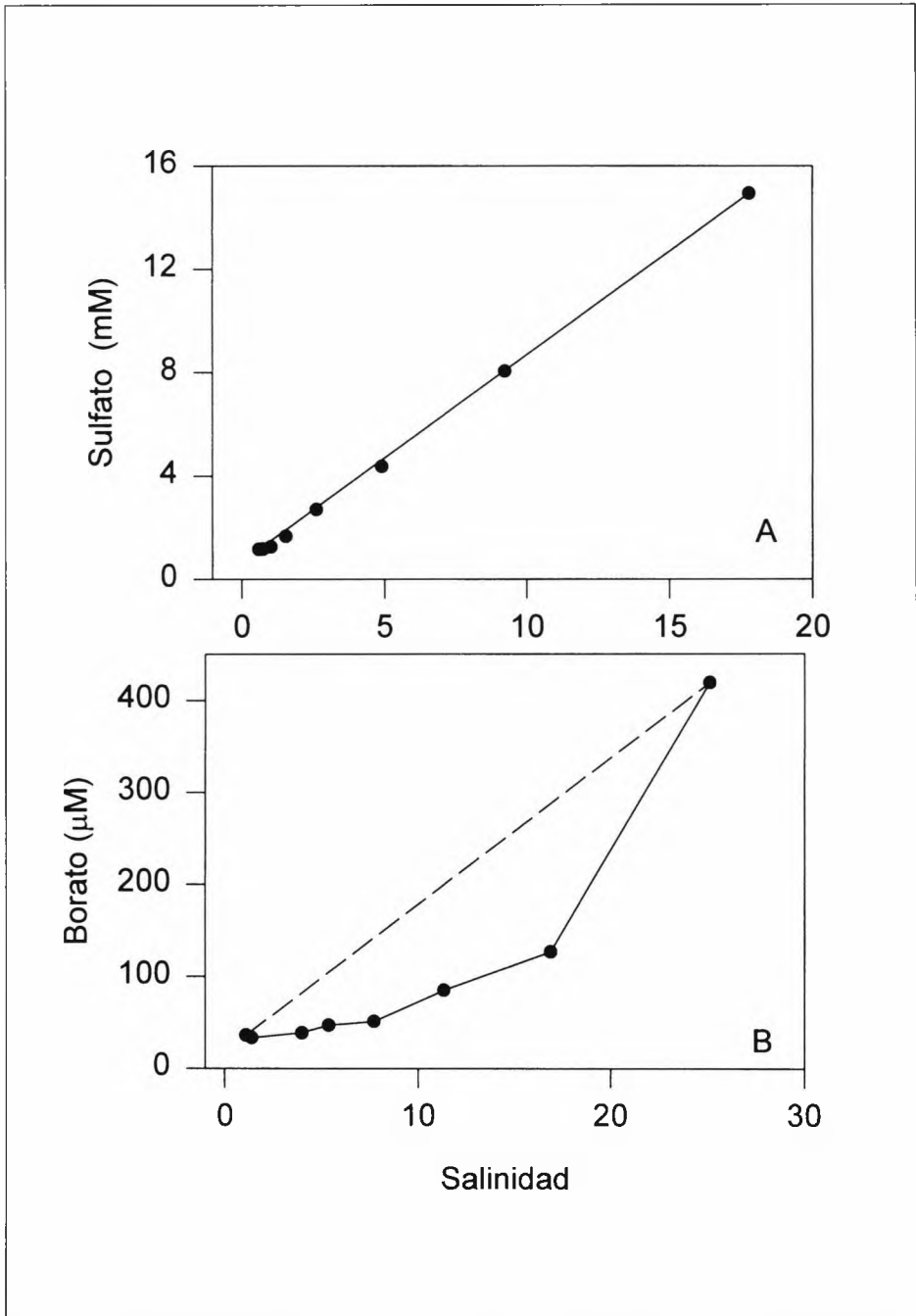


Figura 8. Perfil longitudinal de la concentración de sulfato y borato en el simulador de estuarios.

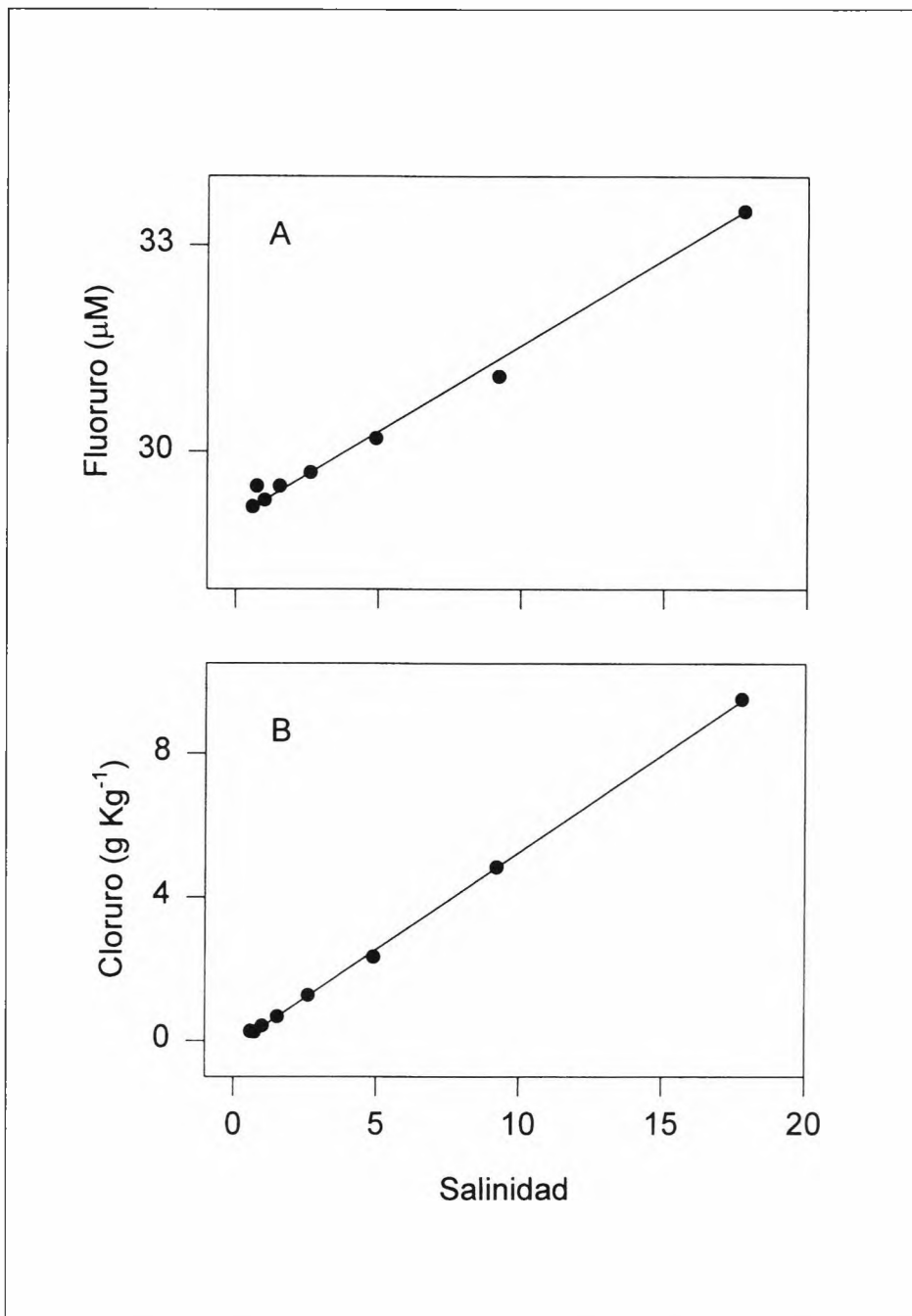


Figura 9. Perfil longitudinal de la concentración de sulfato y borato en el simulador de estuarios.

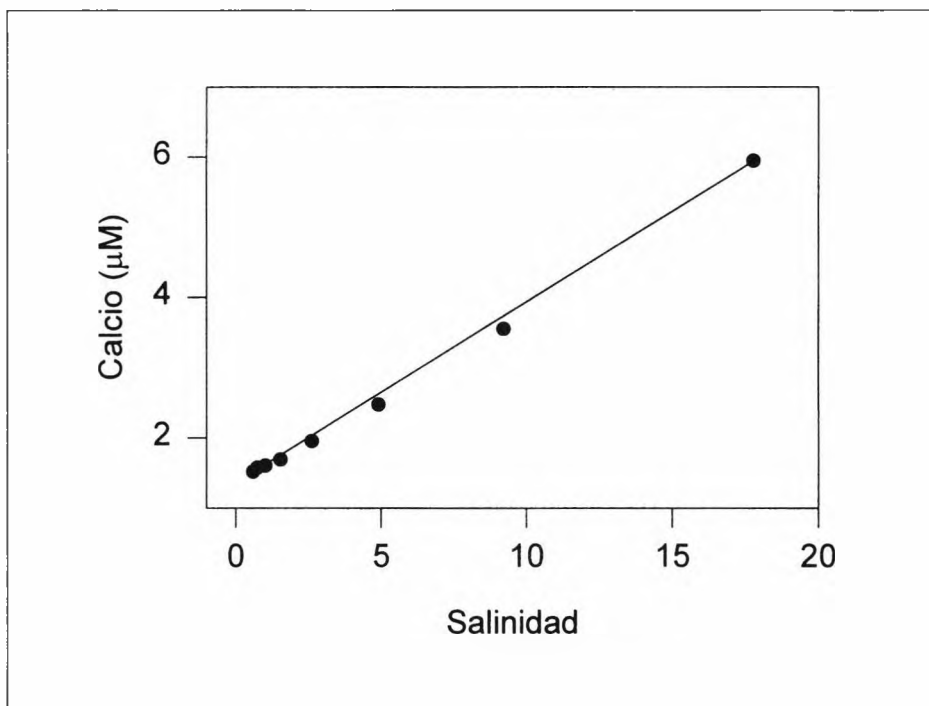


Figura 10. Perfil longitudinal de la concentración de calcio en el simulador de estuarios.

## CONCLUSIONES

Se ha desarrollado una metodología para la obtención de un gradiente de salinidad mediante la mezcla dinámica de agua de mar y de río, o de aguas de diferentes salinidades. De los resultados obtenidos se desprende que el equipo construido permite simular cualquier situación en un estuario real, en lo que se refiere a su gradiente de salinidad en régimen estacionario y al tiempo de flujo parcial y total. El equipo permite, también, simular una gran variedad de condiciones ambientales.

La simulación del proceso de mezcla de manera dinámica constituye un procedimiento útil para determinar la reactividad en los estuarios de diferentes especies químicas. Cuando una sustancia se comporta de manera no conservativa, la aplicación del método reactante y un modelo monodimensional de flujo a los datos obtenidos en el simulador permite obtener, de manera sencilla, las pérdidas o ganancias que experimenta esa sustancia en las condiciones en que se efectúa la simulación.

En las condiciones en que se ha realizado la simulación, el sulfato, fluoruro, calcio y silicato presentan un comportamiento conservativo, mientras que el borato, fosfato y las distintas formas del nitrógeno inorgánico presentan un comportamiento no conservativo. En el caso del borato y el fosfato se producen pérdidas en la fase disuelta, que son explica-

bles por la elevada capacidad de adsorción de ambos iones. Dentro de las especies nitrogenadas, el amonio y el nitrito presentan pérdidas y el nitrato ganancias, especialmente en la zona fluvial del estuario. Este comportamiento se ha imputado a la existencia de un intenso proceso de nitrificación. Los resultados son, en general, concordantes con los obtenidos en numerosos trabajos en estuarios reales.

## BIBLIOGRAFIA

- Arjonilla, M., Forja, J.M. y Gómez-Parra, A., 1990. Efecto de la materia en suspensión en el análisis de nutrientes con un analizador de flujo continuo de tercera generación. *Sem. Qui. Mar.*, 5: 113-120.
- Aston, R.S., 1980. Nutrients, dissolved gases, and general biogeochemistry in estuaries. En *Chemistry and Biogeochemistry of Estuaries* (E. Olausson & I. Cato,
- Bale, A.J. y Morris, A.W., 1981. Laboratory simulation of chemical processes induced by estuarine mixing: the behaviour of iron and phosphate in estuaries. *Estuarine, Coastal and Sci.*, 13: 1-10.
- Balls, Ph. W., 1994. Nutrient Inputs to Estuaries from Nine Scottish East Coast Rivers: Influence of Estuarine Processes on Inputs to the North Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 39: 329-352. eds.). Chichester: J.Wiley & Sons Cap. :7,
- Beer, T., 1983. En: *Environmental Oceanography*. Pergamon Press, Oxford. pp:226.
- Clark, J.F., Simpson, H.J., Bopp, R.F. y Deck, B., 1992. Geochemistry and Loading History of Phosphate and Silicate in the Hudson Estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 34: 213-233.
- Clavero, V., Fernández, J.A. y Niell, F.X., 1990. Influence of salinity on the concentration and rate of interchange of dissolved phosphate between water and sediment in Fuente de Piedra Lagoon (S. Spain). *Hidrobiologia*, 197: 91-97. pp: 233-262.
- Forja, J.M., 1991. Regeneración bentónica de nutrientes en la Bahía de Cádiz. Tesis Doctoral. Universidad de Cádiz. 381 pp.
- Gordeev, V.V. y Sidorov, I.S., 1993. Concentrations of majors elemetns and their outflow into the Laptev Sea by the Lena River. *Marine Chemistry*, 43: 33-46.
- Grasshoff, K., Ehrhardt, M. y Kremling, K., 1983. *Methods of Seawater Analysis*. Verlag Chemie, R.F.A.
- Greenhalgh, R. y Riley, J.P., 1961. En: *Methods of Seawater Analysis*. (Grasshoff, K., Ehrhardt, M. y Kremling, K., eds.). Verlag Chemie, R.F.A., pp: 266.
- Hosawaka, I., Ohshima, F. Y kondo, N., 1970. On the concentrations of the dissolved chemical elements in the estuary of the Chikugogawa River. En: *Estuarine Chemistry* (J.D. Burton y P.S. Liss, eds.). Academic Press, London, pp: 93-127
- Levinson, A. A. y Ludwick, J. C., 1966. Speculation on the incorporation of boron into argillaceous sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 30: 855-86.

- Lebo, Martin E., 1991. Particle-bound phosphorus along an urbanized coastal plain estuary. *Marine Chemistry*, 34: 225-246
- Lebo, Martin E. y Sharp, J.H., 1992. Modeling phosphorus cycling in a well-mixed coastal Plain Estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Sci.*, 35: 235-252.
- Liss, P.S. y Pointon, M. J., 1973. Removal of dissolved boron and silicon during estuarine mixing of sea and river waters. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 37: 1493-1498.
- Mackay, D.W., y Leatherland, T. M., 1976. En *Estuarine Chemistry* (J.D. Burton y P.S. Liss, eds.). Academic Press, London, pp: 229
- Máeda, H. y Takesue, K., 1961. The relation between chlorinity and silicate concentration of waters observed in some estuaries. En *Chemistry and Biogeochemistry of Estuaries* (E. Olausson y I.Cato, eds. ). pp: 233-262.
- Máeda, H., 1952. The relation between chlorinity and silicate concentration of waters observed in some estuaries. *Publ. Seto Mar. Biol. Lab.*, 2: 249-255.
- Prego, R. 1993. Biochemical Pathways of Phosphate in a Galician Ría (North-western Iberian Peninsula). *Estuarine, Coast and Shelf Science*, 37: 437-451.
- Rubio, J.A., Gonzalez-Mazo, E. y Gómez-Parra, A., 1994. Adsorción de alquilbenceno sulfonatos lineales (LAS) sobre sedimentos marinos. VII Seminario de Química Marina (en prensa).
- Shengquan, G., Guohui, Y. y Yuheng, W., 1993. Distributinal features and fluxes of dissolved nitrogen, phosphorus and silicon in the Hangzhou Bay. *Marine Chemistry*, 43: 65-82
- Stefánsson, U. y Richards, F.A., 1963. Processes contributing to the nutrient distributions of the Columbia River and Strait of the Juan de Fuca. *Limnol. Oceanogr.*, 8: 394-410.
- Strickland, J.H. y Parsons, R., 1972. A practical handbook of sea water analysis. *Fish. Res. Board. Can.* pp: 245.
- Warner, T.B., 1972. Mixing model prediction of fluoride distribution in Chesapeake Bay. *J. Geophys. Res.*, 77: 2728-2732.
- Windom, H.L., 1971. Fluoride concentration in coastal and estuarine waters of Georgia. *Limnol.Oceanogr.*, 16: 806-810
- Wollast, R. 1973. Origine et mecanisme de l'envasement de l'estuaire de l'Escant. Internal Report, Institut de Chimie Industrielle, Université Libre de Bruxelles.



## TERMOCINETICA DEL CAMBIO DE FASE EN LA CONGELACION DE AGUA DE MAR CON TRES CRIOPROTECTORES DIFERENTES.

*J.P. Cañavate*<sup>1</sup> y *L.M. Lubián*<sup>2</sup>

(1) CICESM *El Toruño*. Junta de Andalucía. Apartado 16. 11500 Puerto de Santa María. Cádiz.

(2) Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía. Apartado Oficial. 11510 Puerto Real. Cádiz

**Palabras clave:** congelación, agua de mar, criopreservación, nucleación inducida

### RESUMEN

Las variaciones de la osmolaridad producidas en agua de mar por cambios de salinidad o por la adición de los crioprotectores dimetilsulfoxido, metanol y glicerol, afectaron a la temperatura de congelación de aquella. Sin embargo, este incremento de solutos disueltos no afectó al grado de sobreenfriamiento del agua, el cual osciló entre 3 y 12 °C por debajo del punto de fusión, independientemente de la salinidad o concentración de crioprotector. Ello fue debido a la aleatoriedad a la que esta sometido el proceso de nucleación en la formación de hielo, condición que no recomienda el empleo de temperaturas de sobreenfriamiento en la conservación por refrigeración de especies marinas ya que en este caso siempre va a existir el riesgo de una súbita congelación.

Por otro lado, en la congelación de agua de mar induciendo la formación de hielo con equipamiento criogénico específico, se consiguió una cinética térmica sin indicación de sobreenfriamiento en muestras nucleadas durante solo 10 s en su punto exacto de fusión. En cambio, la realización de la nucleación inducida 1°C por encima o por debajo del punto de fusión se manifestó en cinéticas de temperatura indicadoras de la existencia de sobreenfriamiento.



## ABSTRACT.

*Thermokinetic during phase change in the freezing of seawater containing three cryoprotective compounds.* Changes in the osmolarity caused by salinity and the addition of cryoprotectants such as dimethylsuloxide, methanol and glycerol affected to the freezing point of seawater. However, this increase in total dissolved solutes did not affect the extent of supercooling of seawater, which ranged 3 to 12 °C below the freezing point regardless the salinity or the cryoprotectant concentration. This was due to the random nature for the commencement of water freezing, a characteristic that does not recommend the use of supercooling temperatures in the conservation by refrigeration of marine species since, at these values, there is always a risk of a sudden solidification.

Seeding ice formation for only 10 s with the use of specific cryogenic equipment, allowed to obtain a thermic evolution during freezing of seawater which did not indicate any supercooling stage. On the other hand, inducing ice formation 1°C above or below the freezing point revealed in temperature curves indicative of supercooling.

## INTRODUCCION

La utilización de técnicas de criopreservación tiene como objetivo conseguir un almacenamiento por tiempo indefinido de material biológico viable. Para ello, este material biológico debe resistir tanto la reducción de temperatura asociada a la consecución de valores criogénicos como al cambio de estado líquido a sólido. Este último es el principal condicionante de la viabilidad en la criopreservación. El descenso de temperatura en algunos grados por debajo del punto de fusión sin que se produzca formación de hielo, ocurre en todos los procesos de congelación. Esta situación resulta en el denominado estado líquido sobreenfriado, cuyas características están muy bien recogidas en Angell (1982). Dicho estado se alcanza pues una vez descendido el punto de fusión, pudiendo comenzar entonces la solidificación, hecho que ocurre siempre de una manera aleatoria, mediante la formación de diminutos núcleos de hielo. En los sistemas biológicos, la nucleación del hielo es siempre heterogénea, ya que los núcleos se pueden formar en torno a cualquier partícula o biomolécula. La denominada nucleación homogénea es la que se daría para el agua en su estado más puro, y obedecería a un mero ordenamiento molecular de la misma. La temperatura para esta nucleación homogénea del agua pura es de -38.5°C (Hobbs 1974). Amplia información específica sobre nucleación puede encontrarse en Taylor (1987).

El comienzo de la formación de hielo produce la liberación del calor latente de fusión, circunstancia que se refleja en un incremento de la temperatura hasta alcanzar el punto de fusión. Tras alcanzarse este punto, existe un tramo de temperatura estable como consecuencia de la liberación de la energía de fusión. La formación de hielo es un proceso gradual en el que éste coexiste con una, cada vez menor, fracción líquida, hasta alcanzar el valor eutéctico, momento en el que los solutos cristalizan. A título de ejemplo, para una solución de cloruro sódico el punto eutéctico se sitúa en -21.8°C (Morris 1981). No obstante, dada la diversidad de solutos disueltos en los sistemas bajo criopreservación, no es posible hablar de un valor determinado para estos. Una circunstancia que tiene que ser especial-

mente resaltada por su enorme influencia sobre la viabilidad de la criopreservación, es la coexistencia, entre los estados sólido y líquido que se produce durante el proceso completo de formación de hielo. Así, la continua incorporación de moléculas de agua a la matriz del hielo, resulta en un incremento muy alto de la concentración de solutos en la fracción líquida. Esto motiva, evidentemente, unas elevadas condiciones de hipertonidad en el entorno en que se encuentran suspendidos los organismos objeto de criopreservación, los cuales sufren un fuerte choque osmótico, responsable en gran medida de la pérdida de viabilidad. Estos fenómenos, se encuentran especialmente descritos en Morris (1981), Taylor (1987) y Pitt (1990).

Con el comienzo de la cristalización, se produce un retorno a la temperatura de fusión, y la posterior recuperación de la temperatura programada se efectúa a una tasa muy por encima de la prevista. Esta circunstancia puede derivar en una formación de hielo intracelular no deseada. Aunque las causas directas de estos fenómenos sobre los diferentes organismos no están claramente definidas, existe evidencia documentada sobre los efectos negativos del sobreenfriamiento en ovocitos (Ashwood-Smith et al. 1988) y embriones (Whittingham 1977, Fuku et al. 1992). Es preciso resaltar que el sobreenfriamiento *per se* no es responsable de la pérdida de viabilidad biológica, sino la rápida tasa de congelación (Leibo & Mazur 1978) y la formación de hielo intracelular, consecuencia de la nucleación espontánea de la solución (Mathias et al. 1984).

Los efectos no deseados del sobreenfriamiento pueden ser evitados mediante la inducción controlada de la nucleación del hielo. Esto se consigue gracias a la aplicación local, en el recipiente que contenga el material a criopreservar, de un choque frío, que desencadene el comienzo de la formación de hielo. Esta aplicación debe de ser idealmente efectuada cuando la muestra alcanza su punto de fusión, y nunca mas allá de 2°C por debajo de éste (Jondet et al. 1984, Quinn 1990). Tras la inducción de la formación de hielo, hay que mantener las muestras a temperatura estable durante un intervalo de tiempo que permita un correcto equilibrio osmótico. Para conseguir lo anterior, es preciso emplear equipamiento criogénico específico. En este trabajo se describen los cambios de temperatura experimentados por muestras de agua de mar, con y sin la adición de los crioprotectores dimetilsulfoxido (DMSO), metanol y glicerol, durante la solidificación de las mismas, bien de forma espontánea o de manera inducida.

## MATERIAL Y METODOS

Las muestras de agua de mar se prepararon de manera que tuviesen dos salinidades finales (20 y 36). Para cada salinidad se utilizó una muestra sin crioprotector y tres concentraciones (10, 15 y 20% v/v) de los compuestos crioprotectores DMSO, metanol y glicerol. A continuación, se introdujo 0,5 ml de cada muestra en pajuelas criogénicas de plástico, las cuales fueron a su vez colocadas en el interior de la cámara de un equipo programable de congelación biológica CRYOSON BV-25 (Cryoson GMBH, Postfach 1104, 8752 Schöllkrippen, Alemania). Los programas de congelación se diseñaron mediante un software específico (BIO 4.04, Cryoson hi-tech 1989) y se ejecutaron a través de un coprocesador acoplado en la cámara de congelación. El descenso de temperatura se consiguió por la inyección controlada de nitrógeno gaseoso, distribuido en el interior de la cámara por un

ventilador, y obtenido a través de una electroválvula desde un depósito presurizado a 0,7 kg m<sup>-2</sup> con nitrógeno líquido. El control de la inyección de NL se realizó en base a los registros continuamente detectados cada 6 segundos por un sensor térmico de platino, localizado en el interior de la cámara. Por otro lado, dos termopares de cobre sirvieron para registrar con la misma frecuencia las temperaturas existentes en la muestra y en la cámara. Toda esta información, concerniente a cambios de temperatura durante los procesos criogénicos, fue automáticamente almacenada en archivos específicos, a partir de los cuales se obtuvieron gráficos termocinéticos detallados, y de forma inmediata.

La formación inducida de hielo se estudió para agua de mar con salinidad de 36 y la adición de un 15% de DMSO. En este caso, se comprobó la evolución de la temperatura durante el cambio de fase al inducir la formación de hielo con choques fríos de duración variable (10, 20, 30, 40 s), así como al afectar dicho choque 1°C por encima o por debajo del punto de fusión. Este choque frío resultó de la inyección directa de NL desde el depósito presurizado, a través de una conducción especial que desemboca en dos piezas metálicas sobre las que reposa un extremo de las pajuelas. De esta forma, el súbito enfriamiento de las piezas metálicas facilitó la nucleación del hielo en el interior de las pajuelas. En la Figura 1, se esquematiza el sistema de congelación biológica empleado.

## RESULTADOS

En la Figura 2 se muestra la evolución de la temperatura durante el cambio de fase en agua de mar con salinidades de 20 y de 36, a las que también se añadieron concentraciones de 10%, 15% y 20% (v/v) de DMSO, metanol y glicerol. El punto de fusión disminuyó de manera proporcional a la osmolalidad de cada combinación salinidad-concentración de crioprotector, presentándose además como un valor estable. Debido a su menor peso molecular, el metanol contribuyó en mayor medida a la consecución de valores del punto de fusión más reducidos para una misma concentración porcentual, respecto de los otros dos crioprotectores. Dada la falta de variabilidad en el punto de fusión, en la Figura 2 solo se representaron procesos aislados para cada concentración de crioprotector bajo las dos salinidades. Este tipo de representación no recogió por consiguiente la variabilidad que existió para el nivel de sobreenfriamiento que ocurrió con antelación a la liberación del calor latente de fusión. Este punto es el indicativo del comienzo de la solidificación del medio, y se produce siempre de forma aleatoria después del estado sobreenfriado.

