

CONTAMINACIÓN POR METALES PESADOS DEL ESTUARIO DEL GUADALQUIVIR

Efectos del accidente minero de Aznalcóllar sobre el medio físico y los organismos marinos



Convenio octavo del Programa de Investigación del Corredor Verde del Guadiamar

**Servicio de Publicaciones
UNIVERSIDAD DE CÁDIZ**

CONTAMINACIÓN POR METALES PESADOS DEL ESTUARIO DEL GUADALQUIVIR

***Efectos del accidente minero de
Aznalcóllar sobre el medio físico y los
organismos marinos***

Editores Científicos:

**I. Sáenz
J.M. Forja
A. Gómez-Parra**



**Servicio de Publicaciones
UNIVERSIDAD DE CÁDIZ**

I.S.B.N: 84-7786-653-8

Depósito Legal: CA-837/2003

**Imprime : Servicio de Autoedición e Impresión
Copistería San Rafael – Cádiz**

ÍNDICE

<i>Prólogo</i>	5
<i>Transporte y reactividad de metales pesados en el estuario del Guadalquivir. Sáenz, I., Forja, J.M. y Gómez-Parra, A.</i>	11
<i>Evaluación de la especiación química de metales pesados en aguas del estuario del Guadalquivir y el brazo de La Torre afectadas por el desastre de Aznalcóllar. Granada Castro, M.D., Galindo Riaño, M.D. y García Vargas, M.</i>	53
<i>Acumulación y fraccionamiento geoquímico de metales pesados en sedimentos del estuario del Guadalquivir. Sáenz, I., Riba, I., Forja, J.M., DelValls, T.A. y Gómez-Parra, A.</i>	71
<i>Simulación a escala de laboratorio del vertido del agua tóxica procedente del accidente de Aznalcóllar en el estuario del Guadalquivir. García-Luque, E., Sáenz, I., Forja, J.M. y Gómez-Parra, A.</i>	105
<i>Dinámica del carbono inorgánico y sales nutrientes en el estuario del río Guadalquivir. Ponce R., Ortega, T., de la Paz, M., Gómez-Parra, A. y Forja, J.M.</i>	127
<i>Efecto del accidente minero sobre los organismos residentes en el estuario del Guadalquivir y en las zonas de la plataforma próxima a su desembocadura. Blasco, J., Sáenz, V., Arias, A.M., González-Pascual, R., Campana, O., Ransome, T., Moreno-Garrido, I. y Hampel, M.</i>	165
<i>Evaluación integrada de los efectos adversos producidos por la contaminación procedente del vertido de Aznalcóllar ligados al sedimento. Riba, I., Martín-Díaz, M.L., Forja, J.M. y DelValls, T.A.</i>	205

Evaluación integrada de los efectos adversos producidos por la contaminación procedente del vertido de Aznalcóllar ligados a la fase acuosa. Martín-Díaz, M.L., Riba, I., Sales, D. y DelValls, T.A. 231

Características hidrodinámicas y de transporte de sedimento en el estuario del Guadalquivir. Tejedor, L., Tejedor, B, Mañanes, R., Álvarez, O., Reyes, J., Fraguela, B., Aboitiz, A.y Vidal, J.M..... 259

PRÓLOGO

El río Guadalquivir y los afluentes que recibe en el tramo final de su cauce constituyen el sistema fluvial más importante del sur de la península Ibérica. Además de ser una importante vía de comunicación, asegura la disponibilidad de agua para un gran número de usos, entre los que destacan el cultivo de arroz, la acuicultura, la producción de sal para el consumo humano y el regadío de una amplia superficie que se extiende a ambos márgenes del estuario fluvial. A ello se ha sumado en los últimos años una fuerte demanda de la zona costera para usos turísticos.