A pesar de la aleatoriedad en el comienzo de la formación del hielo, para una serie de muestras estudiadas, el nivel medio de sobreenfriamiento fue similar ( $p > 0,01$ ) entre medios de muy diferente osmolalidad, tales como agua destilada, agua de mar con salinidad de 36 y la misma agua de mar conteniendo un 15% de DMSO (Tabla 1). Es importante también destacar en la Figura 2 como, tanto la salinidad como la adición de crioprotectores, eliminaron la meseta térmica existente después de la congelación del agua destilada. Esta circunstancia indicó la menor duración del tiempo requerido para la formación del hielo al incrementar la osmolalidad.

En la Figura 3 puede observarse el efecto de la formación inducida de hielo sobre la evolución térmica ocurrida durante el cambio de fase en agua de mar con salinidad de 36.

El choque frío local más breve (10 s) fue suficiente para conseguir la formación de hielo en el agua de mar, cuando la inducción se aplicó en el momento en que las muestras alcanzaron el punto de fusión. De esta forma, se evitó la fase de sobreenfriamiento. La utilización de los choques fríos más prolongados (20s, 30s, 40s) produjo descensos excesivos de temperatura con anterioridad al comienzo de la solidificación. Esto derivó en la existencia de fases de sobreenfriamiento, cuya magnitud fue proporcional a la duración del choque frío de inducción (Figura 3).

Una vez producida la liberación del calor latente de fusión, el tiempo requerido para que la temperatura de la muestra retorne a la línea de temperatura programada, es indicativo de la duración del proceso de la formación de hielo. Si se comparan las columnas izquierda y derecha en la Figura 4, se puede apreciar como la adición de un 15% de DMSO disminuyó notablemente el tiempo necesario para completar la formación de hielo. Puede observarse también en la Figura 4(A), como la formación inducida de hielo no consiguió la solidificación del medio cuando se aplicó 1°C por encima del punto de fusión.

La aplicación precisa de la nucleación inducida del hielo cuando las muestras alcanzaron el punto de fusión, junto al empleo de un 15% de DMSO, resultó ser el procedimiento más adecuado para evitar desviaciones de temperatura de la muestra respecto de la temperatura programada durante el cambio de fase (Figura 4(B)). Cuando la formación inducida de hielo se realizó 1°C por debajo del punto de fusión se produjo una leve fase de sobreenfriamiento en las muestras que contenían un 15% de DMSO, las cuales presentaron además una evolución de la temperatura posterior a la solidificación, similar a la encontrada en muestras nucleadas en el punto exacto de fusión.

## DISCUSION

El incremento de la salinidad y de la concentración de crioprotectores se reflejó en un descenso proporcional del punto de fusión de las muestras (Figura 2). Esta disminución en el punto de fusión correspondió al valor teórico de descenso crioscópico de 1,86°C por cada osmol de soluto. Sin embargo, ni la salinidad, ni la adición de DMSO contribuyeron a variar el grado de sobreenfriamiento encontrado para el agua dulce (Tabla 1). La falta de una pauta clara para la liberación del valor latente de fusión fue la consecuencia del carácter aleatorio del comienzo de la formación de hielo.

El agua de mar suplementada con crioprotectores y sometida a temperaturas de sobreenfriamiento, se ha utilizado para criopreservar rotíferos (Bergham et al 1990), mientras que en microalgas marinas se ha observado una elevada resistencia a la exposición de varias especies durante periodos de hasta 60 min a temperaturas de -18°C, pero en fase líquida (Cañavate 1995.) Conocer la resistencia de material biológico a estas temperaturas durante periodos de tiempo más prolongados no es posible, debido a que la formación espontánea de hielo puede ocurrir en cualquier momento del intervalo de sobreenfriamiento. Sí sería interesante una evaluación de la tolerancia al someter organismos marinos a temperaturas ligeramente superiores a las del punto de fusión obtenido al adicionar concentraciones elevadas de crioprotectores. En particular, se ha comprobado una elevada resis-

tencia de las microalgas marinas a los crioprotectores DMSO y metanol (Cañavate y Lubián 1994). De aquél tipo de evaluación, se podrían obtener conclusiones importantes y muy prácticas, de cara a la conservación a corto plazo de las microalgas. Molina-Grima et al (1994) encontraron que concentrados de *I. galbana* conservaron un 85% de viabilidad celular al mes de ser mantenidos a +4°C.

La correcta aplicación de la nucleación inducida de hielo evita el sobreenfriamiento (Figura 4) y por tanto los efectos derivados del súbito incremento de temperatura que se produce al liberarse el calor latente de fusión. La solidificación de las muestras después de una fase de sobreenfriamiento hace que su temperatura se aleje notablemente de la programada (Figura 2). Bajo esta situación, las muestras tienden a equilibrar rápidamente su temperatura con la del entorno, produciéndose una tasa de descenso térmico muy superior a la establecida. Este hecho es especialmente negativo toda vez que ocurre en el momento crítico en que la formación de hielo lleva a hiperconcentrar los solutos extracelulares. Según lo anterior, la formación inducida de hielo durante los protocolos de criopreservación, puede desempeñar un papel más importante en aquellos organismos cuya tasa óptima de congelación presenta valores bajos. Ese no es el caso de varias microalgas marinas, para las que se encontró una mejor viabilidad con el empleo de las tasas más rápidas de congelación (Cañavate y Lubián 1995). La utilización de técnicas para la formación inducida de hielo, podría contribuir a mejorar la viabilidad de especies como *Cylindrocystis brebissonii* para la cual se encontraron tasas óptimas de congelación de 0,5 y 1°C min<sup>-1</sup> (Morris et al 1986).

La nucleación inducida de hielo fue utilizada por Okamoto et al (1987) en la criopreservación del rotífero *Brachionus plicatilis*, una especie para la que se obtuvo una viabilidad óptima a tasas de congelación de 0,2 y 0,3°C min<sup>-1</sup>, y no pudo sobrevivir al incrementarla a 0,5°C min<sup>-1</sup>. La aplicación del choque frío para inducir la formación de hielo durante el período más corto (10 s) de los tiempos experimentados, fue suficiente para conseguir el objetivo perseguido, mientras que tiempos más prolongados produjeron cierto sobreenfriamiento de las muestras (Figura 3). Este tiempo óptimo de 10 s es inferior a los 30 s que emplearon Toledo & Kurokura (1990) en la criopreservación de *B. plicatilis* en un medio de similar composición (10% DMSO en agua de mar) al aquí usado. Es posible que la viabilidad tras la criopreservación de este rotífero podría ser mejorada con el empleo de una formación de hielo menos prolongada.

## BIBLIOGRAFIA

- Angell, C.A. 1982. Supercooled water. En: *Water: A comprehensive treatise, Vol 7.* (Franks, F. ed). Plenum Press, New York, pp 1-81.
- Ashwood-Smith, M.J., Morris, G.W., Fowler, R., Appleton, T.C. y Ashorn, R. 1988. Physical factors are involved in the destruction of embryos and oocytes during freezing and thawing procedures. *Hum. Reprod.* 3(6): 795-802.
- Cañavate, J.P. 1995. *Respuesta de microalgas marinas a la congelación biológica. Evaluación de técnicas criogénicas para la conservación de seis estirpes.* Tesis Doctoral, Universidad de Cádiz, 177 pp.

- Cañavate, J.P. y Lubián, L.M. 1994. Tolerance of six marine microalgae to the cryoprotectants dimethylsulfoxide and methanol. *J. Phycol.* 30: 559-565.
- Cañavate, J.P. y Lubián, L.M. 1995. The relation between cooling rates, cryoprotectant concentrations and salinities in the cryopreservation of marine microalgae. *Mar. Biolen* prensa.
- Fuku, E., Fiser, P.S., Marcus, G.J., Sasada, H. y Downwy, B.R. 1992. The effects of supercooling on the developmental capacity of mouse embryos. *Cryobiology* 29: 428-432.
- Hobbs, P.V. 1974. *Ice Physics*. Oxford University Press, Oxford, 621 pp.
- Jondet, M., Dominique, S. y Scholler, R. 1984. Effects of freezing and thawing on mammalian oocyte. *Cryobiology* 21: 192-199.
- Leibo, S.P. y Mazur, P. 1978. Methods for the preservation of mammalian embryos by freezing. En: *Methods in mammalian reproduction*. (Daniel, J.C. ed), Academic Press, New York, pp. 179-201.
- Mathias, F.S., Franks, F. y Trafford, K. 1984. Nucleation and growth of ice in deeply undercooled erythrocytes. *Cryobiology* 21: 123-132.
- Molina-Grima, E., Sanchez, J.A., Garcia, F., Acien, F.G., Lopez-Alonso, D. y Segura, C.I. 1994. Preservation of the marine microalga *Isochrysis galabana*: influence on the fatty acid profile. *Aquaculture* 123: 377-385.
- Morris, G.J. 1981. *Cryopreservation*. Institute of Terrestrial Ecology, Cambridge, 27 pp.
- Morris, G.J., Coulson, G.E. y Engels, M. 1986. A cryomicroscopic study of *Cylindrocystis brebissonii* De Bary and two species of *Micrasterias* Ralfs (Conjugatophyceae, Chlorophyta) during freezing and thawing. *J. Exp. Botany* 37: 842-856.
- Okamoto, S., Tanaka, M., Kurokura, H. y Kasahara, S. 1987. Cryopreservation of parthenogenetic eggs of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Nippon Suisn Gakkaishi* 53: 2093.
- Pitt, R.E. 1990. Cryobiological implications of different methods of calculating the chemical potential of water in partially frozen suspending media. *Cryo-Letters* 11: 227-240.
- Quinn, P. 1990. Success of oocyte and embryo freezing and its effect on outcome with in vitro fertilization. *Semin. Reprod. Endocrinol.* 8(4): 272-280.
- Taylor, M.J. 1987. Physico-chemical principles in low temperature biology. En: *The effect of low temperature on biological systems*. (Grout, B.W.W. & Morris, G.J. eds.). Edward Arnold (Publisher), London, pp 3-71.
- Toledo, J.D. y Kurokura, H. 1990. Cryopreservation of the euryhaline rotifer *Brachionus plicatilis* embryos. *Aquaculture* 91: 385-394.
- Whittingham, D.G. 1977. *Some factors affecting embryo storage in laboratory animals*. Ciba Foundation. Elsevier, Amsterdam, pp. 97-108.

Tabla 1: Valores medios del nivel de sobreenfriamiento en muestras con diferente salinidad y crioprotector. n: tamaño de muestra

Medio	Nivel de sobreenfriamiento (°C)	n
Agua destilada	10,1±1,58	7
Agua mar (36 S‰)	10,5±1,48	14
Agua mar (36 S‰) + 15%DMSO	11,0±1,58	17

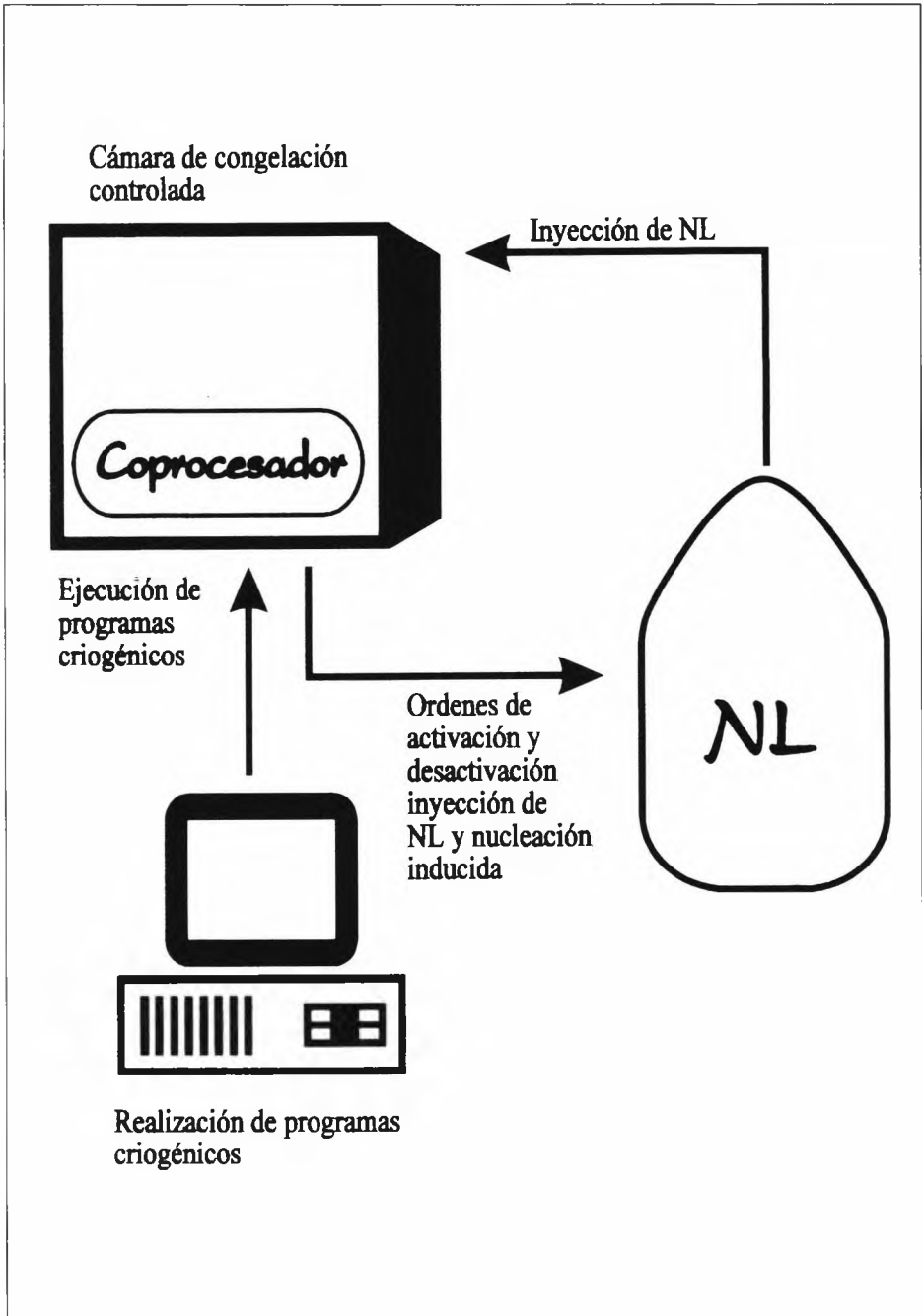


Figura 1.- Esquema del equipo de congelación biológica utilizado para determinar las cinéticas de temperatura.



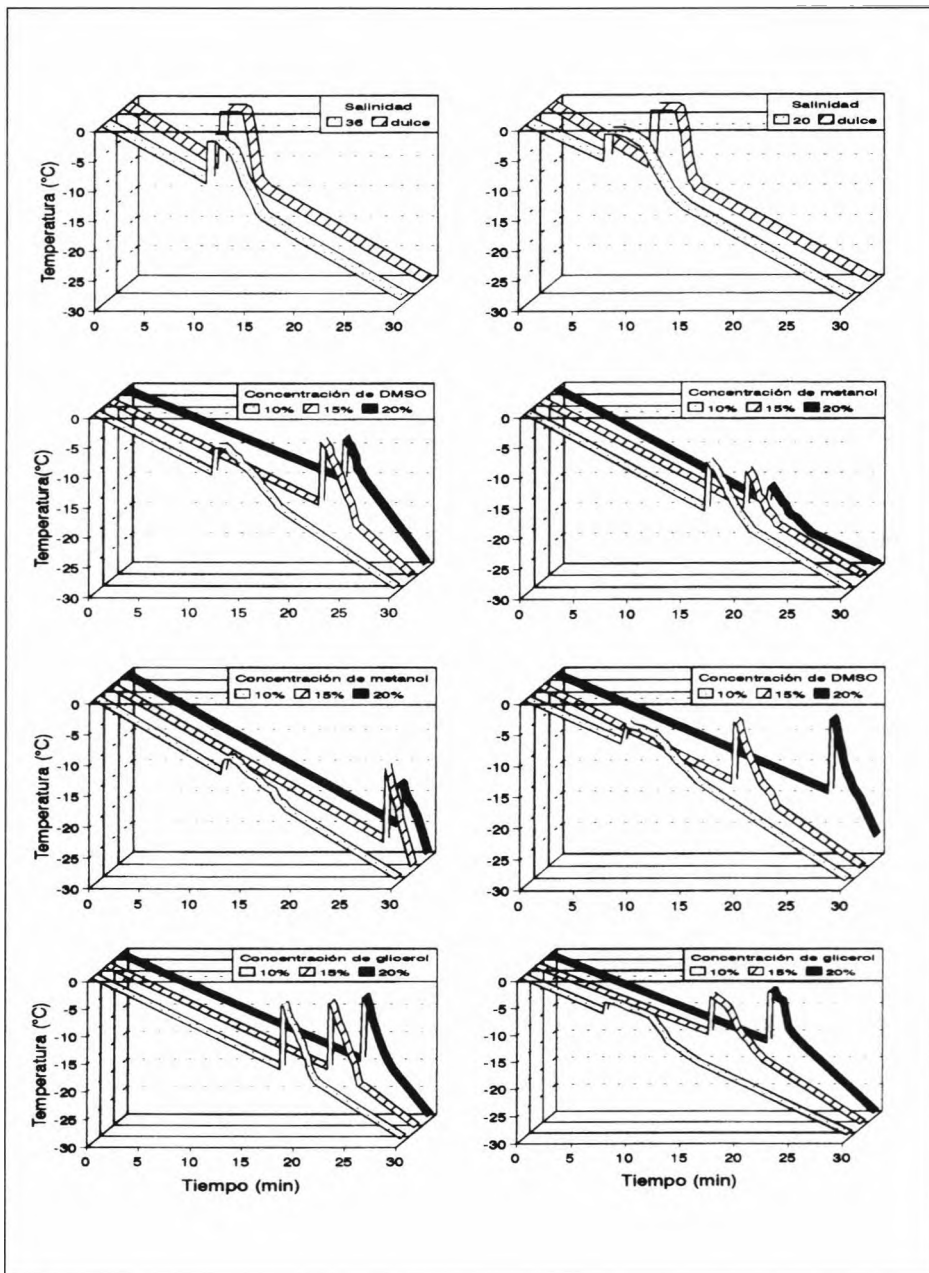


Figura 2.- Termocinética del cambio de fase en agua de mar con salinidad de 36 (izquierda) y 20 (derecha), sin crioprotector, y con la adición de tres concentraciones de DMSO, metanol y glicerol. Los gráficos superiores incluyen también los cambios de temperatura durante la congelación del agua destilada.

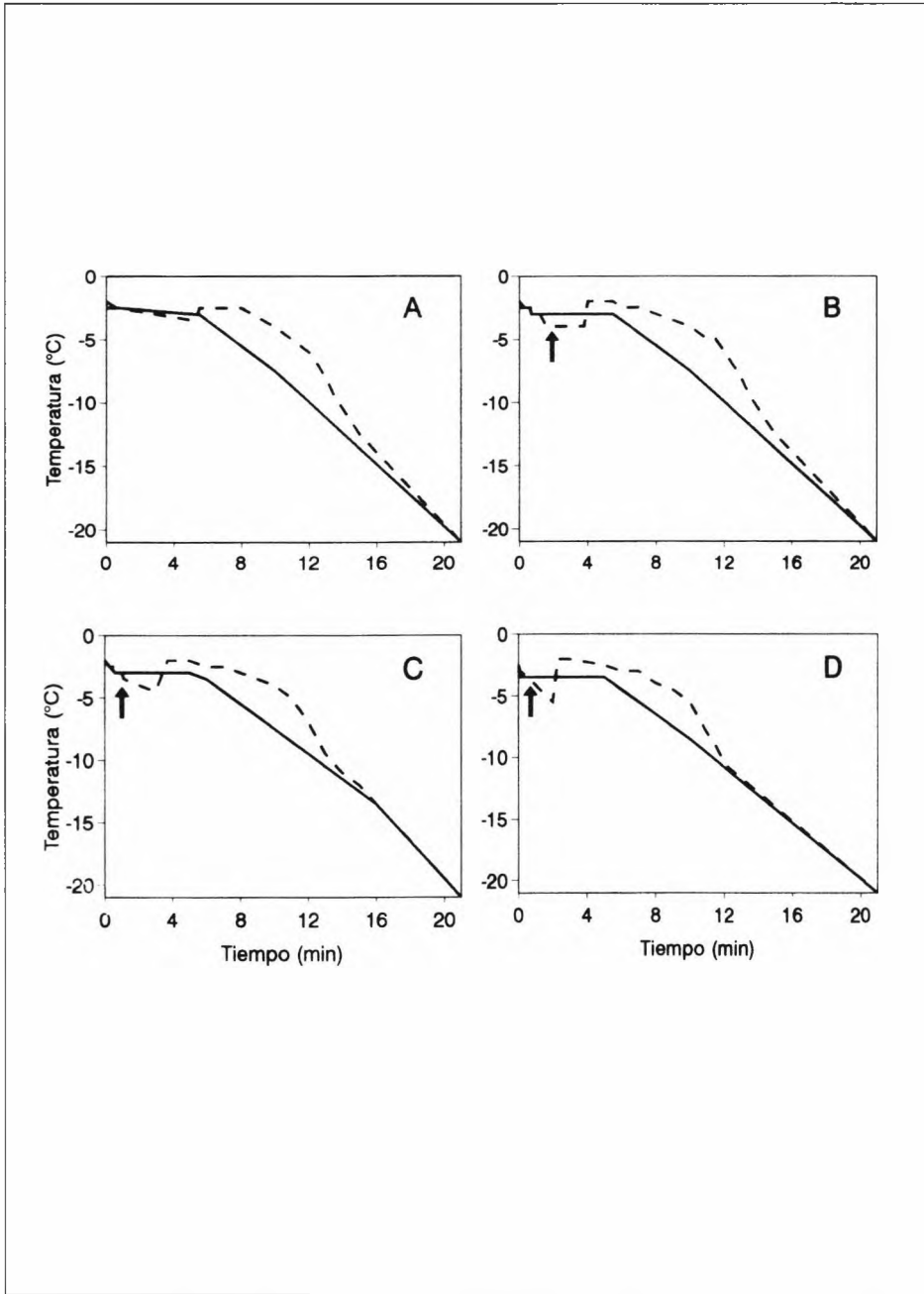


Figura 3.- Desviaciones de la temperatura (línea discontinua) respecto de la temperatura programada (línea continua) al inducir la nucleación del hielo en agua de mar en su punto de fusión durante 10 (A), 20 (B), 30 (C) y 40 (D) s.

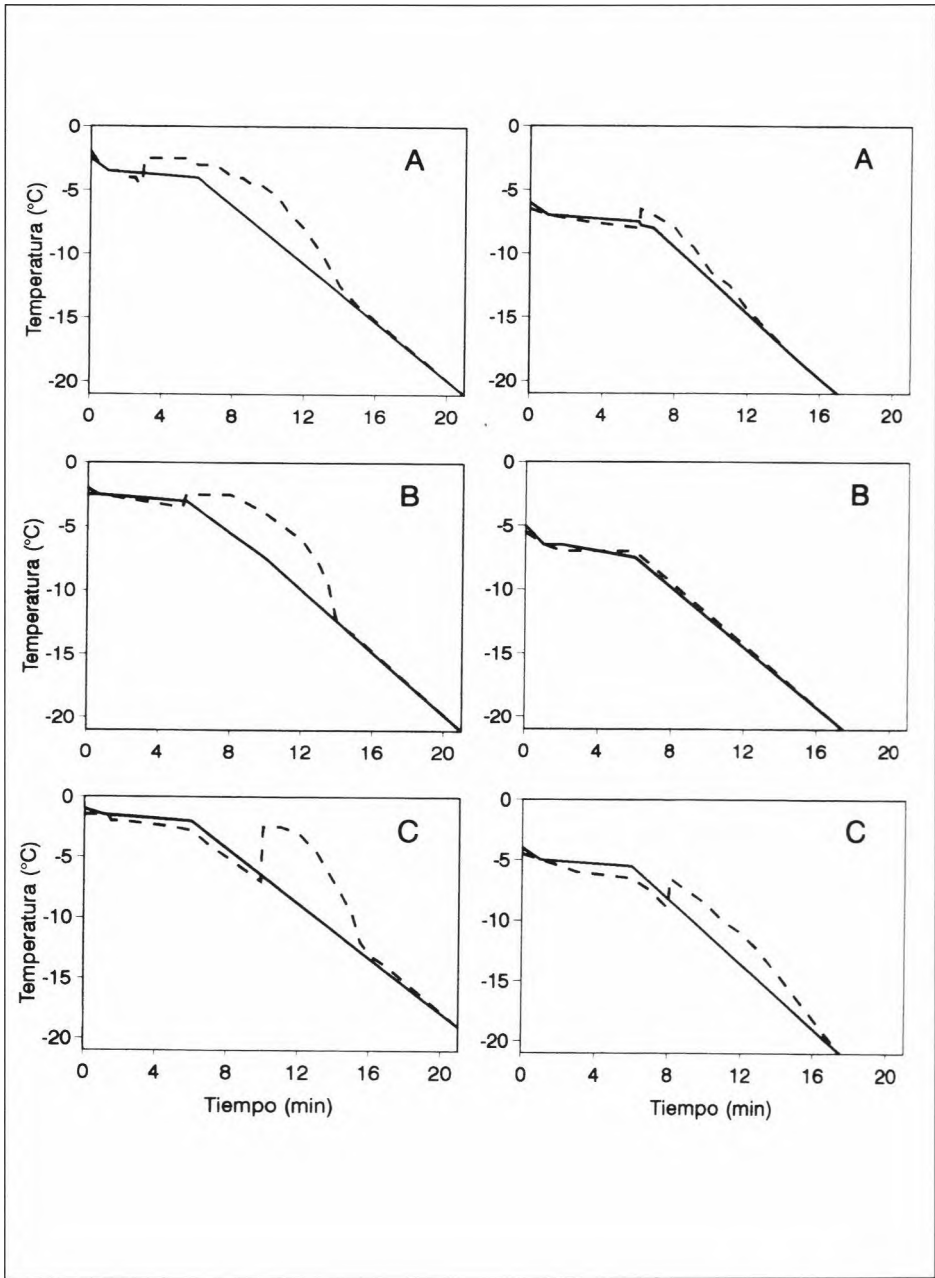


Figura 4.- Desviaciones de la temperatura (línea discontinua) respecto de la programada (línea continua), al inducir (10 s) la nucleación del hielo en pajuelas de 0,5 ml, conteniendo agua de mar (izquierda) y un 15% de DMSO en agua de mar con salinidad de 36 (derecha), 1°C por debajo (A), 1°C por encima (C) y en el punto exacto de congelación (B).

## PRODUCTOS NATURALES MARINOS BIOACTIVOS DE ORGANISMOS PROCEDENTES DEL LITORAL ANDALUZ

*Eva Zubía, María J. Ortega y Javier Salvá*

Facultad de Ciencias del Mar, Universidad de Cádiz, Apdo. 40, 11510, Puerto Real, Cádiz

### RESUMEN:

Se ha realizado el estudio químico de varios invertebrados marinos recolectados en la costa Atlántica del sur de España. A partir del briozoo *Zoobotryon verticillatum* se ha obtenido un nuevo alcaloide polibromado indólico natural. De la gorgonia *Eunicella verrucosa* se han aislado seis nuevos diterpenos del tipo eunicellina, las palmoninas A-F. De la esponja *Reniera mucosa* se han aislado ocho hidroquinonas sesquiterpénicas nuevas, seis del tipo de las paniceínas y dos ciclohexenonas relacionadas. Se ha evaluado la citotoxicidad de todos los compuestos nuevos.

### SUMMARY:

An array of new secondary metabolites has been isolated from several marine invertebrates collected at the southern Atlantic coast of Spain. A new natural polybrominated indole alkaloid has been obtained from the bryozoan *Zoobotryon verticillatum*. The gorgonian *Eunicella verrucosa* has yielded six new eunicellin-based diterpenoids, named palmonines A-F. The sponge *Reniera mucosa* contained eight new sesquiterpene hydroquinones, six of them of the panicein class and two related cyclohexenones. All new compounds have been tested to detect cytotoxic activity.

### INTRODUCCION

En las dos últimas décadas la investigación en Productos Naturales Marinos ha experimentado un gran auge. De un lado, los estudios han sufrido una fuerte expansión

tanto batimétrica como biológica y así, del estudio de especies intermareales o de aguas poco profundas, se ha pasado a profundidades inaccesibles hace apenas unos años. Por otro lado, el desarrollo de la espectroscopía y las innovaciones en las técnicas cromatográficas han ampliado las fronteras de la química de Productos Naturales. Esta expansión del estudio de los Productos Naturales Marinos no se ha limitado a los aspectos químicos, sino que se ha visto complementada con investigaciones concernientes a la función ecológica de estos metabolitos y con estudios sobre su potencial aplicación farmacológica.

Nuestro grupo de investigación ha centrado su trabajo en el aislamiento y caracterización de nuevos productos naturales procedentes de organismos marinos recolectados principalmente en el litoral andaluz. El objetivo final de la investigación es conseguir nuevos productos con interés desde el punto de vista farmacológico. Los grupos zoológicos más estudiados son el de los briozoos, los corales y las esponjas.

## MATERIAL Y METODOS

El trabajo se organizó en varias etapas: recolección del material biológico, aislamiento y caracterización de productos y evaluación de la actividad citotóxica de los compuestos nuevos.

*Recolección del material biológico seleccionado:* el briozoo *Zoobotryon verticillatum* fue recolectado a mano en el Portil (Huelva) y en las instalaciones de CUPIMAR S.A en San Fernando (Cádiz). La gorgonia *Eunicella verrucosa* y la esponja *Reniera mucosa* se recolectaron en Palmones (Bahía de Algeciras, Cádiz) y en la Isla de Tarifa (Cádiz), respectivamente, mediante buceo SCUBA.

*Aislamiento y caracterización de productos (procedimiento general):* los organismos fueron sometidos a un proceso de extracción con disolventes orgánicos, como metanol o acetona. Los extractos orgánicos obtenidos se analizaron de forma preliminar por Cromatografía en Capa Fina (CCF) y Resonancia Magnética Nuclear (RMN). Un fraccionamiento por Cromatografía en Columna seguido de HPLC (Cromatografía Líquida de Alta Eficacia) de fracciones seleccionadas llevó a la obtención de los compuestos puros. Las CCF y las CC se realizaron sobre gel de sílice. Las separaciones mediante HPLC se realizaron en un equipo Merck-Hitachi L-6270 utilizando columnas LiChrosorb Si 60. Como eluyentes se emplearon hexano, éter etílico, acetato de etilo, diclorometano, cloroformo, metanol y mezclas de los mismos. La elucidación estructural de los productos aislados se realizó mediante métodos espectroscópicos que incluyen RMN, infrarrojo (IR), ultravioleta (UV) y espectrometría de masas. Los espectros de RMN se registraron en los aparatos Varian Gemini-200 y Varian 400. Los espectros de IR se realizaron en un aparato Perkin-Elmer 881. Los espectros de UV se obtuvieron con un espectrofotómetro Phillips PU 8710. Los espectros de Masas se realizaron en los aparatos VG 12250 y Kratos MS 80RFA.

*Pruebas de citotoxicidad in vitro:* Los productos aislados de *Zoobotryon verticillatum* se sometieron al test de inhibición de la división celular de huevos de erizo fertilizados. Los productos aislados de *Eunicella verrucosa* y de *Reniera mucosa* se probaron frente a las líneas celulares de linfoma de ratón (P-388), carcinoma de pulmón humano (A-549), carcino-

ma de colon humano (HT-29) y melanoma humano (MEL-28). Las pruebas de citotoxicidad frente a estas líneas celulares fueron realizadas por PharmaMar S.A.

## RESULTADOS Y DISCUSION

El briozoo *Zoobotryon verticillatum* es una especie ampliamente distribuida, que frecuentemente se encuentra en los puertos y las piscifactorias. A pesar de ser considerada como una especie tropical, *Z. verticillatum* es un briozoo muy abundante en la costa atlántica del sur de España. El estudio de dos colecciones diferentes de este briozoo, una procedente de Cádiz y otra de Huelva, llevó al aislamiento de un nuevo alcaloide natural, el 2,5,6-tribromo-*N*-metilindol-3-carbaldehído (1, Figura 1), junto con otros dos alcaloides indólicos polibromados derivados de la gramina.<sup>1</sup> Las estructuras de estos compuestos se establecieron mediante técnicas espectroscópicas y correlación química. En las pruebas de inhibición de la división celular de huevos de erizo fertilizado la 2,5,6-tribromo-*N*-metilgramina mostró una citotoxicidad significativa ( $ED_{50} = 5$  mg/ml). El 2,5,6-tribromo-*N*-metilindol-3-carbaldehído mostró una actividad muy interesante ya que, aunque la división celular procedía normalmente, a una concentración de 5 mg/ml se observaba un retraso considerable en la metamorfosis y a una concentración de 10 mg/ml se producía un descenso de la movilidad de la larva pluteus.

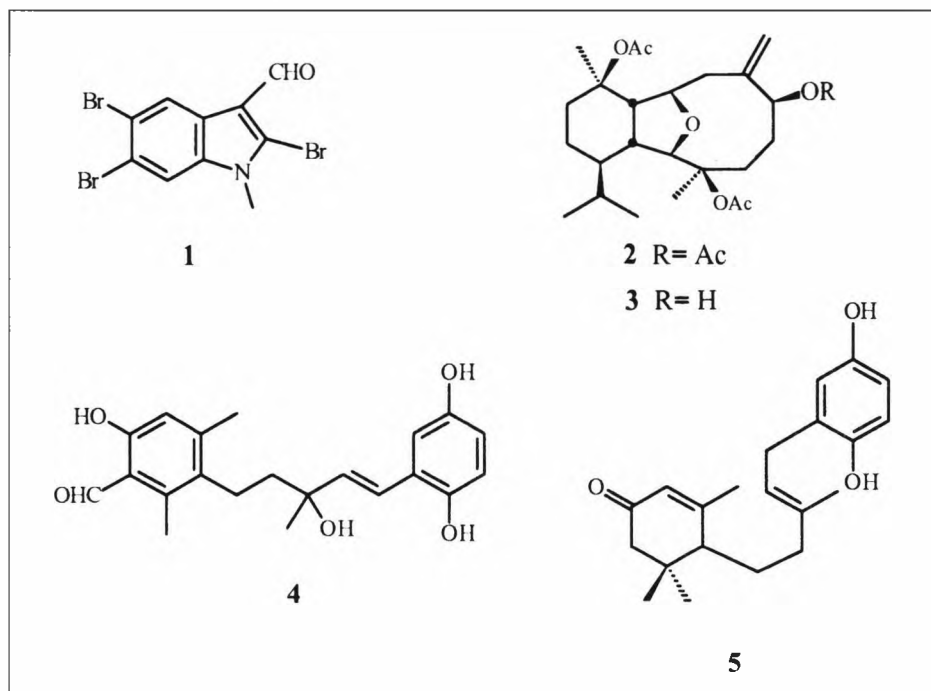


Figura 1.- Una selección de los nuevos productos naturales aislados de invertebrados marinos del litoral andaluz.

Dentro del grupo de los corales se ha realizado el estudio de la gorgonia *Eunicella verrucosa* recolectada en Palmones, en la Bahía de Algeciras (Cádiz). A partir de esta gorgonia hemos obtenido seis productos nuevos, las palmoninas A, B (2, Figura 1), C, D, E y F (3, Figura 1).<sup>2,3</sup> Estos compuestos son diterpenos del tipo de la eunicellina,<sup>4</sup> caracterizados por poseer un esqueleto de cladiellano y un puente de éter formando un sistema tetrahidrofuranico. Las estructuras de las palmoninas A-F se elucidaron mediante un exhaustivo estudio por resonancia magnética nuclear, incluyendo experimentos bidimensionales (COSY, HETCOR, HMBC), y correlación química. La estereoquímica relativa de las palmoninas A-F se determinó mediante una amplia serie de experimentos NOE diferenciales. Utilizando el método de Mosher se ha establecido, además, la configuración absoluta de la palmonina F (3) y, por correlación con ésta, la de la palmonina B (2).<sup>3</sup> En las pruebas de citotoxicidad realizadas, la palmonina B (2) ha mostrado actividad frente a las líneas celulares P-388 y MEL-28 con una ED<sub>50</sub> de 5mg/ml.

El estudio químico de la esponja *Reniera mucosa*, recolectada en la isla de Tarifa (Cádiz) nos ha llevado al aislamiento de otros quince productos naturales. Ocho de ellos son nuevas hidroquinonas sesquiterpénicas: las paniceínas D (4, Figura 1), E, A<sub>2</sub>, F<sub>1</sub>, G y F<sub>2</sub> y las renierinas A (5, Figura 1) y B, cuyas estructuras han sido establecidas mediante métodos espectroscópicos y correlación química.<sup>5</sup> Se ha propuesto que el anillo aromático de origen terpénico de las paniceínas puede derivar biogenéticamente de la ciclación de un precursor farnesílico, para dar un derivado de tipo abscisano, seguida de una migración 1,2 de metilo y subsecuente oxidación.<sup>6</sup> Hay que destacar que la coexistencia en *R. mucosa* de las paniceínas con las ciclohexenonas, renierinas A (5) y B, apoya esta hipótesis. En efecto, las dos nuevas ciclohexenonas son los intermedios biosintéticos de tipo abscisano que habrían sido propuestos. Cuatro de los nuevos compuestos, las paniceínas D (4), E, A<sub>2</sub>, y F<sub>1</sub>, han mostrado una citotoxicidad significativa, con niveles de ED<sub>50</sub> entre 2.5 y 5 mg/ml, frente a las líneas celulares P-388, A-549, HT-29 y MEL-28.

## REFERENCIAS

- 1.- M.J. Ortega, E. Zubía and J. Salvá, *J. Nat. Prod.*, 1993, **56**, 633.
- 2.- M.J. Ortega, E. Zubía, H. He and J. Salvá, *Tetrahedron*, 1993, **49**, 7823.
- 3.- M.J. Ortega, E. Zubía and J. Salvá, *J. Nat. Prod.*, 1994, **57**, 1584.
- 4.- O. Kennard, D.G. Watson, L. Riva di Sanseverino, B. Tursch, R. Bosmans and C. Djerassi, *Tetrahedron Lett.*, 1968, 2879.
- 5.- E. Zubía, M.J. Ortega, J.L. Carballo and J. Salvá, *Tetrahedron*, 1994, **50**, 8153.
- 6.- G. Cimino, S. De Stefano, L. Minale, *Tetrahedron*, 1973, **29**, 2565; *ibid*, *Experientia*, 1973, **29**, 1063.

# CONTROL DE CALIDAD EN LOS ESTUDIOS DE CONTAMINANTES EN EL PROGRAMA DE “MONITORING” DEL MEDIO MARINO DEL INSTITUTO ESPAÑOL DE OCEANOGRAFIA. EJEMPLO DE LOS ANALISIS DE RED DE SEGUIMIENTO DE MEJILLON

*C. Rodríguez y J. Guerrero*  
C. Oceanográfico de Mar Menor  
Apartado 22  
30740 S. Pedro de Pinatar (Murcia)

*V. Besada y F. Schultze*  
C. Oceanográfico de Vigo  
Apartado 1552  
36280 Vigo

## RESUMEN

Los laboratorios de análisis deben de asegurar que sus resultados son de la calidad necesaria. Los métodos utilizados deben ser los adecuados y además estar controlados. Cuando se trata de laboratorios que están trabajando en Programas de Vigilancia en el medio marino para que los datos sean comparables deben de estar intercalibrados.

En este trabajo se exponen los métodos de control de calidad utilizados en los Centros Oceanográficos del Instituto Español de Oceanografía de Vigo y del Mar Menor en los análisis del Programa de Vigilancia a través del Mejillón Silvestre.

Se presentan las cartas de control de un material de referencia certificado (CRM-278 de la Oficina Comunitaria de Referencia) y de un material de referencia interno (LMM) preparado en el laboratorio, analizados en el Proyecto de Estudio de Contaminantes en mejillón del Centro Oceanográfico de Murcia. Se observan coeficientes de variación mayores para el material de referencia interno, probablemente debidos a una mayor dificultad en la homogeneización, problema habitual en la preparación de materiales de referencias internos.

Se presentan las cartas de control del material de referencias BCSS-1 del National Research Council of Canadá realizadas en la 1ª fase del Proyecto QUASIMEME del Centro Oceanográfico de Vigo.



## INTRODUCCION

En los programas de "Monitoring" o Vigilancia del Medio Marino el esquema de trabajo incluye la investigación y la evaluación de datos para que los gestores puedan adoptar y aplicar medidas o actividades reguladoras. Entre todas estas partes existe una estrecha relación. Actualmente tiene una gran importancia en la evaluación de los datos la información sobre la Garantía de Calidad que suministran los laboratorios. Sin ésta información es imposible saber si los datos son correctos y comparables espacial y temporalmente.

Los Programas de Vigilancia en el Medio Marino tienen una característica común: se necesita la determinación de varios parámetros para poder evaluar tanto el estado actual del medio como su evolución. Los resultados obtenidos constituyen la base de la gestión del medio marino. La efectividad de las acciones adoptadas por los gestores para disminuir los niveles de la contaminación a niveles naturales, también se evalúa sobre la base de estas medidas que se realizan durante períodos largos de tiempo. Por lo tanto la cantidad de análisis realizados es grande, sin embargo tales resultados son a menudo rechazados por la insuficiente información sobre la Garantía de Calidad suministrada por los laboratorios.

Los laboratorios deben de asegurar que sus resultados son de la calidad necesaria. Su actuación y métodos utilizados deben de ser adecuados y además estar controlados. Una primera aproximación para introducir la calidad en un laboratorio, de forma sistemática, está descrita en los Principios de Una Buena Práctica de Laboratorio (GLP) (J. Sabater y A. Vilumara, 1988).

## PROGRAMAS DE INTERCALIBRACION

Actualmente, muchos laboratorios están participando activamente en Programas de Vigilancia de la Contaminación Marina, bien en programas nacionales, o internacionales organizados por diversas Instituciones como la Comisión Oceanográfica Internacional (COI), el Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente (UNEP), Las Comisiones de Oslo y París (OSPARCOM), el Consejo Internacional para la Exploración del Mar (ICES), etc. Para evaluar la calidad de las aguas costeras en zonas tan amplias, los datos provenientes de los diversos laboratorios deben estar intercalibrados.

Estas Organizaciones coordinan habitualmente y desde los años 70 Ejercicios de Intercalibración para los laboratorios que participan en los diferentes Programas de Investigación en el Medio Marino. A los laboratorios que participan en estos Ejercicios se les envía un material problema desconocido para analizar. Los resultados de los análisis de cada laboratorio son agrupados y todos ellos sujetos a un tratamiento estadístico. La calidad analítica de cada participante se evalúa por la desviación con respecto al valor establecido como correcto por los organizadores del ejercicio.

El ILMR (Laboratorio Internacional de Radioactividad Marina) y últimamente el MESL (Laboratorio de Estudios Medioambientales Marinos) han organizado durante los últimos 10 años varios Ejercicios para laboratorios de los países mediterráneos. En el primero de estos ejercicios, los resultados de los laboratorios estuvieron por debajo de la media mundial. A medida que el Programa ha avanzado, la calidad de los datos obtenidos también ha mejorado (L. Mee, 1989).

Actualmente los Centros Oceanográficos de Vigo y Mar Menor del Instituto Español de Oceanografía están participando en un amplio proyecto que incluye más de 80 laboratorios europeos denominado QUASIMEME (QUALITY ASSURANCE OF INFORMATION IN MARINE ENVIRONMENTAL MONITORING IN EUROPE). Lo financia la Comunidad Económica Europea a través de la Oficina Comunitaria de Referencia (BCR).

El objetivo de este proyecto es desarrollar un programa en Europa para la evaluación continuada de la calidad de la información química producida en el medio marino. Este programa permitirá también el establecimiento de un sistema central de coordinación y vigilancia para mejorar la actuación y proporcionar ayuda a los laboratorios participantes. Se pretende también un aumento del intercambio de conocimientos entre laboratorios.

El Proyecto QUASIMEME enfoca de forma integrada los Programas de Vigilancia incluyendo su diseño, toma de muestras, análisis químicos y evaluación de los datos. Este Proyecto establecerá y coordinará una red de 80 laboratorios que envían datos de concentraciones de contaminantes a Programas de Vigilancia en el Medio Marino.

Además de los aspectos formales del Proyecto, se pretende que sea un foro que permita el intercambio libre de ideas.

El Proyecto tiene 3 secciones fundamentales:

- \* Una evaluación continua en la forma de un test de capacitación.
- \* Establecimiento de un programa de aprendizaje y enseñanza.
- \* Desarrollar un programa de “gestión” de la Garantía de calidad.

España cuenta con 2 representantes en el Comité Director del Proyecto, ambos pertenecen al Instituto Español de Oceanografía. Han sido seleccionados 11 laboratorios españoles.

En la primera fase, ya concluida, se ha evaluado la calidad actual de los análisis de los laboratorios participantes en relación a los siguientes determinandos:

- .- Nutrientes en agua de mar
- .- Metales pesados en sedimentos marinos
- .- PCB's en aceite de pescado

En la fig. 1 se presentan las cartas de control del material de referencia BCSS-1 realizadas en la 1ª fase del Proyecto QUASIMEME en el Centro Oceanográfico de Vigo.

Los resultados se presentaron en un “workshop” celebrado en Portugal del 26 al 31 de Octubre de 1993 en el que los participantes tuvieron la oportunidad de intercambiar opiniones y discutir sobre las dificultades encontradas.

A partir de las conclusiones obtenidas en esta 1ª Fase se preparó la 2ª que comenzó en el mes diciembre de 1993 y en ella se analizarán:

- .- Nutrientes en agua de mar
- .- Metales pesados en organismos y sedimentos marinos

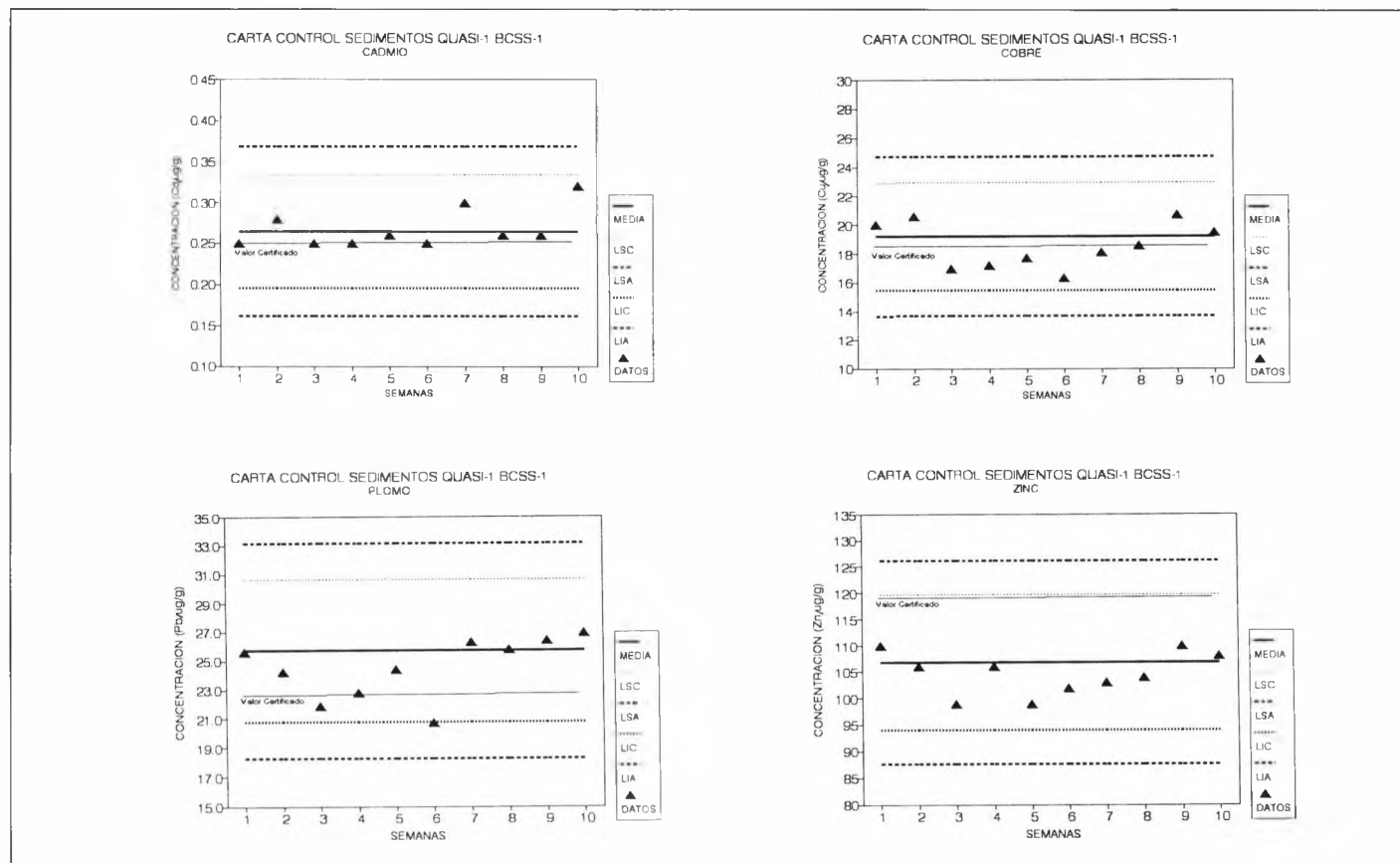


Figura 1.- Cartas de control del material de referencia certificado BCSS-1 realizadas en la 1ª fase del QUASIMEME en el Centro Oceanográfico de Vigo del IEO.

- PCB's y pesticidas organoclorados en aceite de pescado y sedimentos

En fases sucesivas se realizarán intercomparaciones sobre diferentes métodos de muestreo, así como estudios acerca de la influencia de los métodos de preparación previos al análisis, como son la liofilización y tamizado de la muestra.

## MATERIALES DE REFERENCIA

El uso de un método validado, la instrumentación adecuada, la experiencia del personal, etc. no garantiza la producción de buenos resultados de forma permanente. Todo el trabajo analítico se debe realizar bajo un sistema de control de calidad. Es importante que la gestión de un laboratorio contemple los requisitos necesarios para mantener la calidad, posibilitando los recursos imprescindibles.

En el medio marino, la obtención de concentraciones de contaminantes no sólo depende de la emisión de datos precisos analíticamente, sino también de:

- Un programa de muestreo representativo y significativo
- Procedimientos de almacenamiento y tratamiento de muestras adecuados
- Procedimientos de evaluación de datos

El control de la precisión y exactitud de las determinaciones analíticas se realiza mediante el análisis de materiales de referencia certificados en el rango de concentraciones que se encuentran en las muestras.

Hay varios organismos que producen y facilitan materiales de referencia de matrices marinas; los utilizados en el Instituto Español de Oceanografía son adquiridos a: Community Bureau of Reference (BCR), National Research Council of Canadá (NRCC) y National Institute of Standards and Technology (NIST).

Además se utilizan materiales de referencia internos, que no están certificados y que son preparados en los propios Centros. Estos materiales se analizan regularmente a la vez que las muestras y los resultados también se usan para la construcción de cartas de control. Las más recomendadas actualmente representan los resultados obtenidos del material de referencia en una carta en la que también están representados la media, el valor certificado y varios límites obtenidos a partir de la media ( $\bar{x}$ ) y la desviación standard ( $s$ ), como son el límite superior de control ( $LSC=\bar{x}+3s$ ), límite inferior de control ( $LIC=\bar{x}-3s$ ), límite superior de aviso ( $LSA=\bar{x}+2s$ ) y límite inferior de aviso ( $LIA=\bar{x}-2s$ ). (Taylor, 1990).

## CARTAS DE CONTROL EN EL ANALISIS DE CADMIO, COBRE, PLOMO CINC Y MERCURIO

En las fig 2 y 3 se presentan las cartas de control de un material de referencia certificado externo (CRM-278) y de un material de referencia interno preparado en el laboratorio (ambos son mejillón liofilizado) y que se están utilizando en los análisis del Proyecto de Investigación sobre mejillón del Centro Oceanográfico de Mar Menor durante la campaña de 1992.