Estas actividades se desarrollan en numerosos municipios de las tres provincias de Andalucía occidental y han generado un complejo entramado socioeconómico cuyo mantenimiento está supeditado al aporte de agua con unos altos niveles de calidad. Iguales requerimientos tienen las zonas que constituyen los Parques Nacional y Natural de Doñana, que configuran unos de los sistemas acuáticos más importantes de Europa. Este entorno, que reúne una notable variedad de ecosistemas, alberga una fauna y flora autóctonas de un gran interés, para la que en algunos casos es su último reducto europeo y –sobre todo– constituye un lugar de paso obligado para un importante grupo de aves migratorias que pueden superar en estas zonas, en determinadas épocas del año, más de 600.000 ejemplares. Esto ha hecho que a Doñana se le haya otorgado los máximos niveles de protección que pueda darse a un paraje natural; así, la UNESCO lo ha declarado “Reserva de la Biosfera” y “Patrimonio de la Humanidad”.

Todos estos usos del territorio hacen que el bajo Guadalquivir sea una zona extremadamente sensible desde el punto de vista ambiental y socioeconómico, que generalmente se ha mantenido en un equilibrio más o menos precario en un estuario que –como es habitual en estos sistemas costeros– está sometido a una contaminación crónica de origen muy diverso.

En este contexto debe situarse la valoración de los efectos que produjo en el estuario del accidente minero de Aznalcóllar que se produjo tras la rotura el 25 de abril de 1998 de la balsa de residuos mineros de la empresa Bolidem-Apirsa y que supuso uno de los episodios de contaminación aguda más importante de los que se tiene conocimiento en España. Este accidente provocó el vertido al medio de cinco millones de metros cúbicos de lodos procedentes de los residuos de la flotación de piritas y aguas ácidas de mina que contenían concentraciones muy elevadas de metales pesados (principalmente Fe, Zn, Pb, Cu, Sb, Tl, Cd, Hg) y otros elementos y compuestos de una elevada toxicidad.

El vertido se produjo en forma de una riada al río Agrio y a través de él pasó al Guadiamar que es, a su vez, tributario del río Guadalquivir a 24 km de su desembocadura. Esta riada anegó unas 4.280 Ha de terrenos agrícolas y de marisma próximos al Parque Nacional de Doñana y fue contenida construyendo de manera improvisada unos muros de contención en la zona del brazo de La Torre conocida como Entremuros, una canalización del tramo final del río Guadiamar, apenas a 16 km del Guadalquivir. A este último río accedió sólo una parte no cuantificada, aunque presumiblemente importante, de los contaminantes liberados al medio.

En los días siguientes al suceso las Administraciones competentes en temas ambientales de la Junta de Andalucía y del Gobierno Central iniciaron diversas actuaciones para conocer la dimensión del daño producido y establecer las posibles medidas remediadoras. En primera instancia, el Consejo Superior de Investigaciones Científicas recibió un mandato del Consejo de Ministros para evaluar la situación provocada en los distintos compartimentos ambientales y, posteriormente, la Junta de Andalucía a través de su Consejería de Medio Ambiente asumió el seguimiento temporal de los efectos del accidente y su remediación a través de un amplio programa en el que se proyectó la construcción de un “Corredor Verde” que habría de conectar Doñana con Sierra Morena.

En lo que respecta al estuario del Guadalquivir, la actuación de la Junta de Andalucía se concretó en la firma con la Universidad de Cádiz de un Convenio de Investigación titulado "Contaminación por metales pesados del estuario del Guadalquivir: Efectos del accidente minero de Aznalcóllar sobre el medio físico y los organismos marinos del estuario", que hacía el número octavo de los contemplados en el PICOVER. La coordinación del Proyecto fue encomendada al Grupo de Investigación "Oceanografía y Contaminación del Litoral", formado por profesores e investigadores de la Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales de la Universidad de Cádiz.