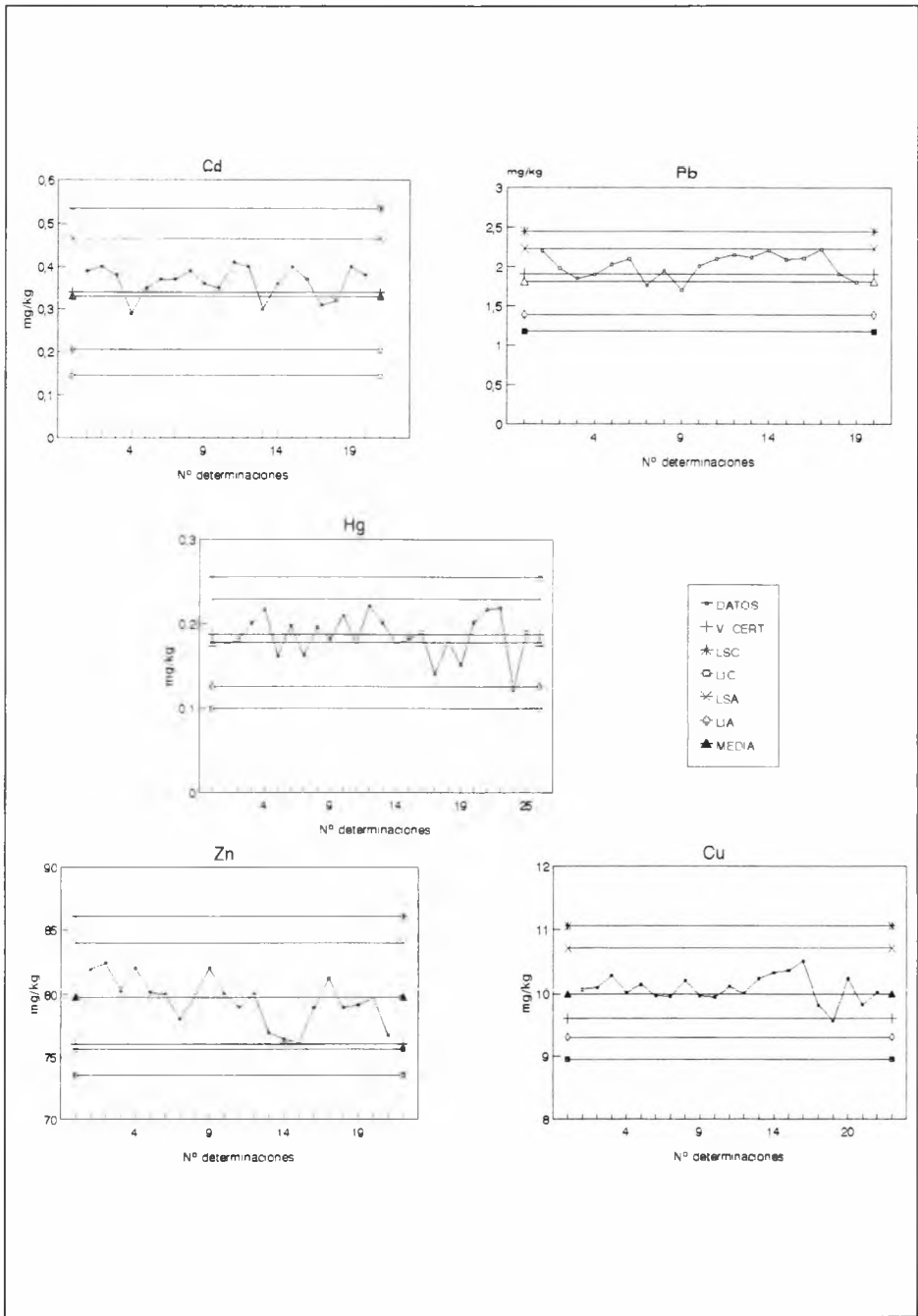


Figura 2.- Cartas de control del material de referencia certificado CRM-278 realizadas en el Centro Oceanográfico de Mar Menor del IEO.

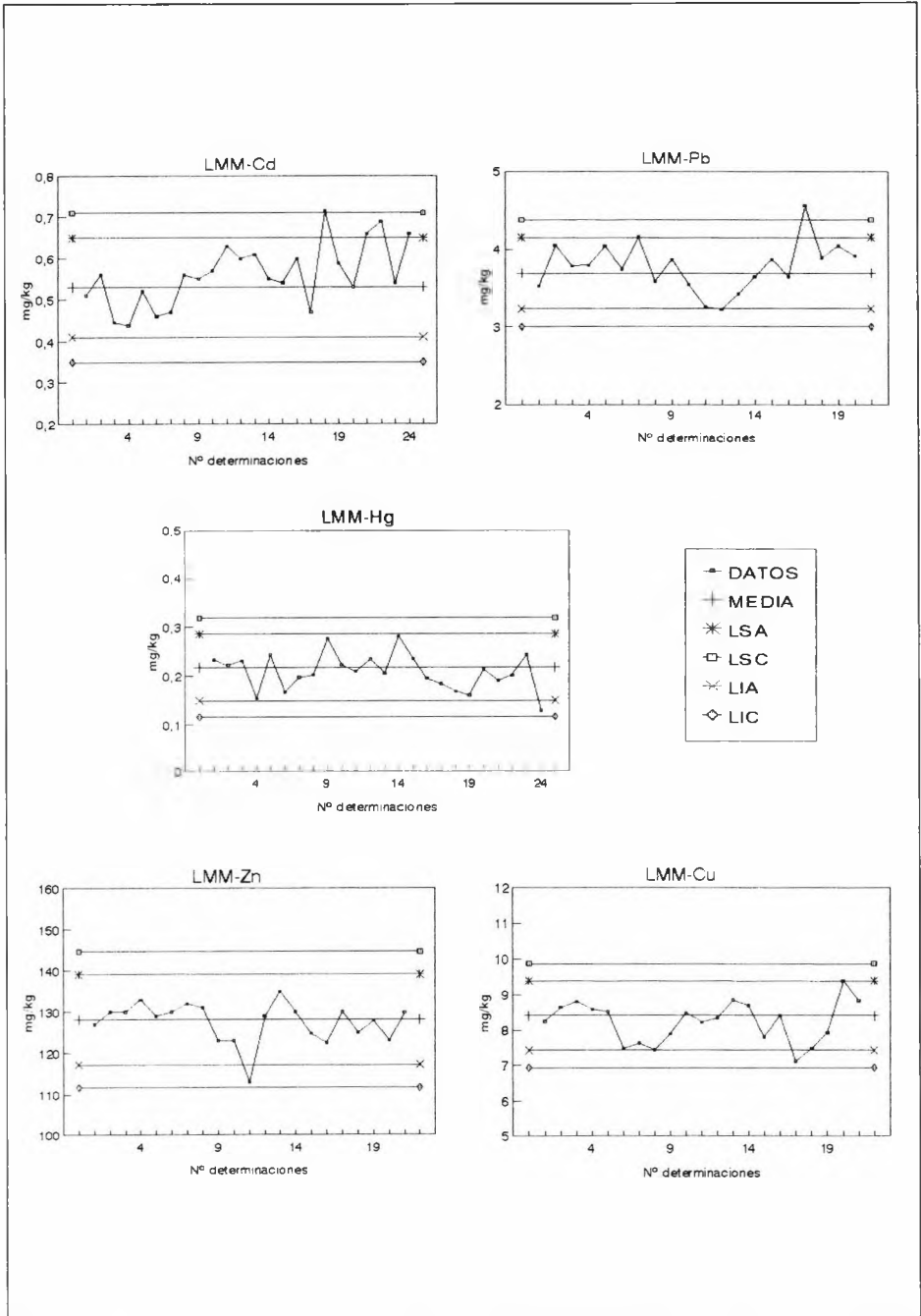


Figura 3.- Cartas de control del material de referencia interno LMM realizadas en el Centro Oceanográfico de Mar Menor del IEO.

Previamente a la realización de estas cartas de control se obtuvieron los siguientes coeficientes de variación sobre 10 análisis. Tabla 1

	Cd	Pb	Hg	Cu	Zn
CRM-278	17.9	11.5	14.6	3.5	2.6
LMM	13.5	7.1	15.7	5.8	4.2
BCSS-1	8.6	8.1		8.0	3.6

## DISCUSION

Comparando los coeficientes de variación de los dos materiales de referencia orgánicos, observamos valores más elevados en el caso del mercurio, cobre y cinc para el material interno. Si comparamos a lo largo del tiempo, vemos que en el caso del material certificado han disminuido, pero no es así para el LMM, que aumentan. En el caso del material de referencia CRM-278, las cartas fueron actualizadas de acuerdo a los valores nuevos de la desviación standard.

## BIBLIOGRAFIA

- Sabater, J y Vilumara, A. 1988. *Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP)*. Ediciones Díaz de Santos, S.A. 230pp.
- Mee, L., Noshkin, V. y Walton, A. 1989. Worldwide quality control for measuring contaminants in the marine environment -15 years of progress at the International Laboratory of Marine Radioactivity. *IAEA Bull.*, 2 32-35.
- Taylor J.K., 1987. *Quality Assurance of Chemical Measurements*. Lewis Publishers, Inc. 328 pp.

## ACUMULACIÓN DE COBRE EN MICROALGAS USADAS EN ACUICULTURA.

*Ignacio Moreno, Manuel G. del Valle y Luis M<sup>a</sup> Lubián.*

Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (CSIC). Polígono Río San Pedro, s/n, 11510, Puerto Real, Cádiz (España).

**Palabras clave:** Microalgas, toxicidad, cobre, metales pesados, acumulación.

### RESUMEN

Se compara la toxicidad del cobre para cinco cepas de microalgas marinas frente al cobre, dependiendo del medio de cultivo empleado (f1/2 de Guillard completo frente a f1/2 de Guillard carente de EDTA y metales traza). Las cepas estudiadas fueron *Rhodomonas sp.*, *Nanochloris maculata*, *Isochrysis aff galbana* (T-ISO), *Chaetoceros gracilis* y *Nannochloropsis gaditana* (Clon B-3). Sobre esta última cepa (*Nannochloropsis gaditana*, Clon B-3) se realizan experiencias de acumulación de cobre, tomando muestras a las 48 y 96 horas del inicio de la incubación.

### ABSTRACT

The toxicity of copper for five sea microalgal strains is studied, varying the culture medium (complete Guillard's f1/2 and Guillard's f1/2 lacking EDTA and trace metals). The strains used in the tests were *Rhodomonas sp.*, *Nanochloris maculata*, *Isochrysis aff galbana* (T-ISO), *Chaetoceros gracilis* and *Nannochloropsis gaditana* (Clon B-3). On this strain (*Nannochloropsis gaditana* Clon B-3) accumulation experiments are carried out, taking samples at 48 and 96 hours from the start of the incubation.



## INTRODUCCIÓN

El papel que las microalgas pueden representar en la investigación de fenómenos de toxicidad en general es muy importante (Steeman-Nielsen & Wiium-Andersen, 1970; Havens, 1993; Cedeno-Maldonado & Swader, 1974). Por una parte, algunas especies de estos microorganismos pueden presentar umbrales de sensibilidad muy bajos ante ciertos contaminantes, lo que las convierte en excelentes bioindicadores en experiencias *in vitro*. Por otra parte, es bien conocida la capacidad que presentan muchos microorganismos para acumular (tanto en su superficie como en su interior) metales pesados (McHale & McHale, 1994). De entre estos microorganismos, las microalgas ocupan un lugar predominante (Maeda & Sakaguchi, 1990; Burdin & Bird, 1994). Tal capacidad de acumulación podría ser aprovechada en procesos de retirada de metales tóxicos de medios acuáticos salinos.

Los experimentos que a continuación se exponen tienen como objetivos determinar el efecto que distintas dosis de cobre presentan sobre varias cepas microalgales, así como medir la cantidad de este metal que cierta microalga (*Nannochloropsis gaditana*, Clon B-3) es capaz de retirar del medio. Para ambos tipos de experiencia se usaron cultivos tipo batch.

Es un hecho conocido que la cantidad de quelantes presentes en el medio altera la toxicidad de los metales pesados para el fitoplancton, bien aumentando bien disminuyendo dicha toxicidad. Por este motivo hemos querido comprobar cuál era el efecto que el uso de dos medios de cultivo (uno completo, otro sin EDTA ni metales traza) presentaba ante dosis similares de cobre.

## MATERIAL Y MÉTODOS

1. *Cultivos celulares*: Las cepas microalgales usadas fueron las siguientes: *Rhodomonas sp.*, (Cryptophyceae) *Nannochloris maculata*, (Chlorophyceae); *Isochrysis aff galbana* (cepa T-ISO), (Chrysophyceae); *Chaetoceros gracilis* (cepa UK), (Bacillariophyceae) y *Nannochloropsis gaditana* (Clon B-3) (Eustigmatophyceae). Todas ellas se encuentran en la Colección de Cepas de Microalgas Marinas del Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (CSIC). Se hicieron crecer en agua de mar filtrada a través de filtros Wathman (0.45  $\mu\text{m}$ ) y, posteriormente, esterilizada mediante el uso del autoclave. Todo el material de vidrio utilizado fue lavado previamente con ácido nítrico (60%) y enjuagado varias veces con agua desionizada (Milli-Ro)

2. *Experimentos de toxicidad*: Para determinar el efecto tóxico del cobre disuelto en el agua de mar, se realizó, en primer lugar, un barrido de dosis de cobre para acotar las concentraciones de metal entre las que la población de microalgas no mostraba diferencias con el control y las concentraciones que producían la inhibición del crecimiento. Se dispusieron baterías de tubos que contenían concentraciones de cobre (añadido al medio como sulfato pentahidratado) de concentración 0 (control), 0.1, 1, 10, 100 y 1000  $\mu\text{M}$ , y se realizaron recuentos celulares en cámara Neubauer el día 6º a partir del inicio de la incubación. Se eligió este día porque en él las diferencias de crecimiento para las distintas dosis de cobre se hacían muy patentes.

Con objeto de comprobar el efecto de la presencia del EDTA y los metales traza sobre la toxicidad del cobre sobre las microalgas mencionadas, se preparó una solución madre de medio f1/2 de Guillard carente de EDTA y metales traza, con la que se abonó una de las series de tubos. La otra se abonó con medio f1/2 de Guillard completo. Las densidades celulares iniciales usadas fueron  $0.42 \cdot 10^6$  células/ml para *Rhodomonas sp.*;  $3.3 \cdot 10^6$  células/ml para *Nanochloris maculata*;  $1.8 \cdot 10^6$  células/ml para *Isochrysis aff galbana* (cepa T-ISO);  $0.5 \cdot 10^6$  células/ml para *Chaetoceros gracilis* (cepa UK) y  $3.5 \cdot 10^6$  células/ml *Nannochloropsis gaditana*, Clon B-3.

Sobre tres de estas microalgas (*Nannochloropsis gaditana* (Clon B-3), *Isochrysis aff galbana* (cepa T-ISO) y *Chaetoceros gracilis*) se realizó un estudio de toxicidad más fino, empleando medio de cultivo f1/2 de Guillard completo, e incrementando la concentración de cobre en el medio de manera lineal (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100  $\mu\text{M}$ , aparte de un control sin metal). Los cultivos se realizaron por duplicado. Las densidades celulares iniciales, en este caso, fueron de  $3.5 \cdot 10^6$  células/ml para *Nannochloropsis gaditana*;  $1.3 \cdot 10^6$  células/ml para *Isochrysis aff galbana* y  $0.6 \cdot 10^6$  células/ml para *Chaetoceros gracilis*.

3. *Experimentos de acumulación de cobre:* La cepa microlagal escogida para los experimentos de acumulación fue *Nannochloropsis gaditana* Lubián, Clon B-3, aislada de la bahía de Cádiz. La elección de esta especie se debe a las características favorables que presentan sus células: un tamaño pequeño (alrededor de tres micras de diámetro), del que resulta una relación superficie/volumen muy alta, y una pared celular muy dura, que proporciona una gran resistencia a la lisis. Para este experimento se dispusieron dos matraces de dos litros de capacidad, con agua de mar estéril abonada con medio de cultivo f1/2 de Guillard carente de EDTA y metales traza. De un cultivo cuya densidad celular era  $86 \cdot 10^6$  células/ml se centrifugó el volumen adecuado para que, al suspender de nuevo las células en el volumen deseado, quedaran unos  $40 \cdot 10^6$  células/ml.

En cada toma de muestras (a las 48 y 96 horas) se centrifugaron 2 litros de cultivo. Uno de ellos fue lavado tres veces con solución isotónica (formiato amónico 0.9%). El otro fue lavado el mismo número de veces con una solución que contenía formiato amónico 0.9% más EDTA 0.5%. El objeto del lavado con solución isotónica es eliminar las sales que pueden interferir en las medidas realizadas posteriormente. El lavado que se realiza con la solución que contiene EDTA retira el cobre adherido a la superficie de la célula (cobre adsorbido), permaneciendo sólo el cobre acumulado en el interior celular (cobre absorbido). Las muestras se congelaron a  $-80^\circ\text{C}$  y se liofilizaron.

Un peso seco conocido de cada muestra fue digerido durante una hora a  $90^\circ\text{C}$  con nítrico Suprapur. Tras esto, se enrasó el volumen hasta 10 ml con agua desionizada (Milli Ro) y se transfirieron a tubos de plástico, para su posterior medida por Espectrofotometría de Absorción Atómica.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del experimento de toxicidad sobre *Rhodomonas sp.*, *Nanochloris maculata*, *Isochrysis aff galbana* (T-ISO), *Chaetoceros gracilis* y *Nannochloropsis gaditana*

(Clon B-3) se muestran en la **figura 1** (medio f1/2 de Guillard completo) y en la **figura 2** (medio f1/2 de Guillard carente de EDTA y metales traza). Se aprecia claramente que la ausencia de EDTA y metales traza en el medio de cultivo incrementa la toxicidad del cobre para las microalgas. Así, concentraciones de 10  $\mu\text{M}$  no ejercen un efecto distinguible del control sobre *Nanochloris maculata*, *Isochrysis* aff *galbana* o *Nannochloropsis gaditana*, cuando el medio de abono fue el f1/2 de Guillard completo. Pero la inhibición del crecimiento sí es patente para esta dosis y estas mismas microalgas cuando el medio de abono utilizado era el f1/2 de Guillard carente de EDTA y metales traza. *Rhodomonas* sp. y *Chaetoceros gracilis* mostraron mayor sensibilidad al cobre disuelto, si bien se aprecia un incremento notable del crecimiento de *Rhodomonas* sp. ante dosis bajas de cobre, en medio f1/2 de Guillard carente de EDTA y metales traza. Tal incremento se puede explicar por una mayor necesidad de este metal por parte de esta microalga.

En las **figuras 3, 4 y 5** se muestran los resultados de los experimentos de inhibición del crecimiento para *Nannochloropsis gaditana*, *Isochrysis* aff *galbana* y *Chaetoceros gracilis*.

Los resultados de los experimentos de acumulación se resumen en la **figura 6**. Se aprecia que el porcentaje de cobre absorbido en el interior celular es muy pequeño, y que la mayoría del cobre acumulado se dispone en la superficie celular, siendo fácilmente retirado mediante lavados con una solución que contenga EDTA. No existen diferencias notables entre la acumulación a 48 y 96 horas, aunque se aprecia un ligero incremento del porcentaje de cobre absorbido. Tal hecho concuerda con la bibliografía, que describe una acumulación rápida en la superficie celular frente a una acumulación más lenta, en el interior de la célula, en la que se ve implicada la maquinaria energética de la microalga.

## BIBLIOGRAFÍA

- Burdin, K. S. y Bird, K. T., 1944. Heavy metal accumulation by carrageenan and agar producing algae. *Botánica Marina*, 37:476-470.
- Cedeno-Maldonado, A. y Swader, J. A., 1974. Studies on the mechanism of copper toxicity in *Chlorella*. *Weed. Sci.*, 22:443-449.
- Garnham, G. W., Codd, G. A. y Gadd, G. M., 1991. Kinetics of uptake and intracellular location of cobalt, manganese and zinc in the estuarine green alga *Chlorella salina*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 37:270-276.
- Heavens, K. E., 1993. Structural and functional responses of a freshwater plankton community to acute copper stress. *Environm. Pollution* 86:259-266.
- Maeda, S. y Sakaguchi, T., 1994. Accumulation and detoxification of toxic metal elements by algae. En: Introduction to applied phycology (I. Akatsuka ed.). The Hage, The Netherlands. pp 137-149.
- Masuda, K y Boyd, C. E., 1993. Comparative evaluation of the solubility and algal toxicity of copper sulfate and chelated copper. *Aquaculture*, 117:287-302.
- McHale, A. P. y McHale, S., 1994. Microbial biosorption of metals: potential in the trat-

ment of metal pollution. *Biotech Adv.*, 12:647-652.

O.E.C.D. (Organization for Economic Cooperation and Development), 1984. Guideline for testing Chemicals. Alga, growth inhibition test. 201. Adoptado el 7 de Junio de 1984.

Stauber, J. L. y Florence, T. M., 1985. The influence of iron on copper toxicity top the marine diatom *Nitzschia closterium* (Ehrenberg) W. Smith. *Aquatic Toxicology*, 6:297-305.

Steeman-Nielsen, E. y Wium-Andersen, S., 1970. Copper ions as poison in the sea and in freshwater. *Marine biology*, 6:93-97.

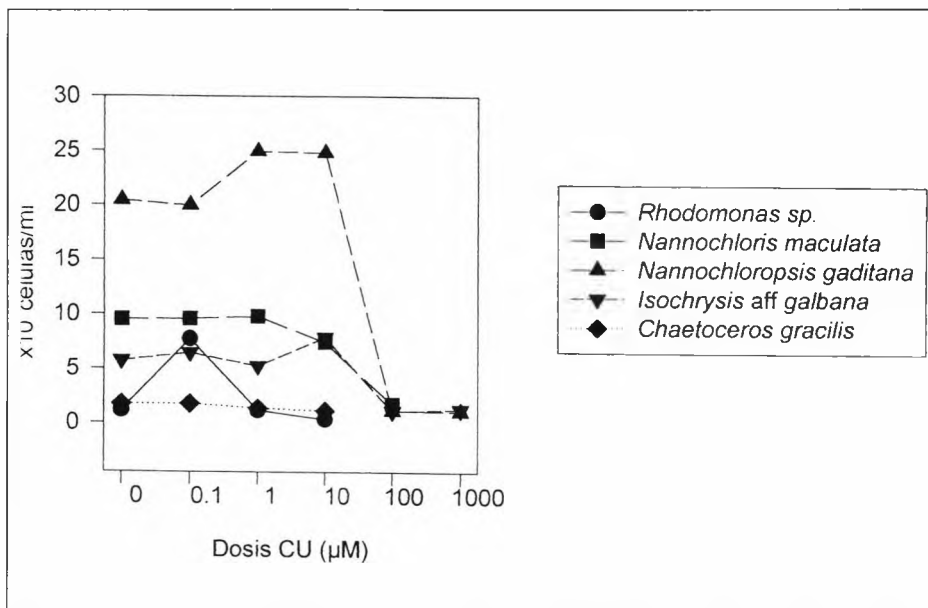


Figura 1.- Crecimiento de las distintas cepas microalgales estudiadas frente a dosis de cobre crecientes. Cultivos abonados con f1/2 de Guillard completo.

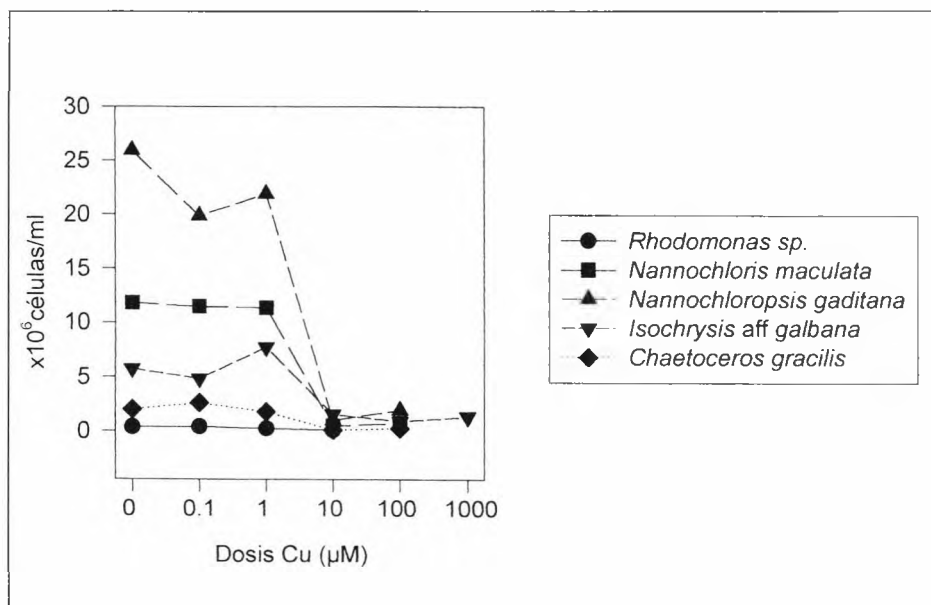


Figura 2.- Crecimiento de las distintas cepas microalgales estudiadas frente a dosis de cobre crecientes. Cultivos abonados con f1/2 de Guillard carente de EDTA y metales traza.

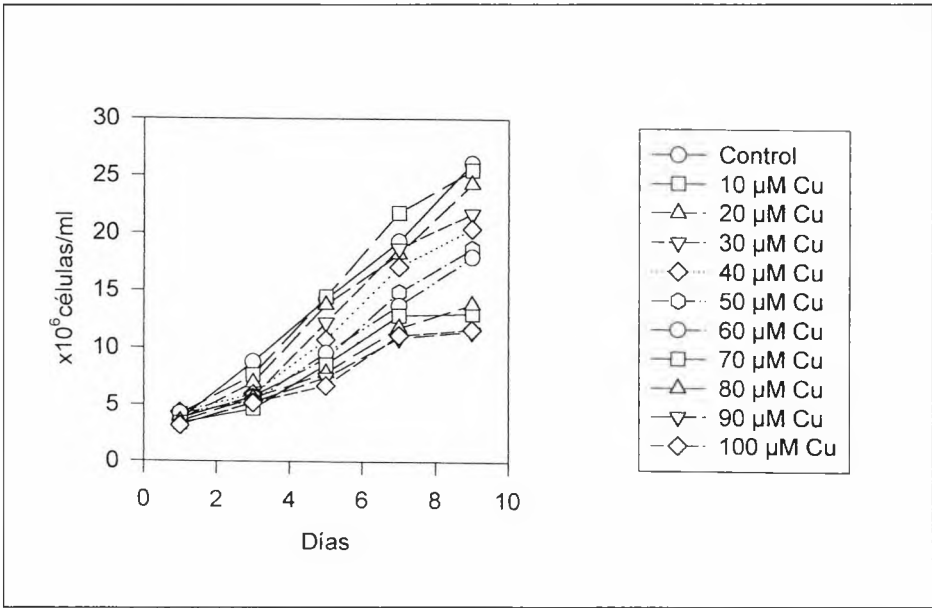


Figura 3.- Crecimiento de poblaciones de *Nannochloropsis gaditana* sometidas a dosis crecientes de cobre.

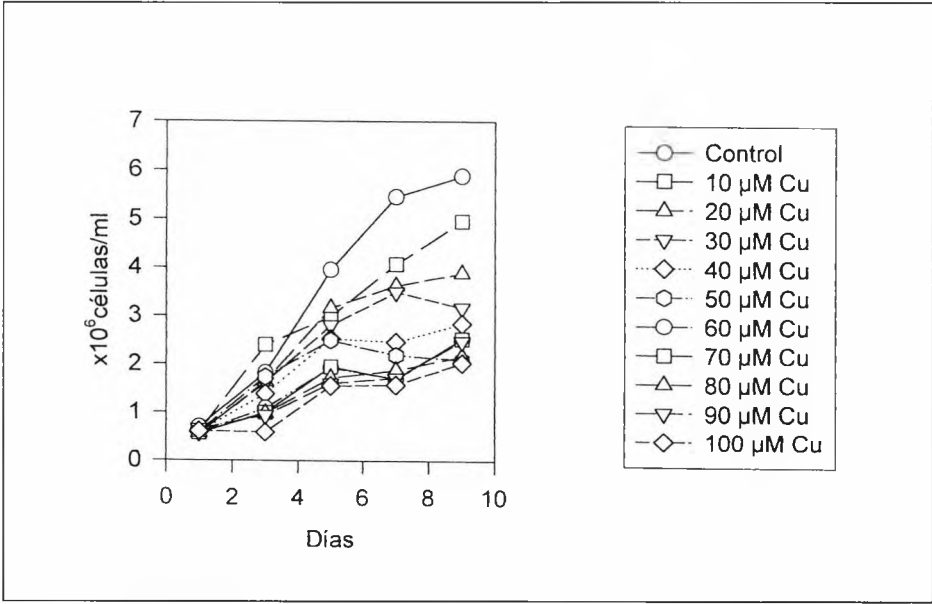


Figura 4.- Crecimiento de poblaciones de *Chaetoceros gracilis* sometidas a dosis crecientes de cobre.

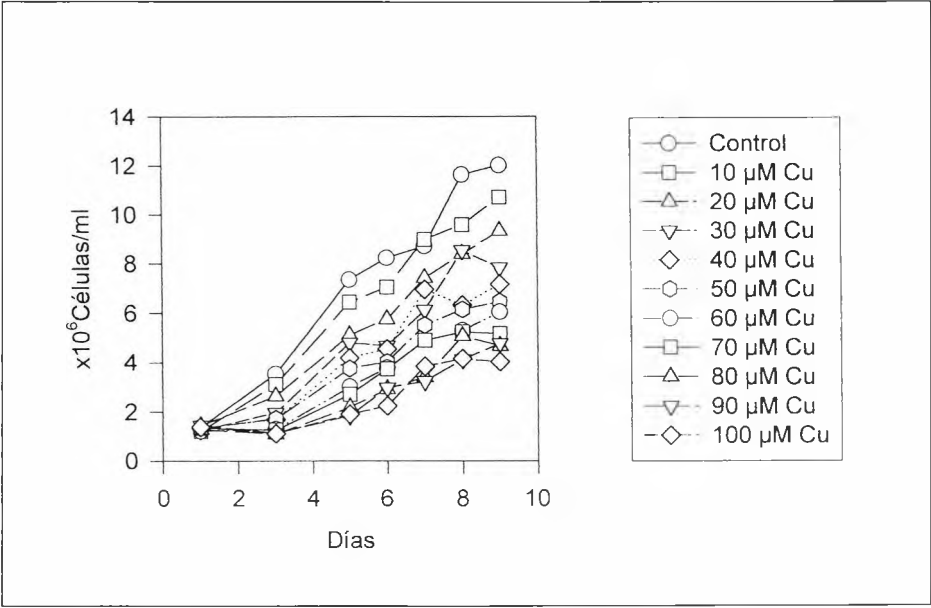


Figura 5.- Crecimiento de poblaciones de *Isochrysis galbana* sometidas a dosis decrecientes de cobre.

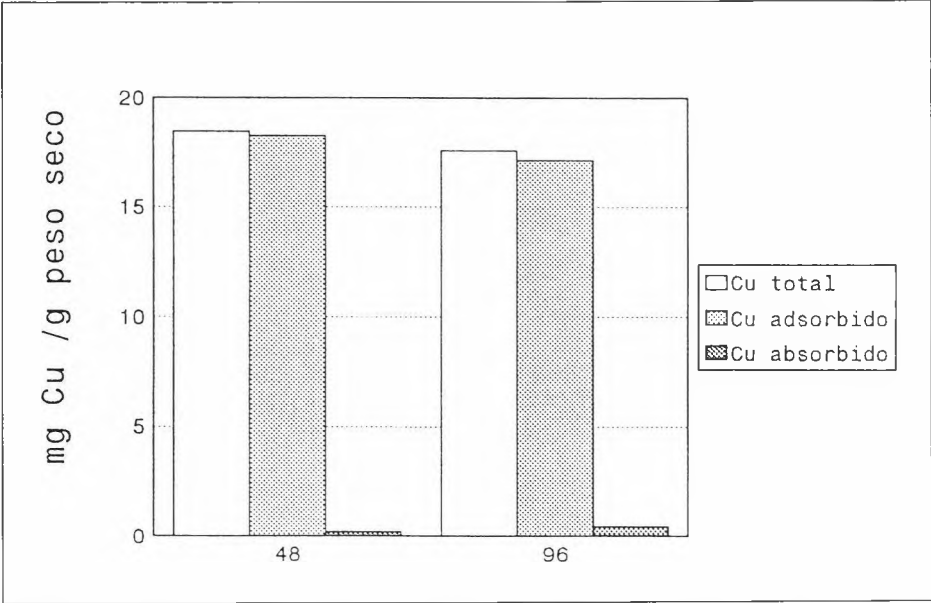


Figura 6.- Acumulación de cobre por la microalga marina *Nannochloropsis gaditana* en cultivo, con una densidad celular de  $40 \cdot 10^6$  células/ml, en presencia de una concentración de cobre de  $100 \mu\text{M}$ , a las 48 y 96 horas de incubación.

## METALES EN SUSPENSION EN AGUA DE MAR DE LA BAHIA GIJONESA Y SU RELACION CON EL VERTIDO DE LAS AGUAS RESIDUALES DE LA CIUDAD

(\*) *R. García Méndez*; (\*\*) *H. Sastre Andrés y E. Marañón Maison*

\* Escuela Superior de la Marina Civil. Dpto. Construcción e Ing. de Fabricación. U. Oviedo

\*\* E. T. S. de Ingenieros Industriales e I. Informáticos. Dpto. Ingeniera Química. U. Oviedo

### RESUMEN

En el presente trabajo, se caracterizaron las aguas residuales de la ciudad que se vierten al mar sin tratamiento alguno por tres colectores: Peñarrubia, Naval y Arbeyal, tomando muestras durante días alternos de una semana (mañana y tarde) en dos períodos diferentes (seco y húmedo). Estos datos se han promediado para obtener valores representativos de los resultados, haciendo una valoración anual del aporte de contaminantes. También se determinaron sólidos en suspensión y metales en suspensión (Cr, Fe, Ni, Cu, Zn, Cd, Pb) en los meses de Junio y Julio de 1992 en 11 puntos que abarcan toda la bahía Gijonesa, observándose una contaminación importante en las zonas afectadas por la descarga de los colectores.

### SUMMARY

A characterization of the city's waste waters which are discharged untreated into the sea by three main sewers: Peñarrubia, Naval and Arbeyal, is presented in this study. Samples were taken on alternate days during a week (morning and afternoon) during two different periods (dry and wet). The averages of these data were calculated so as to obtain representative values for the results, giving annual values for pollutant discharge. Both solids and metals (Cr, Fe, Ni, Cu, Zn, Cd, Pb) in suspension were also determined in June



and July of 1992 at 11 points around the Bay of Gijn, the pollution in the areas affected by the discharge of the main sewers being significant.

## 1. INTRODUCCION

Las aguas residuales están constituidas por materia orgánica y mineral arrastradas por la corriente líquida en forma de sólidos en suspensión y sustancias disueltas. También contienen microorganismos capaces de degradarla, pero la presencia de metales pesados inhibe el rendimiento [8]; si son vertidas al mar, reducen el oxígeno, aumentan el riesgo de infección, de toxicidad, etc. [6]. Por tanto, este concepto engloba todas aquellas aguas portadoras de sustancias nocivas para la salud, el medio y la estética del paisaje. Las aguas residuales urbanas presentan uno de los más graves problemas de contaminación que los países industrializados generan e intentan minimizar [5].

El concejo de Gijón está surcado por tres ríos cuyas cuencas comprende casi en su totalidad y que son: la del Piles (Peñafrancia) con una superficie de 74 km<sup>2</sup> comprendida en su totalidad en el concejo y mayoritariamente agrícola; la del Pílon (Tremañes) con una superficie de 13 km<sup>2</sup> que atraviesa los polígonos industriales de Puente Seco, Tremañes y la antigua factoría de Moreda. A esta cuenca se debe unir la del río Cutis, que con una pequeña superficie de 465 Ha. se encuentra completamente urbanizada, habiéndose convertido su cauce en el colector central de la ciudad (Naval). La de Aboño (Pinzales) ocupa una superficie de 69 km<sup>2</sup> en la que se asientan las principales industrias del concejo: Ensidesa, Térmica de Aboño, Parque de Carbones, Planta de Tratamiento de Fluoruros y minas Villabona.

Gijón tiene una población de 285.157 habitantes y está situada en  $l = 43^{\circ}-33'48''$  N y  $L = 005^{\circ}-39'40''$  W y actualmente vierte sus aguas residuales directamente al mar Cantábrico por tres colectores: **Peñarrubia**, **Naval** y **Arbeyal** (Puntos: 5, 9 y 10 de la Tabla 1). El colector de Peñarrubia en la zona Este que corresponde a la cuenca del río Piles (Peñafrancia), da salida al mar en la playa de su mismo nombre, al este de la Pta. Rosario Acuña, punto (5) de la Tabla 1, con un caudal medio de 800 l/s. En la zona Oeste, existen dos colectores provistos de filtros de rejillas de limpieza manual para la retención de sólidos flotantes: el colector del Naval que vierte las aguas residuales en el punto (9) a la dársena que le da el nombre, con un caudal medio de 900 l/s y el colector del Arbeyal con un caudal medio de 200 l/s descarga en la playa, punto (10) indicados en dicha Tabla 1.

## 2. MATERIAL Y METODOS

Para la caracterización de las Aguas Residuales, se determinaron 16 parámetros, siete de los cuales corresponden a los metales pesados como se muestra en las Tablas 2 y 3, cuya metodología se describe a continuación.

### 2.1.- Toma de muestras y puntos de muestreo

La toma de muestras tanto de aguas residuales como de agua de mar se ha realizado manualmente, por ser el procedimiento efectivo, más barato y simple [4]. Las situaciones

de los puntos de muestreo, se fijaron con un receptor satélite GPS MAGELLAN Modelo 5000 D portátil.

**Tabla 1. Denominación y situación de los puntos de muestreo**

1)	Escalera # 4	l = 43-32,78N	L = 005-39,42W
2)	Escalera # 9	l = 43-32,70N	L = 005-39,15W
3)	Escalera # 13	l = 43-32,72N	L = 005-38,85W
4)	N/Cerro	l = 43-33,40N	L = 005-39,40W
5)	Peñarrubia	l = 43-33,20N	L = 005-37,81W
6)	Amosucas	l = 43-34,90N	L = 005-40,28W
7)	Ra Aboño	l = 43-34,60N	L = 005-42,50W
8)	dársena Vieja	l = 43-32,80N	L = 005-39,83W
9)	Naval	l = 43-32,65N	L = 005-40,63W
10)	Arbeyal	l = 43-32,87N	L = 005-41,28W
11)	Musel	l = 43-33,82N	L = 005-41,62W

### 2.1.1.- Aguas residuales y análisis “in situ”

Las muestras se tomaron durante los días alternos de una semana del mes de Diciembre de 1991 y del mes de Abril de 1992, por la mañana (entre 10 y 12-30 horas) y por la tarde (entre 16 y 18-30 horas). Se extrajeron cinco muestras consecutivas de 1 litro aproximadamente, evitando cogerlas de la superficie, homogenizando y a continuación transvasando 1/2 litro de dicha muestra a un recipiente de polietileno cerrado herméticamente además de otra muestra de 1 litro en frasco de vidrio provisto de tapón esmerilado y previamente lavado con Tricloroetileno para la determinación de aceites y grasas.

Las medidas de temperatura y oxígeno disuelto se han realizado “in situ” mediante un termómetro de bulbo de mercurio y un medidor portátil OXI-92 WTW. Las muestras se transportaron al laboratorio donde se determinaba en primer lugar el pH con un pHmetro RADIOMETER PHM-82 y la conductividad con el medidor CRISON Mod. 523; posteriormente se determinaron los demás parámetros. El número total de muestras fué de 16, correspondiendo 8 a cada período.

### 2.1.2.- Agua de mar

La toma de muestras de agua de mar superficial se realizó en los 11 puntos de la bahía los meses de Junio y Julio de 1992, tomándose las muestras a una profundidad de 0,5 m desde una embarcación neumática, en botellas de polietileno previamente acondicionadas.

## 2.2.- Determinación de parámetros físico-químicos

\* Para la valoración del nitrógeno amoniacal, se empleó una unidad de destilación KJELTEC SYSTEM Mod. 1002. El volumen de muestra utilizado fué de 25 ml, valorándose el amoníaco destilado con ácido sulfúrico 0,02N.

\* Para la determinación de la DQO se utilizó el colorímetro HATCH DR 100.

\* Las determinaciones de sólidos totales se realiza por el método gravimétrico, evaporando 250 ml de muestra en una estufa a 105 °C.

\* Para la determinación de los sólidos en suspensión, se filtró 1 litro de muestra mediante bomba de vacío y filtros de celulosa Schleicher & Schuell de 45  $\mu\text{m}$ .

\* La determinación de aceites y grasas en las muestras de los colectores se realizó por gravimetría, previa extracción de 1 litro de muestra con tricloroetileno y posterior destilación del disolvente, secando del matraz en estufa a 60 °C para su valoración.

\* Para la determinación de los metales pesados en las muestras de los colectores, se efectuó una digestión de 200 ml de muestra con 4 ml  $\text{HNO}_3$ : 1 ml  $\text{HClO}_4$  determinando la concentración mediante un Espectrofotómetro de Absorción Atómica IL 551.

\* Para la determinación de los metales en suspensión en la bahía de Gijón, se filtró 1 litro de muestra con bomba de vacío y filtros de celulosa Schleicher & Schuell de 0,45 m previamente acondicionados. Se digirieron los filtros en reactores de Teflón con 2 ml de  $\text{HNO}_3$  en horno microondas durante 90 segundos a la máxima potencia de 750 Watios, determinándose posteriormente su contenido en metales por A.A.

### 3. RESULTADOS EXPERIMENTALES Y DISCUSION

#### 3.1.- Resultados experimentales de las muestras de colectores

En un principio, el interés se centraba en conocer las concentraciones metálicas que los colectores aportaban al mar, y posteriormente se trató de caracterizar estos vertidos analizando diversos parámetros además de los metales.

Estos datos obtenidos en diferentes fechas y estaciones se han promediado, representando los resultados como valores medios, a la vez que se utilizaron para el estudio de correlaciones estadísticas a fin de establecer su incidencia en la contaminación de nuestro litoral. También permitirán comprobar si en los próximos años, una vez finalizadas las obras de la red de saneamiento de la ciudad y con la instalación de plantas de pretratamiento, disminuye sustancialmente la contaminación de la zona.

En la Tabla 2 se muestra, a título de ejemplo, los valores obtenidos para los diferentes parámetros analizados en uno de los muestreos de los colectores.

**Tabla 2. parámetros determinados en colectores y ro Piles el da 09-04-92**

Parámetros determinados	Colector de Peñarubia		Río Piles		Colector del Naval		Colector del Arbeyal	
	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde
O2 Disuelto mg/l	5,2	5,4	8,14	7,50	6,60	5,00	6,20	4,20
Temp. °C	15	15	14	14	13	16	15	16
pH	7,93	7,60	7,56	7,67	7,73	7,75	8,06	8,16
Conductividad µs/cm	836	787	681	600	892	937	746	706
N Amoniacal mg/l	31,36	30,8	1,80	2,80	25,76	25,20	21,28	28
D.Q.O. mg/l	220	130	nd	nd	290	200	330	320
Sólidos susp. mg/l	255,2	219	118,4	111	266	250	296	258
Sólidos totales mg/l	736	689	535	471	826	811	805	748
Cr µg/l	118	152	60	84	239	184	203	12
Fe µg/l	1140	961	426	268	1523	787	758	199
Ni µg/l	11	5	20	4	49	40	130	28
Cu µg/l	36	35	18	21	57	63	102	23
Zn µg/l	117	99	25	42	229	240	300	83
Cd µg/l	5	5	1	2	8	8	12	7
Pb µg/l	265	340	90	129	545	669	188	189
Aceites y grasas mg/l	80	62	3	2	120	48	50	78

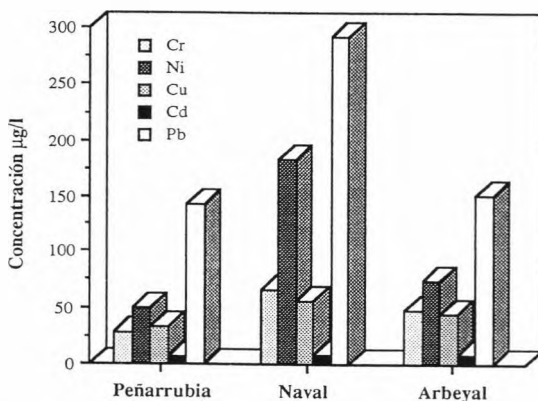
Teniendo en cuenta todos los valores determinados en los dos períodos (seco y húmedo), se elaboró la Tabla 3, a fin de obtener unos valores medios de referencia para poder estimar la cantidad total anual de contaminantes vertidos al mar por medio de los colectores de la ciudad.

Los valores de pH, O<sub>2</sub> disuelto, DQO, conductividad y N. amoniacal en las aguas residuales de la ciudad de Gijón, son similares a los obtenidos por otros autores [1, 9] en otras aguas residuales con una carga contaminante media. Las concentraciones de cadmio y plomo obtenidas en el río Piles son superiores a las encontradas en ríos no contaminados [10] pero resultan inferiores a las determinadas en ríos muy contaminados, como el Qishon, con máximos de 122 y 275 µg/l respectivamente [7].

**Tabla 3. Valores medios de los parámetros determinados en las aguas residuales**

Parámetros determinados en Aguas Residuales	Colector Peñarrubia (5)					Colector del Naval (9)					Colector del Arbeyal (10)				
	$\bar{x}$	$\sigma_n$	$\sigma_{n-1}$	Max	Min	$\bar{x}$	$\sigma_n$	$\sigma_{n-1}$	Max	Min	$\bar{x}$	$\sigma_n$	$\sigma_{n-1}$	Max	Min
O2 Disuelto mg/l	4,72	0,63	0,73	5,4	3,8	5,05	0,95	1,1	6,6	4,1	5,22	0,84	0,97	6,2	4,2
Temp. °C	15	0	0	15	15	14,5	1,1	1,3	16	13	14,75	0,83	0,96	16	14
pH	7,22	0,44	0,46	7,93	6,67	7,36	0,7	0,74	8,8	6,6	7,66	0,82	0,86	8,98	6,78
Conductividad $\mu\text{s/cm}$	1092	525,5	553,9	2610	736	1082,8	401,7	423,4	2220	750	764,8	105,9	111,6	936	577
N. Amoniacal mg/l	31,84	5,71	6,59	40,6	24,6	30,88	8,1	9,3	44,8	25,2	27,6	3,98	4,6	32,2	21,3
D. Q. O. mg/l	227,5	116,5	134,5	420	130	291,2	56,4	65,1	345	200	375	72,9	84,3	500	320
Sólidos en susp. mg/l	248	26,54	30,64	288	219	285	31	35,8	332	250	297,5	40,7	47	364	258
Sólidos totales mg/l	780	116,5	134,6	980	689	931,2	115,5	133,4	1079	811	869,5	139,6	161,2	1107	748
Cr $\mu\text{g/l}$	28,2	54,0	56,94	152	0	66,6	75,5	79,6	239	0	48,4	71	74,9	203	0
Fe $\mu\text{g/l}$	781,6	336,8	355	1220	184,5	2324	3478	3666	12650	389	611,1	427,7	450,8	1378	199
Ni $\mu\text{g/l}$	49	39,7	41,86	111	1	182,8	254,3	268,1	916,2	29	73,4	35,7	37,6	130	26
Cu $\mu\text{g/l}$	32,9	5,97	6,29	42,75	20	56,7	21,6	22,7	90	25,2	44,5	28,4	29,9	102	23
Zn $\mu\text{g/l}$	161,9	173,7	183	677	53	683,7	896,6	945	3225	128	188,3	92,9	97,9	341	83
Cd $\mu\text{g/l}$	7,10	2,7	2,9	13	4	8,7	2,4	2,6	14	5	7,62	1,99	2,1	12	5
Pb $\mu\text{g/l}$	143,5	83,5	88	340	62,5	292	213,8	225,4	669	112	151,75	62,4	65,8	258	76,5
Aceites y grasas mg/l	67	10,3	11,9	80	53	65,2	32,5	37,5	120	36	47,2	20,6	23,7	78	21

Una representación gráfica de estas concentraciones metálicas medias se muestra en las Figuras 1 y 2; no se han incluido todos los metales en el mismo gráfico, ya que los rangos de concentración del Fe y Zn son muy superiores a los otros contaminantes.



**Fig. 1 Concentraciones de Cr, Ni, Cu, Cd y Pb determinadas en los colectores**

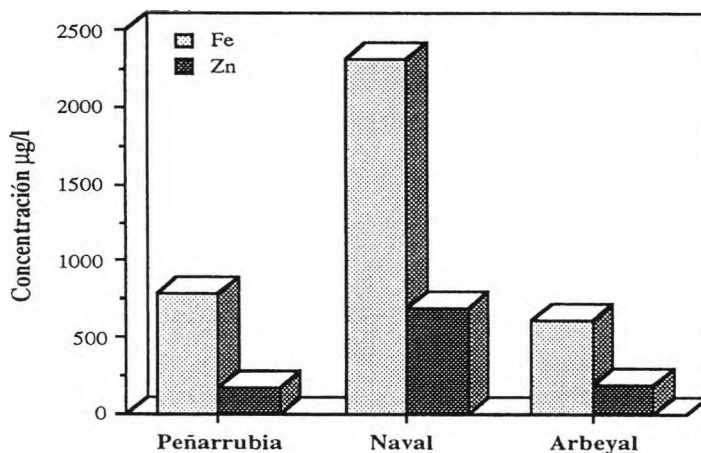


Fig. 2 Concentraciones de Fe y Zn determinadas en los colectores

En la Tabla 4 se muestra la cantidad de contaminantes que aportan al mar anualmente los colectores, teniendo en cuenta las concentraciones medias obtenidas y los caudales medios de los mismos.

Tabla 4. Aportaciones de contaminantes al mar expresadas en Tm/año

Contaminantes aportados al mar	Colector de Peñarrubia (5)	Colector del Naval (9)	Colector del Arbeyal (10)	Aportación Total Colectores
Sólidos en suspensión	6257	8090	1876	16222
Sólidos totales	19678	26430	5484	51592
Cromo	0,7	1,9	0,3	2,9
Hierro	19,7	65,9	3,8	89
Níquel	1,2	5,2	0,4	6,8
Cobre	0,8	1,6	0,3	2,7
Cinc	4	19,4	1,2	24,6
Cadmio	0,1	0,2	0	0,3
Plomo	3,6	8,3	0,9	12,8
Aceites y grasas	1690	1850	298	3838

### 3.2.- Resultados experimentales en agua de mar

Los resultados obtenidos en el análisis de metales y en la determinación de sólidos en suspensión se muestra en las Figuras 3 y 4. Como se puede apreciar, los máximos de concentración coinciden con los puntos próximos al vertido de los colectores, lo que demuestra claramente la localización de las fuentes contaminantes.

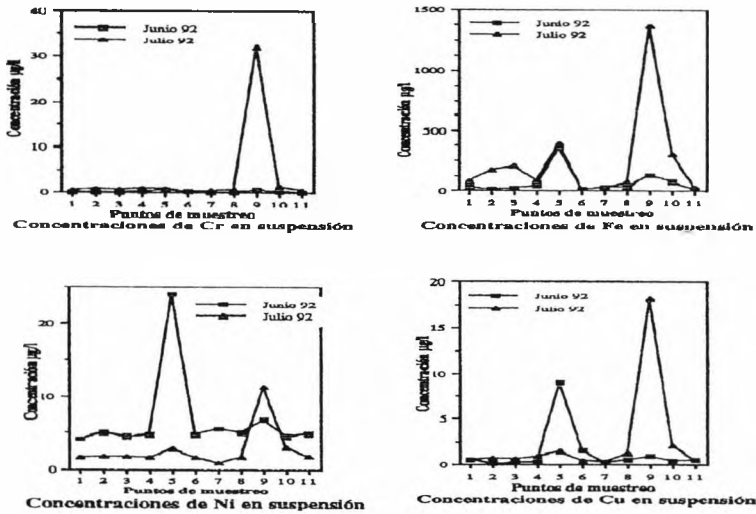


Fig. 3 Concentraciones de Cr, Fe, Ni y Cu en suspensión en la bahía de Gijón

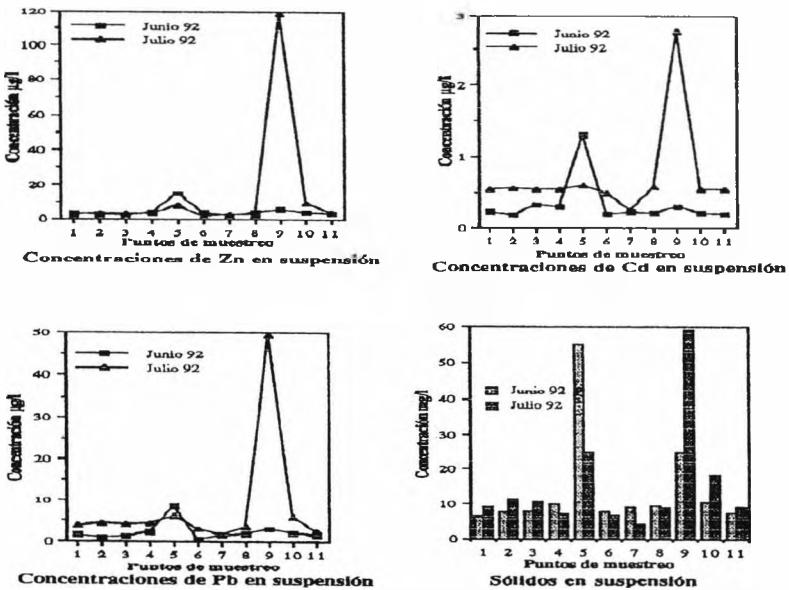


Fig. 4 Concentraciones de Zn, Cd, Pb y sólidos en suspensión en la bahía de Gijón

De la observación de las figuras anteriores, podemos resumir lo siguiente:

- \* En la zona de Peñarrubia, sólo aparece alta la concentración de níquel, baja la de cromo y significativa en los demás casos.
- \* En la zona del Naval, se observa una concentración elevada en el caso del níquel y para el resto de los metales determinados se obtienen las máximas concentraciones, siendo la zona más contaminada de la bahía.
- \* En la zona del Arbeyal, sólo aparecen como significativas las concentraciones de hierro, cinc y plomo.

Como se puede observar, existe una clara correspondencia de las concentraciones de los sólidos en suspensión con las concentraciones metálicas en suspensión para los mismos puntos de muestreo. Los valores máximos corresponden a los puntos 5, 9 y 10 situados en las proximidades de la descarga de los colectores de la ciudad.

Gran parte de las sustancias tóxicas están adsorbidas a la materia orgánica particulada [2, 3], su dispersión es mucho más lenta que la de los tóxicos disueltos y depende principalmente de las corrientes. Esto permite determinar elevadas concentraciones metálicas procedentes de vertidos, después de varias horas de haberse producido, mientras que las concentraciones en el agua experimentan una rápida dispersión y su dilución, si bien aumenta la concentración media en la zona, no representa un nivel significativo para su localización puntual.

## 4. TRATAMIENTO ESTADISTICO

### 4.1.- Correlaciones

Con el fin de establecer algún tipo de relación entre las concentraciones metálicas en suspensión obtenidas en el agua de mar y los aportes de las aguas residuales a la bahía de Gijón, se elaboraron matrices de correlación **PEARSON** con todos los datos obtenidos, tanto en las aguas residuales como en agua de mar. Para la elaboración de estas matrices, se empleó el Software estadístico SYSTAT para ordenadores Apple Macintosh.

En las mencionadas matrices se comprueba la existencia de una correlación muy significativa entre las concentraciones metálicas en suspensión y los sólidos en suspensión en ambos meses, lo que confirma una relación directa entre las concentraciones metálicas y la materia particulada, como consecuencia del vertido de aguas residuales. Esta correlación es debida a la adsorción por la materia orgánica de los iones metálicos; por lo tanto, en la medida que se disminuyan los sólidos se incidir en una reducción de los contaminantes.

Los datos del análisis estadístico se muestran en las Tablas 5 y 6, en las que se incluyen además el análisis de varianza.



**Tabla 5 Datos estadísticos del ajuste de las correlaciones correspondientes al mes de Junio 1.992**

DEP VAR:	SSJN	N:	11	MULTIPLE R:	0.999	SQUARED MULTIPLE R:	0.997
ADJUSTED SQUARED MULTIPLE R:	0.991			STANDARD ERROR OF ESTIMATE:	1.395		
VARIABLE	COEFFICIENT	STD ERROR	STD COEF	TOLERANCE	T	P(2 TAIL)	
CONSTANT	-8.125	5.560	0.000		-1.461	0.240	
CRSJN	36.106	15.911	0.544	0.016	2.269	0.108	
FESJN	-0.102	0.087	-0.724	0.002	-1.172	0.326	
NISJN	3.722	0.909	1.494	0.007	4.095	0.026	
CUSJN	-1.231	3.820	-0.221	0.002	-0.322	0.768	
ZNSJN	-0.273	2.712	-0.068	0.002	-0.101	0.926	
CDSJN	-10.728	14.469	-0.241	0.009	-0.741	0.512	
PBSJN	2.161	3.830	0.316	0.003	0.564	0.612	
ANALYSIS OF VARIANCE							
SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P		
REGRESSION	2073.784	7	296.255	152.218	0.001		
RESIDUAL	5.839	3	1.946				

**Tabla 6. Datos estadísticos del ajuste de las correlaciones correspondientes al mes de Julio 1.992**

DEP VAR:	SSJL	N:	11	MULTIPLE R:	1.000	SQUARED MULTIPLE R:	1.000
ADJUSTED SQUARED MULTIPLE R:	0.999			STANDARD ERROR OF ESTIMATE:	0.585		
VARIABLE	COEFFICIENT	STD ERROR	STD COEF	TOLERANCE	T	P(2 TAIL)	
CONSTANT	0.976	1.206	0.000		-0.809	0.478	
CRSJL	-10.938	1.840	-6.638	0.000	-5.944	0.010	
FESJL	0.102	0.006	0.300	0.007	2.067	0.131	
NISJL	-4.484	1.852	-0.839	0.001	-2.421	0.094	
CUSJL	1.294	1.002	0.435	0.001	1.292	0.287	
ZNSJL	2.308	0.372	5.110	0.000	6.205	0.008	
CDSJL	14.684	4.168	0.639	0.004	3.523	0.039	
PBSJL	2.214	0.804	1.946	0.000	2.754	0.071	
ANALYSIS OF VARIANCE							
SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P		
REGRESSION	2426.580	7	346.654	1014.004	0.000		
RESIDUAL	1.026	3	0.342				

## CONCLUSIONES

- 1) Las concentraciones de los sólidos en suspensión y metales en suspensión determinadas en la bahía de Gijón, son similares a las encontradas por otros investigadores en aguas costeras, excepto en los puntos próximos al vertido de los colectores, como lo demuestran las elevadas concentraciones obtenidas de sólidos en suspensión y de metales.
- 2) Las aguas residuales vertidas en el Naval presentan la mayor carga contaminante en todos los parámetros estudiados, debido a que recoge los efluentes de la zona más industrializada de la ciudad.
- 3) Las correlaciones estadísticas encontradas entre las concentraciones metálicas en suspensión y los sólidos en suspensión manifiestan la adsorción por la materia orgánica de los iones metálicos, por lo tanto, una reducción de sólidos del vertido de las aguas residuales de la ciudad reducir también la contaminación por metales pesados.
- 4) Los resultados obtenidos indican la conveniencia de proceder a un tratamiento adecuado de las aguas residuales, por ser el principal aporte de contaminantes al mar y en cumplimiento de la Directiva (91/271/CE) de 21-5-91.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 BASCON, W., 1982. The effects of waste disposal on the coastal waters of Southern California. *Environ. Sci. Technol.*, Vol 16, N 4, pp. 226-236.
- 2 BRENNAN, B., 1991. Chemical partitioning and remobilization of heavy metals from sewage sludge dumped in Dublin bay. *Water Res.*, Vol. 25, N 10, pp. 1193-1198.
- 3 BRYAN, G.W., 1976. Heavy metal contamination in the sea. *Marine Pollution*, Ed. Johnstons, Acad. Press, N. York, pp. 185-293.
- 4 CAMPOS, J.M., USERO, J., GRACIA, I., 1990. contaminación por metales en los sedimentos del río Tinto. *Tecnología del Agua*, 2 Monográfico, pp. 49-57.
- 5 DIAZ C., GALINDO L.R. Y GARCIA MONTELONGO F.J., 1988. Niveles de Concentración de Hg, Pb, Cd, Fe, Ni, Cu y Zn en el agua de mar del litoral de Sta. Cruz de Tenerife. *IV Seminario de Química Marina*, UNED, Cádiz, pp. 131-141.
- 6 GERLACH, S.A., 1981. *Marine Pollution Diagnosis and Therapy*. Ed. Springer-Verlag, New York.
- 7 KRONFELD, J. and NAVROT, J., 1974. Transition metal contamination in the Qishon river system, Israel. *Environ. Pollution* (6).
- 8 LAMBEA, J.M., 1989. La contaminación por metales pesados y los mecanismos de resistencia bacteriana aplicados a la depuración de efluentes. *8ª Conferencia sobre Hidrología Gral. y Aplicada*, Zaragoza Feb. 89.
- 9 MARIN, R., 1992. Utilización integral del agua en la ciudad de Córdoba hasta 1991: Agua Potable, Agua Residual. Influencia del vertido no depurado sobre el río Guadalquivir. *Tecnología del Agua*, N° 95, pp 17-26.

- 10 PUEBLA, P, LANAJA, J., SARASA, D., MATUTE, R., PUEBLA, J., et al. 1992. Estudio previo de calidad de las aguas de la cuenca del río Cinca. I. Clasificación según la normativa de la CE. *Tecnología del Agua*, Nº 95, pp 56-62.

## DISTRIBUCIÓN DE Hg, Pb, Zn Y Cu EN SALMONETE DE FANGO *MULLUS BARBATUS*

*Carmen Rodríguez Puente, Juan Guerrero Pérez, Antonio Jornet Sancho*  
Centro Oceanográfico de Murcia. Apartado 22. 30740 San Pedro del Pinatar. Murcia

### RESUMEN

Los Programas de Vigilancia de la Contaminación Marina, tanto nacionales como internacionales se basan, en muchas ocasiones, en el estudio y análisis de compuestos químicos en organismos bioindicadores. El salmonete de fango *Mullus barbatus* es una especie utilizada habitualmente en estos Programas dentro del área mediterránea.

Las concentraciones de contaminantes en los organismos dependen de diversos factores como son: especie, área, talla, sexo, grado de maduración sexual, que hay que tener en cuenta a la hora de comparar niveles.

En este trabajo se pretende establecer la relación entre talla y concentraciones de metales pesados en salmonetes recogidos en la zona costera de Murcia.

Se ha encontrado correlación positiva para el mercurio y negativa para el cinc. No se han podido establecer tendencias para el plomo y cobre.

### SUMMARY

Marine Pollution Monitoring Programmes, both at national and international levels use marine organisms as sentinel organisms. The striped mullet *Mullus barbatus* is widely used in many Projects in the Mediterranean area.

Pollutant concentrations in marine organisms vary with the specie, size, sex, degree of sexual maduration, and all this factors must be taken in consideration when comparing trace metal concentrations.

In this work we studied the relationship between size and metal concentrations in mullet from the coast of Murcia.

We have found a positive correlation for mercury concentrations and negative for zinc.

## INTRODUCCION

Un objetivo de los programas de vigilancia es la medición de los cambios que se producen en los ecosistemas, siendo habitual el uso de bioindicadores, como peces, frente al análisis de agua o sedimentos en el medio marino, por la acumulación de contaminantes en sus tejidos, aumentando los niveles y facilitando las determinaciones analíticas y por el peligro de que estas sustancias lleguen hasta el hombre a través de la ingestión de organismos contaminados.

El salmonete de fango *Mullus barbatus* es una especie utilizada habitualmente en los Programas de Vigilancia de la Contaminación en el Mediterráneo por su amplia distribución y su importancia comercial. El músculo es el tejido más comunmente analizado en la medida de contaminantes por su mayor consumo y sus posibles consecuencias en la salud humana.

Esta especie ha sido propuesta dentro de los estudios del Instituto Español de Oceanografía para evaluar las tendencias de los contaminantes a lo largo del tiempo en el área mediterránea. Está reconocido que la talla o edad del pez pueden influenciar las concentraciones de contaminantes en músculo, (Phillips, 1980) por lo que inicialmente se proyectó el estudio intentando abarcar el más amplio rango de tallas que posteriormente permitiera ajustar las concentraciones de contaminantes para peces de tallas diferentes, siguiendo los protocolos que sugiere el Consejo Internacional Para la Exploración del Mar (ICES, 1984; Misra et al, 1989).

## MATERIAL Y METODOS

Los organismos fueron recogidos durante el mes de mayo de 1990 a bordo de un barco pesquero mediante arrastre en la Bahía de Portman (Murcia), un área influenciada por los residuos procedentes de una explotación minera de plomo y cinc. El muestreo se realizó intentando abarcar el mayor rango de tallas posible.

Inmediatamente fueron llevados al laboratorio, donde se pesaron y midieron, se envolvieron en bolsas de plástico individualmente y se congelaron.

Posteriormente se descongelaron y se diseccionaron en una cabina de flujo laminar clase 100. Se tomó el tejido muscular, intentando evitar la contaminación y siguiendo el método descrito por Bernhard (1976).

Aproximadamente 1gr. de tejido liofilizado fue mineralizado con ácido nítrico en reactores a presión. Los metales fueron determinados por Espectrofotometría de Absorción Atómica. La precisión y exactitud analítica se controlaba mediante el análisis de material de

referencia DORM-1 (músculo de pez liofilizado) suministrado por el National Research Council of Canada.

## RESULTADOS y DISCUSION

En la tabla 1 se presentan los resultados de cobre, plomo, mercurio y cinc obtenidos para 44 individuos, junto a las medidas de talla y peso.

En la fig. 1 se representan las distribuciones de metales (en peso fresco) frente a la talla para los mismos metales.

Claramente las concentraciones de mercurio aumentan con la talla, mientras que disminuyen para el caso del cinc, siendo el porcentaje de variación explicado por la longitud de 62.1 y 56.3% para cada metal respectivamente. No se ha encontrado correlación significativa para cobre y plomo.

En el caso del mercurio, las concentraciones aumentan en gran medida a partir de individuos mayores de 23,5 cm, sin embargo las transformaciones logarítmicas de longitud y concentración no mejoró la relación. Esta transformación ha sido usada por otros autores (Jensen, 1987; Evans, 1993) para reducir la influencia de valores extremos y aumentar el poder de detección de correlaciones que sean significativas.

La importancia de la talla en las concentraciones de mercurio en organismos marinos ha sido reconocida anteriormente para otras especies (Mance, 1990). Otros autores también han encontrado disminución de la concentración con la talla para el cinc en esta especie (Hornung, 1987).

Por lo tanto cuando se trate de establecer tendencias a lo largo del tiempo usando esta especie como indicador, debemos tener en cuenta, entre otros factores, la talla del pez, por lo que se deben analizar animales de la misma talla en cada punto estudiado, o bien analizar individualmente un rango amplio de tallas para establecer la regresión talla-concentración en cada punto (Phillips, 1980)

Los resultados encontrados en este estudio son comparados con los de otros investigadores en la tabla 2. Nuestros valores se encuentran en el mismo rango que los de otras zonas del Mediterráneo.

## BIBLIOGRAFIA

- Bernhard, M. (1976). Manual of methods in aquatic environmental research. part 3. Sampling and analysis of biological materials. *FAO Fish. Technic. Paper No. 158*.
- Capelli, R., Contardi, V., Cosma, B., Minganti, V. & Zanicchi, G., 1983. A four-year Study on the Distribution of Some Heavy Metals in Five Marine Organisms of the Ligurian Sea. *Mar. Chem.* 12. pp. 281-293.
- Evans, D.W., Dadoo, D.K. y Hanson, P.J., 1993. Trace Element Concentrations in Fish Livers: Implications of variations with fish size in pollution monitoring. *Mar. Pollut. Bull.* 26, pp. 329-334.

TABLA 1. Concentraciones de metales en mg/kg peso fresco

Talla (cm.)	Peso (gr.)	Hg	Cu	Zn	Pb
9,5	9,99		0,30	5,02	0,125
10,3	11,37		0,66	6,72	0,088
11,0	14,99		0,40	6,30	0,077
11,0	16,68		0,41	4,73	0,075
12,5	19,36	0,051	0,45	5,13	0,076
13,0	25,91	0,062	0,45	3,28	0,055
13,5	30,83	0,079	0,31	3,40	0,053
14,0	28,04	0,051	0,36	3,67	0,063
14,0	30,21	0,037	0,72	3,17	0,092
14,5	35,65	0,132	0,65	4,04	0,153
14,5	40,06	0,085	0,77	4,25	0,220
15,0	40,72	0,056	0,28	3,90	0,137
15,5	31,81	0,040	0,33	5,19	0,114
16,0	46,06	0,105	0,45	3,53	0,117
16,0	46,76	0,049	0,26	3,81	0,075
16,5	52,07	0,063	0,88	4,03	0,127
17,0	64,54	0,049	0,51	3,90	0,395
17,5	67,21	0,102	0,26	4,00	0,074
17,5	63,18	0,040	0,30	4,02	0,098
18,0	78,68	0,053	0,31	3,41	0,114
18,0	74,02	0,193	0,24	3,79	0,077
18,0	64,91	0,039	0,48	4,07	0,136
18,5	87,96	0,130	0,42	4,82	0,173
19,0	73,86	0,078	0,28	4,78	0,237
19,0	78,16	0,058	0,21	3,31	0,122
19,0	79,10	0,050	0,37	3,60	0,160
19,0	89,40	0,125	0,45	4,18	0,403
19,5	66,36	0,119	0,37	3,41	0,236
20,0	82,74	0,092	0,19	2,67	0,060
20,0	92,15	0,079	0,86	3,43	0,256
20,5	98,91	0,028	0,35	3,83	0,211
20,5	119,49	0,104	0,68	3,36	0,118
21,5	116,34	0,115	0,24	3,68	0,268
22,0	133,66	0,133	0,78	2,73	0,109
23,0	132,29	0,110	0,72	2,49	0,106
23,5	150,65	0,328	0,44	2,97	0,090
23,5	168,39	0,301	0,38	2,54	0,065
24,0	174,40	0,202	0,47	3,25	0,162
24,0	158,10	0,295	0,32	2,67	0,074
24,0	149,61	0,278	0,55	2,63	0,081
24,5	168,80	0,517	0,72	3,09	0,086
25,0	208,20	0,506	0,28	2,32	0,046
28,0	292,90	0,433	0,30	2,63	0,141
28,0	280,40	0,515	0,78	2,64	0,180

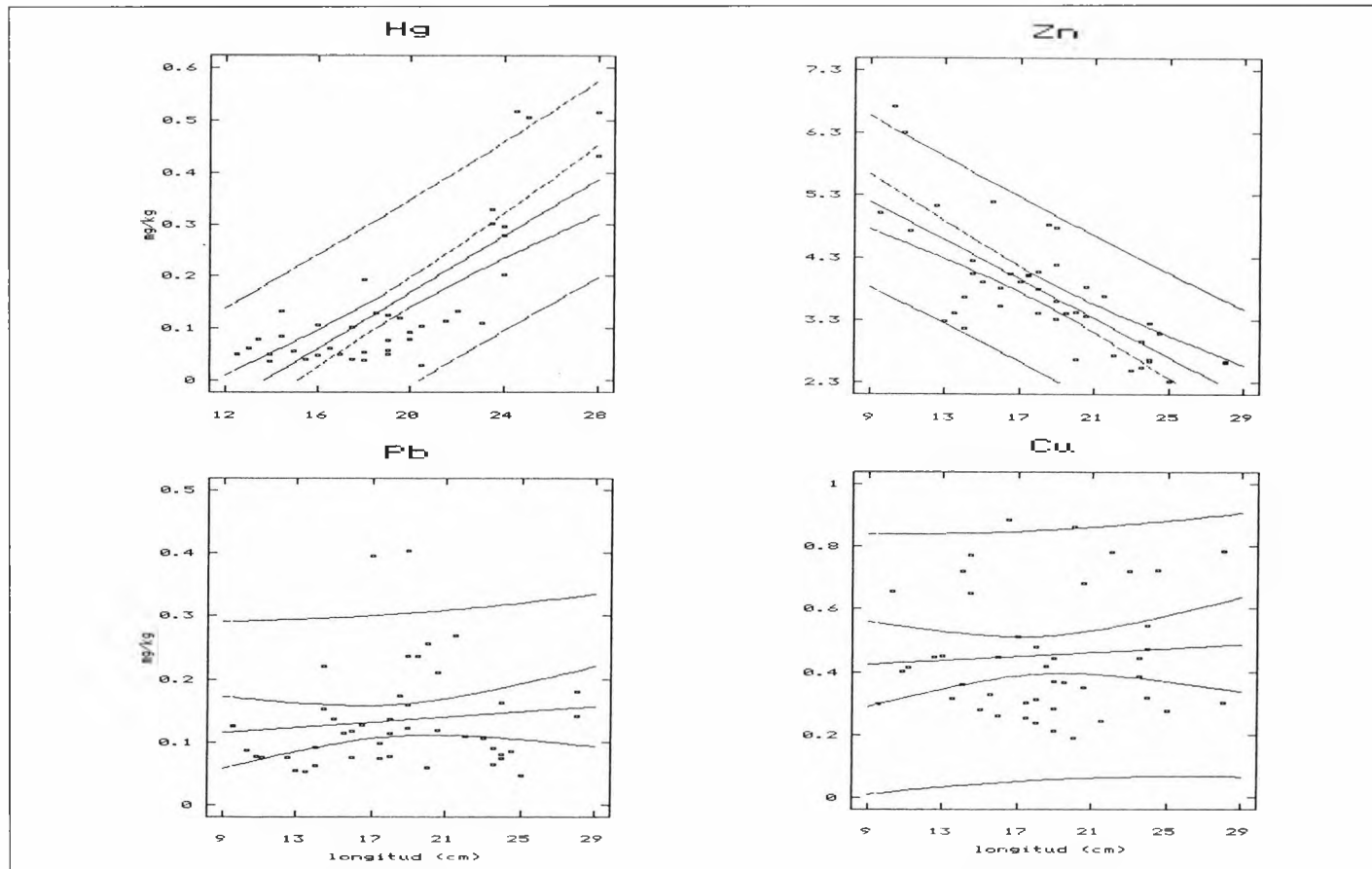


Figura 1.- Distribuciones de los diferentes metales frente a talla en salmonete.



Tabla 2. Niveles de metales (mg kg<sup>-1</sup> peso fresco) en *Mullus barbatus* encontrados en diferentes áreas del Mediterráneo.

Hg	Pb	Zn	Cu	Autores
0.028-0.517	0.05-0.40	2.3-6.7	0.19-0.88	este estudio
0.003-0.62	0.01-0.54	-	-	Rodríguez de León <i>et al.</i> (1984)
-	-	1.8-10.9	0.005-0.19	Hornung <i>et al.</i> (1987)
0.151-1.92	0.67-0.225	-	-	Medina <i>et al.</i> (1984)
0.233*	0.037*	-	-	Hernández <i>et al.</i> (1986)
0.027-0.97	-	2.4-9.5	0.34-1.30	Capelli <i>et al.</i> (1983)
0.49-1.49	-	3.4-5.4	0.43-0.78	Vukadin <i>et al.</i> (1984)
-	0.08-0.6	2.1-7.7	0.16-1.48	Voutsinou-Taliadouri (1982)
0.095*	0.228*	-	-	Guerrero <i>et al.</i> (1988)

\* = Valor medio

- Guerrero J., Deyá M.M., Rodríguez C., Jornet A. y Cortes D., 1988. Heavy metals levels in marine organisms from the Mediterranean Sea (Spanish coast). *VIII<sup>e</sup> Journées Etud. Pollutions*. p. 155.
- Hernández, F, Pastor A., Medina J., Conesa M., Melero R., y López F.J., 1986. Heavy metal concentrations in marine organisms from the Mediterranean Sea (Valencia-Castellon, Spain). *VIII<sup>e</sup> Journées Etud. Pollutions*. p. 120.
- Hornung, H. & Ramelow, G.J., 1987. Distribution of Cd, Cr, Cu and Zn in eastern Mediterranean Fishes. *Mar. Pollut. Bull.* **18**, pp. 45-49.
- ICES. 1984. The ICES Co-ordinated Monitoring Programme for Contaminants in Fish and Shellfish 1978 and 1979 and six-year Review of ICES Co-ordinated Monitoring Programmes. *Coop. Res. Rep., Int. Coun. Explor. Sea*, **126**. pp. 100
- Jensen, A., & Chen, Z., 1987. Statistical analysis of trend monitoring data of heavy metals in flounder (*Platichthys flesus*). *Mar. Pollut. Bull.* **18**, pp. 230-238.
- Mance, G., 1990. Bioaccumulation. En: *Pollution Threat of heavy metals in Aquatic Environments*. Pollution Monitoring Series. Elsevier Applied Science. London pp.294.
- Medina J., Pastor A., Hernández F, Beferul J.B., Barbera J.C., 1984. Levels of Heavy Metals and Organochlorine Pesticides in Marine Sediments and Organisms. Valencia- Castellón. Spain. *VII<sup>e</sup> Journées Etud. Pollutions*. pp. 433-441.
- Misra, R.K., Uthe, J.F. and Vynke, W., 1989. Monitoring time trends in contaminant levels using a multispecies approach: Contaminant trends in Atlantic cod (*Gadus mor-*

*hua*) and European flounder (*Platichthys flesus*) on the Belgian coast, 1978-1985. *Mar. Pollut. Bull.* **20**, pp. 500-502.

Phillips, D.J.H., 1980. *Quantitative Aquatic Biological Indicators*. Pollution Monitoring Series. Applied Science Publishers, London. 488pp.

Rodríguez de León A., Más J., Guerrero, J. & Jornet, A., 1984. Monitoring of Heavy metals in Superficial Sediment and some Marine Organisms from the Western Mediterranean Coast. *VI<sup>e</sup> Journées Etud. Pollutions*. pp. 321-326.

Voutsinou-Taliadouri F., 1982. Monitoring of Some Metals in Some Organisms from the Saronikos Gulf. *VI<sup>e</sup> Journées Etud. Pollutions*. pp. 329-333.

Vukadin, I., Stegmar, P., Tusek, M. & Zvonaric, T. 1984. Heavy Metal Analysis in Sediments and Marine Organisms of the Bay of Mali Ston and the Adjacent Sea. *VII<sup>e</sup> Journées Etud. Pollutions*. pp. 327-330.



## NIVELES DE CONTAMINACION POR METALES EN LA COSTA DEL ENTORNO DE LA CIUDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA.

*J. Emilio González (\*)*; *A. Macias Machin (\*)*; *A. Santana López (\*\*)*; *I. Angulo Suárez (\*\*)*; *V. Benitez (#)*.

(\*) E.T.S.I. Industriales de la U.L.P.G.C.

(\*\*) E.U.P de la U.L.P.G.C.

(#) Alumno de III Ciclo, del Dpto. Ingeniería Procesos.

### RESUMEN:

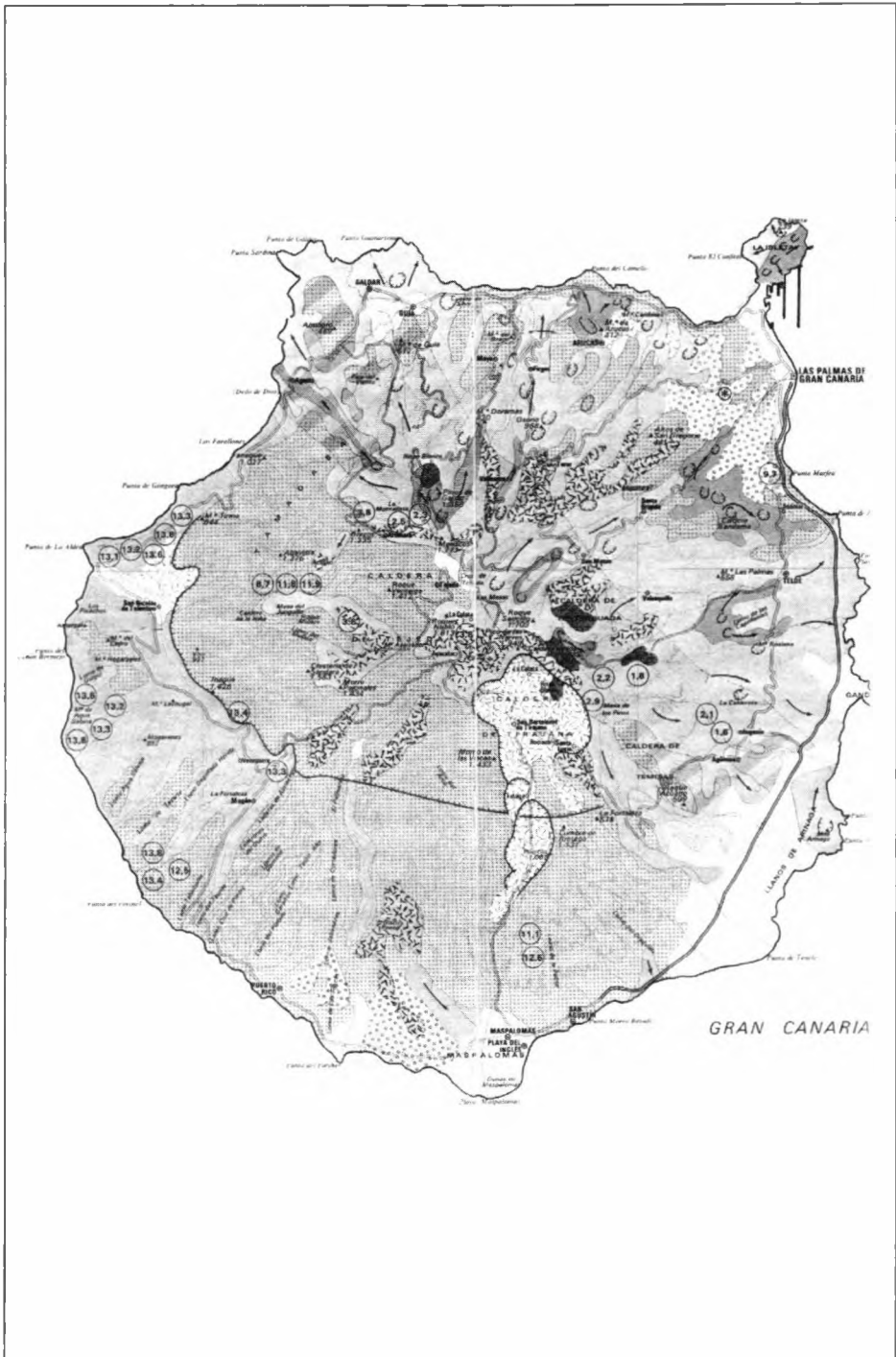
El objeto del trabajo es la determinación de los niveles de contaminación por metales, desde el Barranco de Guinguada hasta la Bahía de la punta de Marfea, en Las Palmas de Gran Canaria. Se determinaron las concentraciones de: As, Al, Cu, Cd, Cr, Fe, Pb y Si en cada uno de los puntos seleccionados y en el vertido, haciendo la distribución de contaminantes, en el entorno de la costa.

### 1.- INTRODUCCION.

Este estudio ha sido realizado por el Grupo de Trabajo "Control Analítico de Fuentes Medio Ambientales" del Departamento de Ingeniería de Procesos de la U.L.P.G.C.

Nuestra misión está basada en la determinación analítica de parámetros Físico Químicos de los efluentes contaminantes.

Vista la necesidad de conocer los contaminantes del entorno de la isla de Gran Canaria (fig 1) y habida cuenta de que el vertido más importante de aguas residuales urbanas e industriales está en la ciudad de Las Palmas de Gran Canaria, hemos acotado la zona más afectada. Dicho vertido está situado en el barranco de Guinguada y estudiamos sus efectos a lo largo de la costa hasta la punta denominada Marfea.



El espacio de muestreo es un tramo de unos 5 km de costa abierta, de fondos arenosos y pendientes suaves, con una media aproximada de 10 % hasta una profundidad de 100 m., a partir de estos nos encontramos con un talud de gran profundidad (> 200 m) que ya cae fuera del área de estudio.

En cuanto al clima marítimo, la zona objeto de trabajo se encuentra en la fachada Noreste de la isla sometida a la influencia de los vientos alisios de componente Noreste durante la mayor parte del año; en algunas ocasiones esta situación se ve perturbada por la incidencia de los vientos de origen sahariano de componente Sureste.

Hemos establecido un plan de actuación para determinar una serie de parámetros como son As, Al, Pb, Cd, Cr<sup>6+</sup>, Fe, Cu, Si a unas distancias de 100, 300 y 500 m. de costa y separados entre sí 2, 2 y 1 km respectivamente, habiéndose considerado estos puntos (fig.2) por afectar a playas de baño.

Actualmente se está realizando un estudio con la Facultad de Ciencias del Mar, para determinar la difusión y transporte de contaminantes.

## **2.- TOMA Y PRESERVACIÓN DE LA MUESTRA:**

El muestreo hídrico se realizó el 9 de Octubre de 1.993 en condiciones de pleamar y el 2º muestreo el 2 de Noviembre en condiciones de bajamar.

Las muestras fueron tomadas a una profundidad de 1 m.

En todo momento se tomaron las precauciones necesarias para que las muestras fueran representativas y que no experimentaran alteraciones en su composición durante la manipulación y transporte al laboratorio. Para la toma de muestra se utilizó botella de Polietileno añadiendo como preservante 2 ml/l. de HNO<sub>3</sub>.

## **3.- METODOS ANALITICOS. EQUIPOS.**

Los métodos analíticos utilizados (Métodos Estándar) en la realización del estudio fué la Espectrofotometría de Absorción Atómica , previa extracción con APDC/MIBC (Pirrolidin Tiocarbamato Amonico/ Metilisobutilcetona), para la determinación del cobre, hierro, cadmio, plomo y cromo.

Para el Arsénico se utilizó espectrofotometría de A.A con generador de hidruros.

El Aluminio fué determinado por espectrofotometría de A.A con cámara de grafito.

El Silicio fué analizado mediante espectrofotometría visible con molibdato amónico naftol sulfónico.

Los aparatos utilizados son:

- Espectrofotómetro de Absorción Atómica, marca GBC, modelo 904-AA, con corrector de fondo de deuterio y equipado con lámparas de cátodo hueco monoelementales, Generador de hidruros y cámara de grafito.

- Espectrofotómetro ultravioleta-visible de doble haz, marca GBC,



#### 4.-RESULTADOS:

En las tablas siguientes se exponen los resultados obtenidos en los puntos de muestreo, tanto en condiciones de pleamar como en bajamar, el punto 1 es el vertido:

TABLA I:

CONTENIDO DE METALES EN LOS PUNTOS DE MUESTREO DEL DIA 9-10-1.993 EN CONDICIONES DE PLEAMAR.

MUESTRA	ARSENICO (mgr/l)	ALUMINIO (mgr/l)	COBRE (mgr/l)	CADMIO (mgr/l)
1	0,0035	0,05	0,015	< 0,0005
2	0,0011	< 0,05	0,004	< 0,0005
3	0,0010	< 0,05	< 0,001	< 0,0005
4	0,0009	< 0,05	< 0,001	< 0,0005
5	0,0010	< 0,05	0,003	< 0,0005
6	0,0008	< 0,05	< 0,001	< 0,0005
7	0,0008	< 0,05	< 0,001	< 0,0005
8	0,0009	< 0,05	0,002	< 0,0005
9	0,0008	< 0,05	< 0,001	< 0,0005
10	0,0008	< 0,05	< 0,001	< 0,0005

TABLA I: (CONTINUACION)

MUESTRA	CROMO (mgr/l)	HIERRO (mgr/l)	PLOMO (mgr/l)	SILICIO (mgr/l)
1	< 0,001	0,065	0,010	16,8
2	< 0,001	0,023	< 0,005	3,0
3	< 0,001	0,020	< 0,005	1,8
4	< 0,001	0,018	< 0,005	0,6
5	< 0,001	0,025	< 0,005	2,0
6	< 0,001	0,020	< 0,005	1,0
7	< 0,001	0,016	< 0,005	0,9
8	< 0,001	0,015	< 0,005	2,0
9	< 0,001	0,013	< 0,005	0,6
10	< 0,001	0,010	< 0,005	0,5



TABLA II:

CONTENIDO DE METALES EN LOS PUNTOS DE MUESTREO  
EL DÍA 2-11-1.993 EN CONDICIONES DE BAJAMAR.

MUESTRA	ARSENICO (mgr/l)	ALUMINIO (mgr/l)	COBRE (mgr/l)	CADMIO (mgr/l)
1	0,0028	0,05	0,016	< 0,0005
2	0,0009	< 0,05	0,003	< 0,0005
3	0,0008	< 0,05	0,002	< 0,0005
4	0,0008	< 0,05	< 0,001	< 0,0005
5	0,0008	< 0,05	0,002	< 0,0005
6	0,0007	< 0,05	0,002	< 0,0005
7	0,0007	< 0,05	< 0,001	< 0,0005
8	0,0008	< 0,05	0,001	< 0,0005
9	0,0007	< 0,05	< 0,001	< 0,0005
10	0,0007	< 0,05	< 0,001	< 0,0005

TABLA II: (CONTINUACION)

MUESTRA	CROMO (mgr/l)	HIERRO (mgr/l)	PLOMO (mgr/l)	SILICIO (mgr/l)
1	< 0,001	0,085	0,010	15,5
2	< 0,001	0,015	< 0,005	2,8
3	< 0,001	0,012	< 0,005	1,5
4	< 0,001	0,008	< 0,005	0,8
5	< 0,001	0,017	< 0,005	1,5
6	< 0,001	0,013	< 0,005	1,4
7	< 0,001	0,011	< 0,005	1,0
8	< 0,001	0,012	< 0,005	1,3
9	< 0,001	0,010	< 0,005	0,7
10	< 0,001	0,008	< 0,005	0,4

## 5. CONCLUSIONES.

Los estudios realizados sobre la calidad del agua a lo largo de la costa noreste de la ciudad de Las Palmas de G.C. permiten concluir que se trata de un agua en que la concentración de los metales no afecta a la calidad del agua de baño de las playas.

Agradecemos la colaboración del grupo de trabajo del Prof. Dr. Don Ignacio Gracia Manarillo de la E.T.S.I.I. de Sevilla.

#### **6.- BIBLIOGRAFÍA:**

- (1) J. Rodier. Análisis de las aguas. Ed. Omega. Barcelona (1.981)
- (2) Standard Methods for the examination of waster and wastewater. AP-HA-AWWA-WPCF, 15 th. Ed. (1.980)
- (3) Annual Book of ASTM Standards Vol 11.01, 11.02 Ed. (1.992)



# APLICACION DEL METODO FLUORIMETRICO Al-SAPH A LA DETERMINACION DE SUBTRAZAS DE ALUMINIO EN AGUA DE MAR

*Mánuel-Vez, M.P.; García-Vargas, M.*

Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz, Cádiz, España.

## PALABRAS CLAVES

Espectrofluorimetría, aluminio, agua de mar, aroilhidrazona, picolinoilhidrazona del salicilaldehído.

## RESUMEN

La picolinoilhidrazona del salicilaldehído (SAPH) forma un complejo fluorescente con aluminio ( $\lambda_{ex} = 384$  nm,  $\lambda_{em} = 468$  nm) en medio ácido (estequiometría 1:3, Al:SAPH). Se han propuesto dos métodos directo y de adición estándar para la determinación de concentraciones tan bajas como 1-2 ppb de Al(III). Se han evaluado los efectos de 72 iones en el método y han sido usados diferentes agentes enmascarantes. En este trabajo el método ha sido aplicado satisfactoriamente para la determinación para la determinación de aluminio a nivel de ppb en agua de mar.

## SUMMARY

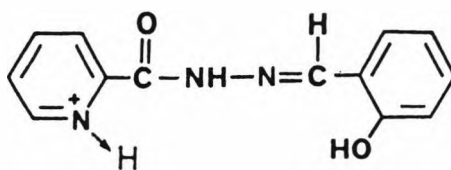
Salicylaldehyde picolinoylhydrazone (SAPH) form a fluorescent complex with aluminium ( $\lambda_{ex} = 384$  nm,  $\lambda_{em} = 468$  nm) in acidic medium (stoichiometry 1:3, Al:SAPH). Two procedures based on the direct or standard additions methods has been proposed for the determination of concentrations down to 1-2 ppb of Al(III). The effects of 72 ions in

the method has been evaluated and different masking agent reactions have been tested. The method has been applied satisfactorily for the determination of aluminium at a level of ppb in sea water.

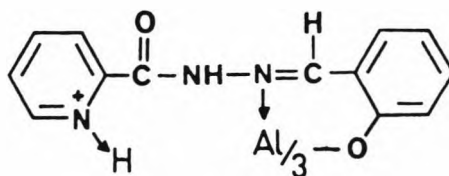
## INTRODUCCION

El aluminio es uno de los elementos más abundantes (estado de oxidación más estable 3+) (alrededor del 8% en las rocas ígneas). En el agua de mar se encuentra a nivel de trazas, siendo valores usuales los comprendidos entre 5 y 10 ppb (López Ruiz, J., 1992). La necesidad para los oceanógrafos de disponer de metodologías sensibles, de bajo coste y de fácil uso, nos ha llevado a la aplicación del método fluorimétrico Al-SAPH (Mánuel-Vez, M.P., 1994) para determinar trazas y subtrazas de aluminio en agua de mar. Se han descrito diversos métodos fluorimétricos para la determinación de aluminio, sensibles pero de escasa selectividad, en matrices distintas a la del agua de mar (White, C.E., 1967).

La picolinilhidrazona del salicilaldehído (SAPH) (I) posee la característica común de las aroilhidrazonas que forman quelato con aluminio de estequiometría 1:3 aluminio:reactivo, Al(SAPH)<sub>3</sub> (II).



(I) SAPH<sup>+</sup>



(II) Al(SAPH)<sub>3</sub><sup>3+</sup>

El reactivo SAPH ha sido sintetizado y usado por nosotros por primera vez para la determinación de aluminio, usando el método fluorimétrico (Mánuel-Vez, 1994). En este trabajo se describen las condiciones óptimas para la determinación de subtrazas de aluminio en muestras de agua de mar.

## EXPERIMENTAL

### Reactivos

La picolinoilhidrazona del salicilaldehído ha sido sintetizada por condensación de cantidades equimoleculares de salicilaldehído (SA) y picolinoilhidracida (PH), como otras aroilhidrazonas descritas (Gallego, M., 1983). El reactivo SAPH se ha caracterizado en base a estudios de solubilidad, espectros UV-VIS, de fluorescencia, infrarrojo, masas, constantes de ionización y características analíticas (Mánuel-Vez, 1991). Se han usado otros reactivos de grado analítico o suprapur, debido a la sensibilidad del reactivo a subtrazas de aluminio. En todos los casos se ha empleado material volumétrico de polietileno o PVC, para evitar la contaminación de las disoluciones por el aluminio del vidrio. La composición del agua de mar sintética usada en las experiencias, consta de diez sales, a saber: NaCl 23,926 g/l; NaSO<sub>4</sub> 4,008 g/l; KCl 0,677 g/l; NaHCO<sub>3</sub> 0,196 g/l; KBr 0,098 g/l; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 0,026 g/l; NaF 0,003 g/l; MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O 10,8254 g/l; CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 1,5184 g/l; SrCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O 0,02399 g/l.

### Aparatos

Se ha usado un espectrofluorímetro Perkin-Elmer LS-5 con célula de cuarzo de 1 cm y fuente de xenon. Los estudios de caracterización que en este artículo se indican, requirieron de instrumentación analítica citada en anterior publicación (Mánuel-Vez, 1994).

### Método espectrofluorimétrico para la determinación de aluminio

**Directo.**- En matraces volumétricos de 25 ml, conteniendo volúmenes apropiados de disolución de Al(III) (para concentraciones finales de aluminio(III) igual y menores a 50 ppb), se adiciona 5 ml de disolución reguladora (pH 5,5) y 10 ml de disolución etanólica de SAPH 0,0125 % p/v, enrasándose los matraces con agua desionizada-destilada. La fluorescencia relativa ( $\lambda_{ex} = 384$  nm,  $\lambda_{em} = 468$  nm) se mide pasados 25 minutos de su preparación, frente a una disolución preparada de manera similar a los patrones pero sin aluminio, usando las rendijas de excitación y emisión apropiadas.

**Adición estandar (SAM).**- A dos series (I y II) de cantidades crecientes de Al(III) [I: 0; 0,25; 0,5; 0,75 y 1,0  $\mu$ g, y II: 0; 0,05; 0,10; 0,15 y 0,20  $\mu$ g de Al(III)], se adicionan alícuotas de disolución estandar que contenga 0,10-0,25 ó 0,025-0,05  $\mu$ g de Al(III), respectivamente, y se sigue el procedimiento descrito anteriormente en el método directo.

### Determinación de aluminio en agua de mar

La preparación de la muestra para el método directo, se lleva a cabo en un matrás aforado de 25 ml, en el que se adiciona un volumen adecuado de agua de mar problema (máximo 19 ml), filtrada en disco de 0,45 m, 50 mg de Berilio (usado como agente enmascarante de fluoruro) y 6 ml de disolución etanólica de SAPH 0,04% p/v; si es necesario

enrasar el matr az se lleva a cabo con agua de mar sinton tica. De la misma manera se prepara la disolución blanco, pero sustituyendo el agua de mar problema por agua de mar sinton tica.

Para la realización de los calibrados (directo o SAM) se siguen los procedimientos descritos pero adicionando las concentraciones de Be y SAPH indicadas en este apartado y agua de mar sinton tica en vez de agua desionizada-destilada.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Características del complejo Al(III)-SAPH

En anteriores trabajos (Mánuel-Vez, M.P., 1991 y Mánuel-Vez, M.P., 1994) se detallan las conclusiones del estudio del complejo Al(III)-SAPH. Este complejo exhibe fluorescencia azul-verdosa a pH 5,0-5,9 ( $\lambda_{ex} = 384 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{em} = 468 \text{ nm}$ ). La fluorescencia relativa máxima se mantiene en el intervalo de temperatura 10-30  C. Variaciones de la fuerza iónica entre 0 y 0,5 (por adición de KCl, KNO<sub>3</sub> o NaClO<sub>4</sub>) y el orden de adición de reactivos, no afecta a la fluorescencia del complejo.

La estequiometría del complejo en medio acuo-etanol tico se ha evaluado mediante el método de las variaciones contínuas, correspondiendo a una relación Al:SAPH 1:3. Mediante titulación potenciométrica se ha comprobado que el ión aluminio reacciona con tres moléculas de SAPH, liberando tres iones hidrógenos por ión Al(III). La sucesiva producción de protones, en la reacción de aluminio con una, dos y tres moléculas de SAPH, ha sido chequeada por conductimetría.

La constante de estabilidad del complejo ( $K_f = 2,95 \pm 0,24 \times 10^{15}$ ) ha sido obtenida usando un método espectrofluorimétrico (Gallego, M., 1983). Se han determinado cinco constantes de ionización (valores de pK: 1,0; 2,4; 5,6 y >12), siguiendo un método usual (García-Villanova, R.J., 1980).

### Determinación espectrofluorimétrica de Al(III)

Los dos métodos propuestos (directo y SAM) se han estudiado y discutido en profundidad en un trabajo básico (Mánuel-Vez, 1991). Usando el método directo se han optimizado dos calibrados [ $\leq 50$  y  $\leq 10$  ppb de Al(III)] para dos medios (etanol, 3:2 v/v y dimetilformamida, 4:1 v/v (Tabla 1), concluyéndose que en medio acuo-etanol tico el método es más preciso que en el medio agua-dimetilformamida.

El método de adición estandar (SAM) es adecuado para incrementar la sensibilidad. Del estudio en dos medios se deduce que el método en medio acuo-etanol tico es más preciso que en agua-dimetilformamida; puede ser determinado, con relativa alta precisión y exactitud, concentraciones de aluminio(III) del orden de 2 ppb (Tabla 1).

Ha sido estudiado el efecto de 72 iones en el método propuesto (Tabla 2), considerando como límite de tolerancia, para una especie extra a, la concentración de la especie que produce un error relativo del 4 %, para una concentración de Al(III) de 50 ppb. Los

cationes han sido adicionados como cloruros o acetatos y los aniones como sales de sodio o potasio; la máxima concentración adicionada de ión extraño ha sido 50000 ppb. Como puede deducirse de la tabla 2, solo los aniones oxalato, dicromato, cromato, vanadato y tiosulfato causan acusada interferencia. De los cationes, solo cobre, hierro, níquel, cinc, cobalto y paladio interfieren a igual concentración del analito. En la tabla 2 se indican los agentes enmascarantes usados con el fin de incrementar notablemente los límites de tolerancia, fundamentalmente para cationes tales como Cu(II), Fe(II y III), Zn(II), Co(II), Cd(II) y Hg(II).

### Aplicación del método a muestras de agua de mar

El método descrito ha sido modificado para la determinación de Al(III) en agua de mar. Para ello se ha realizado un estudio sistemático que se resume en las siguientes fases: 1) Evaluación del efecto de la salinidad y sales disueltas en agua de mar. 2) Efecto del ión berilio como enmascarante de ión fluoruro. 3) Estudio de la optimización del medio y la concentración del reactivo. 4) Evaluación del grado de enmascaramiento del ión fluoruro, en las nuevas condiciones. 5) Calibrado del método en condiciones óptimas para muestras de agua de mar. En todos los casos se ha mantenido una concentración de aluminio de 5 ppb.

En la Figura 1 se representa el efecto de las sales marinas, cuyos porcentajes se han indicado en la composición del agua de mar sintética (apartado **Reactivos**), sobre el porcentaje de fluorescencia (% F) del sistema Al(III)-SAPH. Las principales conclusiones son: a) El agua de mar elimina drásticamente el % F (Fig.1, muestra R). b) Las sales que fundamentalmente afectan el % F son NaF >> KBr = H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (Fig.1, muestras A << B = C < D). c) En ausencia de NaF crece notablemente el % F al aumentar la salinidad de la muestra (Fig. 1, R' frente a B, C y D). d) La principal consecuencia de esta fase del estudio es que las muestras con agua de mar requieren ser tratadas para enmascarar el ión fluoruro, para la determinación del ión aluminio.

En la Figura 2 se representa la síntesis de los ensayos de enmascaramiento del ión fluoruro (concentración de 1,36 ppm, típica en agua de mar) con berilio. En las condiciones de la experiencia (40 % de EtOH v/v y 0,005 % de SAPH p/v) se deduce que las disoluciones sin fluoruro soportan hasta 1000 ppb de berilio (Fig. 2, muestras R=A) y que 1000 ppb de berilio enmascara la concentración de fluoruro que posee cada una de las muestras.

Como resultado de nuevos ensayos, no incluidos por su extensión y por no ser requeridos para la debida comprensión de las fases del estudio, se dedujo que era necesario la optimización del medio acuoetanólico así como la concentración del reactivo SAPH. En la Figura 3 se resumen los resultados de la optimización del medio y de la influencia del ión enmascarante en las nuevas condiciones de la matriz de las muestras; en todos los casos se mantiene la concentración del analito [Al(III)] en 5 ppb.

Las principales deducciones de los ensayos indicados anteriormente son los siguientes: a) La concentración de EtOH del 24 % es la máxima que impide precipitaciones indeseadas, si bien se sacrifica algo la fluorescencia del sistema con respecto al porcentaje del 40



%, inicialmente elegido. (Fig. 3, muestras R<R'). b) La mayor concentración del reactivo (del 0,005 % al 0,04 % p/v) soporta mayor concentración de enmascarante. c) Las disoluciones sin ión fluoruro soportan hasta 2000 ppb de berilio (Fig. 2, muestras A a D).

Finalmente, en la Figura 4 se representan los resultados de los ensayos tendentes a enmascarar concentraciones de ión fluoruro hasta 4000 ppb. De la misma se deduce que, en las nuevas condiciones de matriz, se enmascaran hasta 3000 ppb de fluoruro con 2000 ppb de enmascarante. Las disoluciones así constituidas no presentan turbidez y son estables varias horas a temperatura ambiente.

Si bien es intención de los autores estudiar nuevos enmascarantes, con el fin de encontrar alguno que mejore al berilio, y finalmente someter el método a test de comparación con ICP o absorción atómica con atomización térmica, en este trabajo se han conseguido dos notables calibrados externos que cumplen la ley de Beer entre 1-10 ppb y entre 5 y 25 ppb, usando pares de rendijas 5/5 y 5/10, respectivamente (Figura 5, a y b). Ello nos permite determinar en muestras de agua de mar concentraciones entre  $1,3 \pm 0,4$  y  $26,3 \pm 1,5$  ppb de Al(III); hay que destacar que la menor concentración se encuentra por debajo de la menor concentración de aluminio (5 ppb) considerada normal en agua de mar.

## BIBLIOGRAFIA

- (1) López Ruiz, J., (1992). Fundamentos de Química Oceanográfica. Seminarios y Cursos de Química Marina. U.N.E.D., Cádiz.
- (2) Manuel-Vez, M.P. and García-Vargas, M., (1994) Fluorimetric Determination Traces of Aluminium in Soil Extracts. *Talanta*, (Aceptado y prueba de imprenta 8 de Marzo de 1994).
- (3) White, C.E., Fluorescence, Theory, Instrumentation and Practice, (1967), G.G. Guilbault (ed.) Marcel Dekker, New York.
- (4) Gallego, M., Valcárcel, M. y García-Vargas, M., (1983) Spectrophotometric and spectrofluorimetric determination of aluminium with the salicyloylhydrazone of pyridine-2-aldehyde and pyridoxal. *Analyst*, **108**, 92-98.
- (5) Manuel-Vez, M.P., Determinaciones espectrofluorimétricas de Al (III) y Ti (IV) y espectrofotométricas simultáneas de Fe (II), Co (II) y Ni (II) con picolinolhidrazonas: Caracterización de suelos agrícolas de "La Almoraima". Cádiz., (1990), Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz, E.T.D., S.A.
- (6) García-Villanova, R.J. y García-Villanova, R., (1980), Diacetyl diisonicotine hydrazone (dDIH). Part. II. Acid-base constants and reactivity towards inorganic cations. *Acta Quím. Comp.*, **4**, 23-31.

TABLA 1

## METODOS PARA LA DETERMINACION FLUORIMETRICA DE Al(III)

Medio <sup>a</sup>	Regresión ( $a_1x + a_0$ )	Coefficiente correlación	RSD <sup>b</sup>	Al (añadi- do) ppb	Al (evalua- do) ppb
METODO DIRECTO					
EtOH	1.1439x-0.06	0.9962	2.98 <sup>c</sup>	≤ 50	-
DMF	1.3944x+0.15	0.9977	3.27 <sup>c</sup>	≤ 50	-
EtOH	5.7712x-0.15	0.9999	1.66 <sup>d</sup>	≤ 10	-
DMF	5.7700x+0.45	0.9992	3.53 <sup>d</sup>	≤ 10	-
METODO DE LA ADICION ESTANDAR					
EtOH	1.171x+10.58	0.9931	1.78 <sup>c</sup>	10	9.04
DMF	1.434x+12.02	0.9836	2.74 <sup>c</sup>	10	8.38
EtOH	5.770x+11.40	0.9999	0.11 <sup>c</sup>	2	1.98
DMF	6.895x+12.76	0.9985	1.26 <sup>c</sup>	2	1.85

<sup>a</sup> agua-EtOH, 3+2 v/v; agua-DMF, 4+1 v/v

<sup>b</sup> Desviación estandar relativa para 11 muestras con  $\alpha = 0.05$

<sup>c</sup> Concentración de las muestras = 20 ppb Al(III)

<sup>d</sup> Concentración de las muestras = 6 ppb Al(III)

<sup>e</sup> Ecuación empleada para la varianza:

$$S_e^2 = (-1/a_1)^2 \cdot S^2(a_0) + (a_0/a_1^2)^2 \cdot S^2(a_1) - 2(1/a_1)(a_0/a_1^2) \cdot S^2(a_0a_1)$$

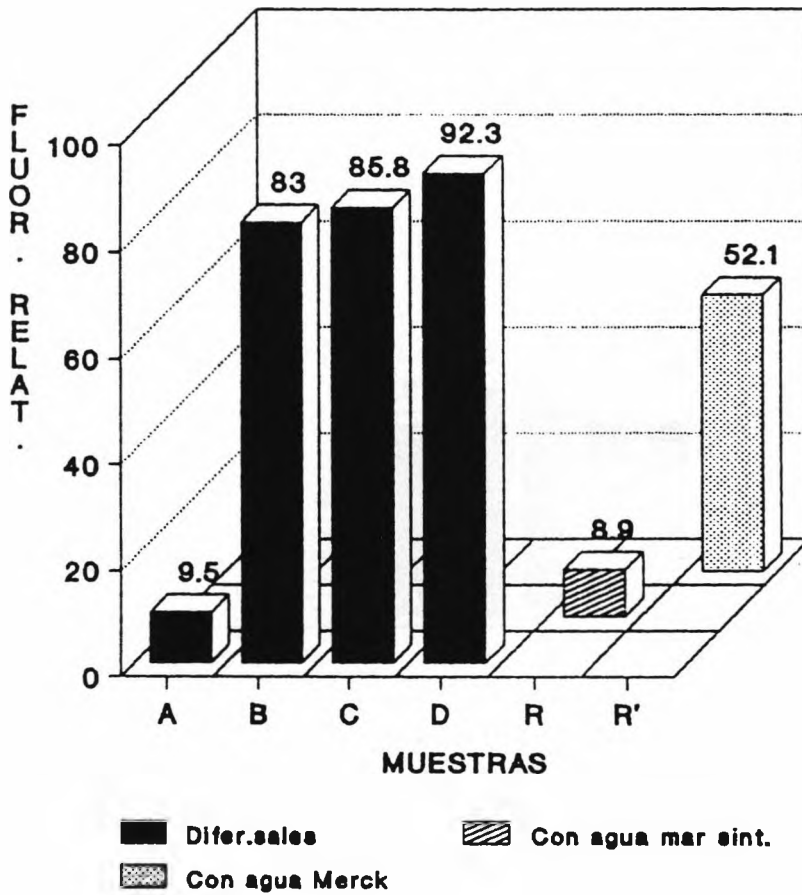
TABLA 2

LIMITES DE TOLERANCIA EN LA DETERMINACION DE 50 ppb DE Al(III)

Conc. tolerada ppb	Especies evaluadas <sup>a</sup>
50000	CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup> , AsO <sub>3</sub> <sup>3-</sup> , AsO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , ClO <sub>4</sub> , Cl <sup>-</sup> , Fe(CN) <sub>6</sub> <sup>3-</sup> , NO <sub>3</sub> , SeO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , SO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , IO <sub>3</sub> , IO <sub>4</sub> , I <sup>-</sup> , K(I), La(III), Li(I), Na(I), Rb(I), U(VI), TGA, TEA
25000	BrO <sub>3</sub> , Fe(CN) <sub>6</sub> <sup>4-</sup> , PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , WO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , Ce(IV), S <sup>2-</sup>
20000	CN <sup>-</sup> , BO <sub>3</sub> H <sub>2</sub> , Pb(II), Ca(II)
15000	Benzoato
10000	NO <sub>3</sub> , TGA, Hg(II) <sup>b</sup>
7500	SCN <sup>-</sup>
5000	S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> <sup>2-</sup> , CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , Tl(I), AA
2500	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , Be(II), Ba(II), Bi(III), Yb(III), F <sup>c</sup>
1000	MoO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , Ho(III), Ti(IV), TEA, Cu(II) <sup>d</sup> , Fe(II) <sup>e</sup> , III <sup>f</sup> , C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> <sup>2-</sup> g
750	Mn(II), Mg(II), Sn(II)
500	CrO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , Br <sup>-</sup> , F <sup>-</sup> , phen, Au(III) <sup>h</sup> , Cd(II) <sup>h</sup> , Co(II) <sup>h</sup> , Sb(III) <sup>h</sup> , Zn(II) <sup>d</sup> , Ti(IV) <sup>i</sup> , MnO <sub>4</sub> <sup>k</sup>
250	Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>2-</sup> , VO <sub>3</sub> , Sb(III)
150	C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , Fe(II), Er(III), Zr(IV)
100	Ag(I), Au(III)
75	Citrato, Cd(II), Hg(II)

a, TGA ≡ Acido tioglicólico; AA ≡ ácido ascórbico; TEA ≡ trietanol- amina; phen ≡ o-fenantrolina. Exponentes referidos a los límites de tolerancia con agentes enmascarantes: b, S<sup>2-</sup> (5 ppm); c, Be<sup>2+</sup> (2 ppm); d, TGA (10 ppb); e, Fe(CN)<sub>6</sub><sup>3-</sup> (5 ppm); f, Fe(CN)<sub>6</sub><sup>4-</sup> (20 ppm); g, MnO<sub>4</sub><sup>-</sup> + Q (antes de formar el complejo de Al(III)); h, CN<sup>-</sup> (5 ppm); i, AA (5 ppm); k, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + Q (antes de formar el complejo de Al(III)).

## EFECTO DE SALES MARINAS 40% EtOH; 0.005 % SAPH

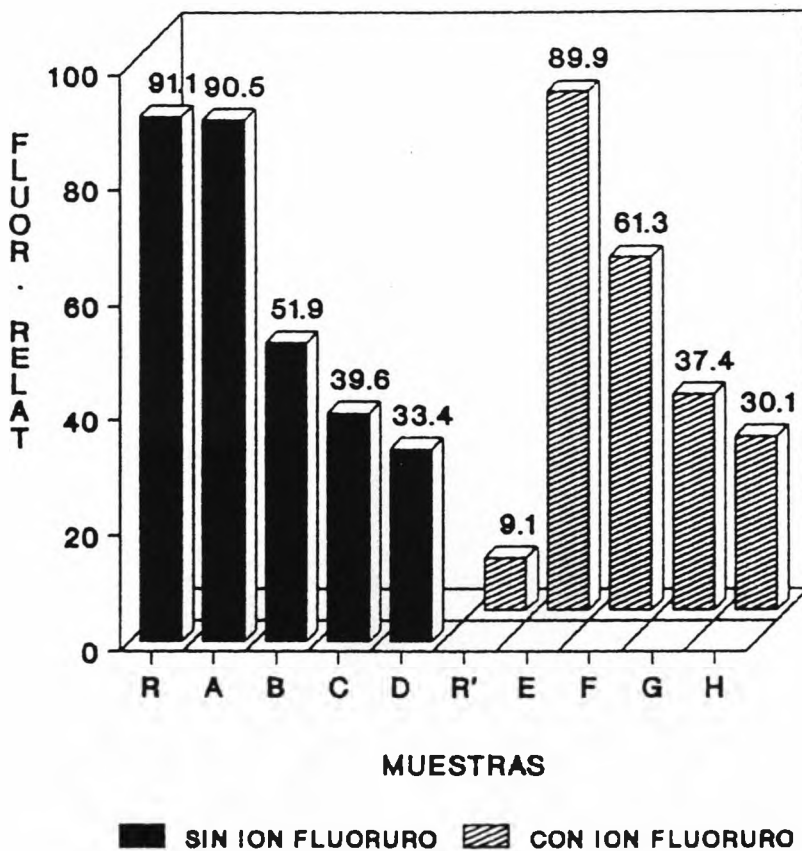


**AL-SAPH EN AGUA DE MAR**

Figura 1.- Efecto de las sales marinas sobre la fluorescencia del sistema Al-SAPH. Sales en muestras: R [agua de mar sintética (composición en apartado Reactivos)] R' (agua desionizada Merck), A (sin H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> y KBr), B (sin NaF y KBr), C (sin NaF y H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>), D (sin NaF, KBr y H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>).

## EFFECTO DEL ION BERILIO

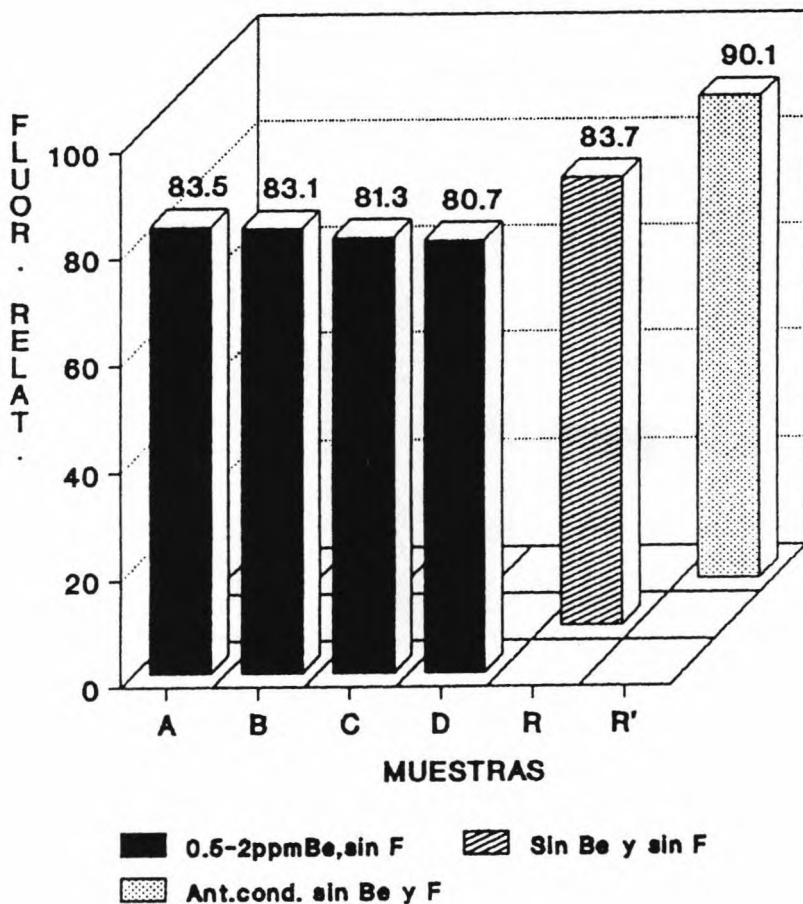
EtOH, 40%, v/v; SAPH, 0.005%, p/v



AL-SAPH, AGUA DE MAR SINTETICA

Figura 2.- Efecto del ión berilio en la fluorescencia del sistema Al-SAPH. Adición de 0, 1, 10, 25 y 50 ppm de Be a las muestras: R, A, B, C y D, sin fluoruro y R', E, F, G y H, con 1,36 ppm de fluoruro. Todas las muestras contienen las restantes sales citadas en la composición del agua de mar sintética.

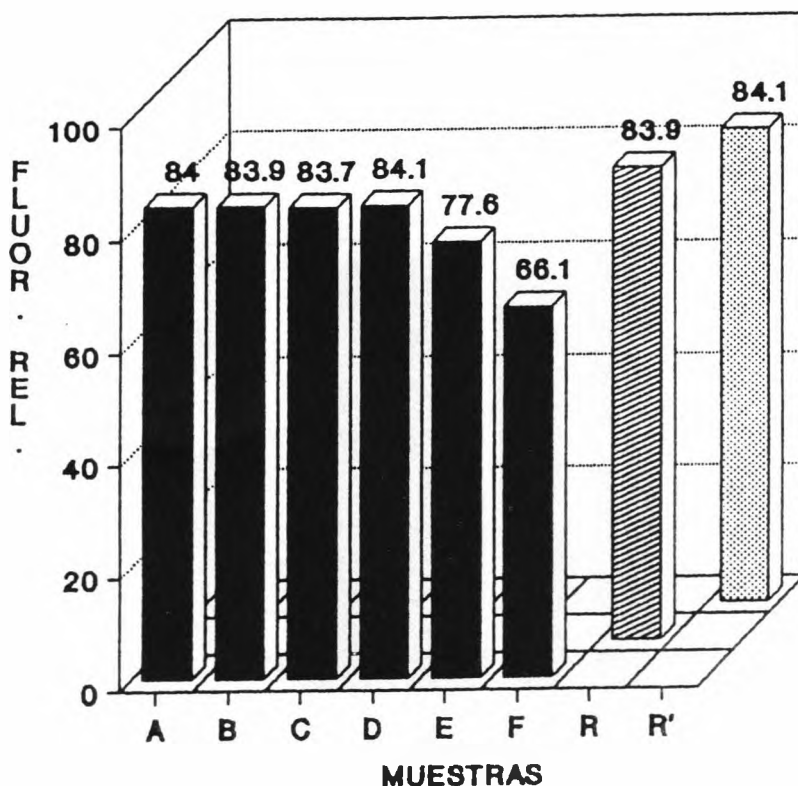
### INFLUENCIA DEL ION BERILIO COND. OPT.:24%EtOH; 0.04% SAPH



**Al-SAPH, AGUA DE MAR SINTETICA**

Figura 3.- Efecto del ión enmascarante sobre la fluorescencia del sistema Al-SAPH, en las nuevas condiciones (24% EtOH v/v y 0,04% de SAPH p/v). Muestras: A, B, C y D, sin fluoruro y con 0,5; 1; 1,5; y 2 ppm de berilio, respectivamente. Muestras R y R', sin berilio ni Fluoruro, en condiciones actuales y antiguas, respectivamente.

**ELIMINACION DEL ION FLUORURO ( ppm)**  
 EtOH, 24%, v/v; SAPH, 0.04%, p/v



**AI-SAPH, EN AGUA DE MAR SINTETICA**

Figura 4.- Eliminación del ión fluoruro. Concentración de enmascarante (Be), en todas las muestras, de 2000 ppb. Muestras: R, A, B, C, D, E y F con 0; 1; 2; 2,5; 3; 3,5 y 4 ppm de fluoruro. Muestra R'sin fluoruro ni berilio.

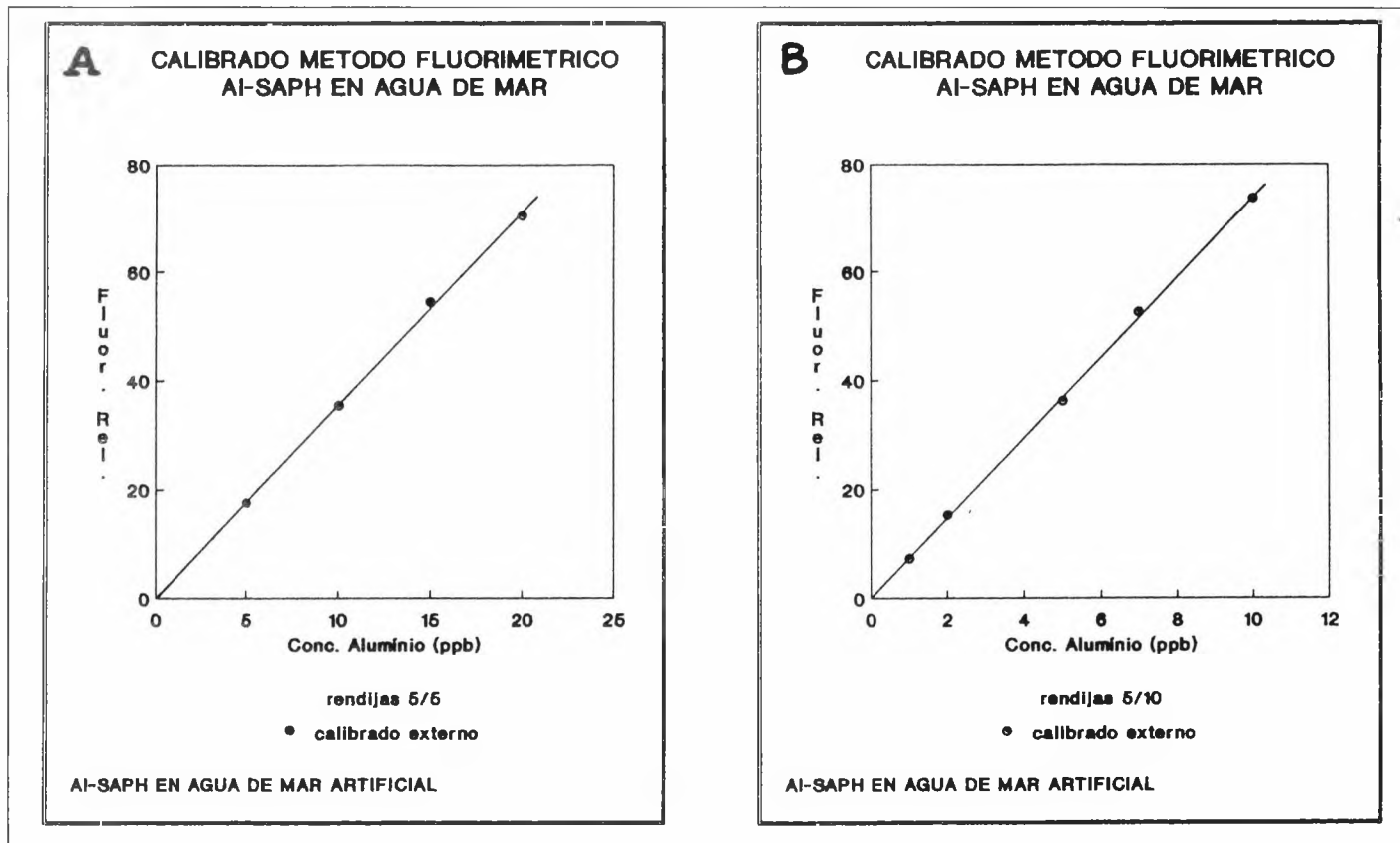


Figura 5.- Método directo de calibrado para la determinación de aluminio en agua de mar con SAPH. A: 5-20 ppb Al(III). B: 1-10 ppb Al(III).





## ÍNDICE



PROGRAMA .....	5
PRESENTACIÓN .....	9
<b>CONFERENCIA 1</b>	
Ricardo Prego. <i>La Biogeoquímica marina, una nueva visión de los océanos</i> .....	13
1.- Introducción .....	14
2.- Un poco de historia. El mar como tema científico .....	16
3.- La Biogeoquímica Marina, una ciencia joven .....	19
3.1. El ciclo fósforo .....	21
3.1.1. En los océanos .....	22
3.1.2. En las costas: el caso de una ría gallega .....	24
Agradecimientos .....	26
Bibliografía.....	26
<b>CONFERENCIA 2</b>	
J. M. Forja. <i>El triad, un método integrado para evaluar la calidad ambiental de sedimentos marinos</i> .....	31
– Criterio de calidad ambiental .....	31
– Los sedimentos como control de calidad.....	32
– Niveles de concentración de contaminantes .....	33
– Bioensayos de toxicidad .....	34
– Alteraciones de las comunidades bentónicas.....	34
– Métodos integrados para evaluar la calidad ambiental .....	35
– Consideraciones finales .....	45
– Bibliografía.....	45
<b>COMUNICACIONES</b>	
Luna Doña y Manuel Vez. <i>Evolución de los niveles de diversos parámetros físico-químicos en las aguas de la Bahía de Algeciras (1979-1993)</i> .....	51
Pérez García, Romero García, Sales Márquez, Nebot Sanz, Quiroga Alonso. <i>Contaminación del mar por efluentes urbanos tratados: efectos del alquil benceno sulfonato lineal (LAS) sobre la concentración de materia orgánica vertida</i> .....	61

González Mazo y Gómez Parra. <i>Concentraciones de alquilbenceno lineal sulfonato (LAS) en aguas y sedimentos en diversos ecosistemas litorales del Golfo de Cádiz</i> .....	71
Del Valls, Forja, Lubián y Gómez Parra. <i>Toxicidad de sedimentos marinos del Golfo de Cádiz sobre una población del rotífero "Brachionus plicatilis" cultivados en agua intersticial</i> .....	81
Pérez García, Romero García, Sales Márquez, Nebot Sanz y Quiroga Alonso. <i>Aporte de alquil benceno sulfonato lineal (LAS) al medio marino por vertidos de efluentes urbanos tratados en plantas depuradoras</i> .....	91
Manuel A. González del Valle, Olimpio Montero, Ignacio Moreno Garrido y Luis M. <sup>a</sup> Lubián. <i>Acumulación de pigmentos por bacterias marinas asociadas a cultivos de microalgas</i> .....	103
Vicente Clavero, Pablo García-Vallejo, Carlos Jiménez, José A. Fernández y F. Xavier Niell. <i>Eutrofización del sedimento del estuario del río Palmones debido a inundaciones</i> .....	115
M.D. Galindo Riaño, M.P. Martínez Martínez, L. Vidal Valderas y M. García Vargas. <i>Evaluación de la relación de nutrientes y biomasa microbológica en una corriente fluvial</i> .....	123
M.P. Martínez Martínez, M.D. Galindo Riaño, M. Milla González y M. García Vargas. <i>Estudio hidroquímico del río Guadalete. Evolución espacio-temporal de parámetros físico-químicos</i> .....	137
J. Blasco, M.C. Sarasquete, E. González Mazo y A. Gómez Parra. <i>Influencias del alquilbenceno sulfonato lineal sobre algunas actividades enzimáticas en la almeja</i> .....	149
M. Canle L., R. Carballo y N. González. <i>Condiciones fisicoquímicas durante un ciclo anual en la plataforma continental de A Coruña</i> .....	161
Esther de Blas y Ricardo Prego. <i>Ensayo de un método de incubación en laboratorio para la medida del intercambio de sales nutrientes entre el sedimento y la columna de agua en una ría gallega</i> .....	173
Vicente Clavero, J. Antonio Fernández y F. Xavier Niell. <i>Intercambio de fosfato y absorción por el sedimento del estuario del río Palmones</i> .....	181
J.A. Rubio, E. González Mazo y A. Gómez Parra. <i>Adsorción de lineal alquilbencenosulfonato sódico (LAS) en sedimentos marinos</i> .....	189
Vicente Clavero, J. Antonio Fernández y F. Xavier Niell. <i>Influencia de las bacterias en la disponibilidad de fosfato en el sedimento del estuario del río Palmones</i> .....	203
Ricardo Prego y M. <sup>a</sup> Jesús Belzunce. <i>Distribución de sales nutrientes en el borde de la banquisa Antártica del mar de Weddell: utilidad de los diagramas silicato-salinidad y silicato-nitrato</i> .....	211

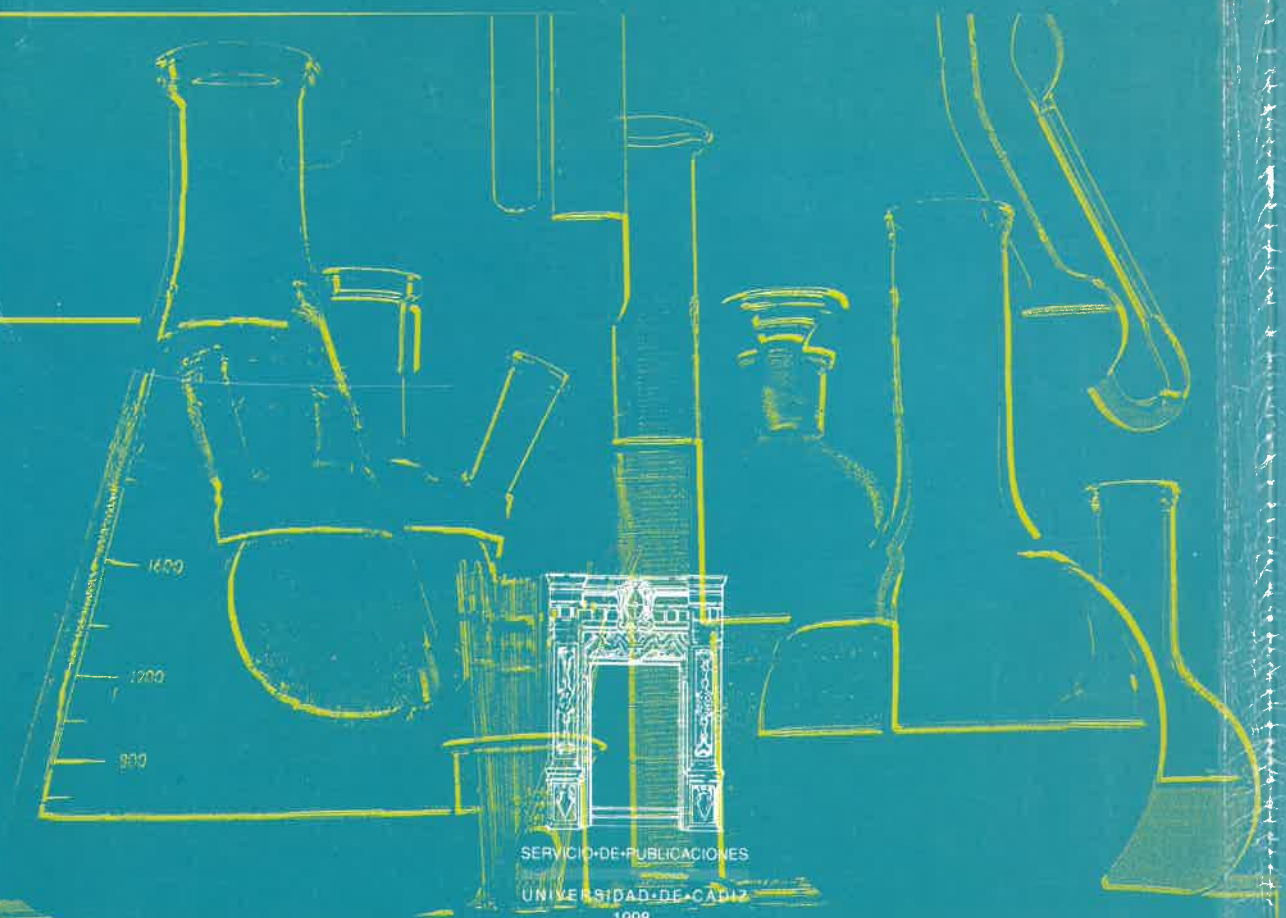
Fiz F. Pérez, Aida Ríos y Gabriel Rosón. <i>Captación de CO<sub>2</sub> y edad de las aguas de la termoclina principal del Atlántico Norte</i> .....	221
Gómez Parra, Forja J.M., Rubio J.A., Blasco J., DelValls T.A., González-Mazo E. Frutos M.D., Ortega T. y León V. <i>Simulación de procesos en estuarios: aplicaciones a la investigación y la docencia en oceanografía</i> .....	235
J.P. Cañavate y L. M. Lubián. <i>Termocinética del cambio de fase en la congelación de agua de mar con tres crioprotectores diferentes</i> .....	255
Eva Zubía, María J. Ortega y Javier Salvá. <i>Productos naturales marinos bioactivos de organismos procedentes del litoral andaluz</i> .....	267
C. Rodríguez, J. Guerrero, V. Besada y F. Schultze. <i>Control de calidad en los estudios de contaminantes en el programa de “Monitoring” del medio marino del Instituto Español de Oceanografía. Ejemplo de los análisis de red de seguimiento del mejillón</i> .....	271
Ignacio Moreno, Manuel G. del Valle y Luis M. <sup>a</sup> Lubián. <i>Acumulación de cobre en microalgas usadas en acuicultura</i> .....	279
R. García Méndez, H. Sastre Andrés y E. Marañón Maison. <i>Metales en suspensión en agua de mar de la Bahía Gijonesa y su relación con el vertido de las aguas residuales de la ciudad</i> .....	287
Carmen Rodríguez Puente, Juan Guerrero Pérez y Antonio Jornet Sancho. <i>Distribución de Hg, Pb, Zn y Cu en Salmonete de fango “Mullus Barbutus”</i> .....	299
J. Emilio González, A. Macías Machín, A. Santana López, I. Angulo Suárez y V. Benítez. <i>Niveles de contaminación por metales en la costa del entorno de la ciudad de Las Palmas de Gran Canaria</i> .....	307
Manuel Vez M.P. y García Vargas, M.. <i>Aplicación del método fluorimétrico AI-SAPH a la determinación de subtrazas de aluminio en agua de mar</i> .....	315











SERVICIO DE PUBLICACIONES

UNIVERSIDAD DE CÁDIZ

1998