El estudio a realizar era complejo ya que, en general, el establecimiento del comportamiento, la reactividad, el destino y la toxicidad de los metales pesados en los estuarios vienen determinados por un elevado número procesos que en los sistemas estuáricos tienen una gran variabilidad espacial y temporal. Para el Guadalquivir, la información disponible al inicio del estudio sobre su funcionamiento era muy escasa, especialmente acerca de sus aspectos físicos y químicos. Existían solo algunas referencias sobre la variación de la amplitud de la onda de marea a lo largo del estuario y sobre la acumulación de determinados metales en el material en suspensión y en algunos organismos presentes en la zona. Las condiciones ambientales en este estuario son además cambiantes, ya que el estuario está sometido a dragados periódicos para permitir la navegación, lo que afecta tanto a su hidrodinámica como a las características fisicoquímicas del medio.

Por ese motivo se procuró la constitución de un grupo multidisciplinar al participar también en el proyecto otros Grupos de Investigación del PAI censados en la Universidad de Cádiz y en el Consejo Superior de Investigaciones Científicas, cuya relación se indica a continuación de este prólogo. De esta manera se pudo abordar el estudio de los distintos aspectos implicados en el comportamiento ambiental y en los efectos físicos y biológicos de los metales que accedieron al estuario.

En esta publicación se resume las aportaciones de diversos Grupos de Investigación participantes en la cuantificación de los efectos del desastre minero ocurrido en Aznalcóllar sobre el estuario del Guadalquivir. La presentación de los resultados obtenidos se hace de manera desagregada de forma que, a pesar de la limitación que supone un texto que tiene un carácter eminentemente divulgativo, se pueda obtener de su lectura una visión suficientemente detallada del trabajo realizado y del grado de consecución del objetivo que desprende del título del proyecto de investigación que se ha llevado cabo.

Idoia Sáenz Arteche

Jesús M. Forja Pajares

Abelardo Gómez Parra

GRUPOS DE INVESTIGACIÓN QUE HAN PARTICIPADO EN EL PROYECTO

- **“Oceanografía y Contaminación del Litoral” (nº RNM 144 del PAI)**
- **“Ecotoxicología y Ecofisiología de Sistemas Marinos” (nº RNM 144 del PAI)**
- **“Geoquímica Marina” (nº RNM 236 del PAI)**
- **“Oceanografía Física Dinámica” (nº RNM 205 del PAI)**
- **“Patología e Histofisiología de Especies Marinas” (nº RNM 216 del PAI)**
- **“Ecología de Esteros y Zonas Intermareales” (nºRNM 108 del PAI)**
- **“Geología Litoral y Marina” (nº RNM 161 del PAI)**
- **“Tecnología del Medio Ambiente” (nº TEP 181del PAI)**
- **“Teloydisren” (nº FQM 270 del PAI)**

Transporte y reactividad de metales pesados en el estuario del Guadalquivir

Sáenz, I., Forja, J.M. y Gómez-Parra, A.

Departamento de Química Física. Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales.
Campus Río San Pedro, s/n. 11510, Puerto Real, Cádiz (Spain)

1. INTRODUCCIÓN

Los estuarios son zonas de transición entre el mar y los continentes en los que el agua dulce, procedente del drenaje terrestre, se mezcla de manera apreciable con agua de mar, lo que provoca importantes gradientes en las propiedades fisico-químicas del medio acuático, principalmente de la fuerza iónica, la temperatura, la concentración de gases disueltos, el pH, el potencial redox y el contenido y propiedades del material particulado en suspensión. Estos cambios bruscos en la características fisico-químicas del medio inducen una elevada reactividad de las sustancias químicas que acceden a estas zonas que, en lo que se refiere a los metales pesados, incluye procesos de sorción, floculación, así como otros que implican una transferencia de estos elementos entre los distintos compartimentos ambientales (Martin y Whitfield, 1983). Esta reactividad se ve en muchos casos, afectada por la actividad de la biota, cuya biomasa y diversidad suelen ser elevadas en estos sistemas. De todas las áreas costeras, los estuarios constituyen las zonas más problemáticas en lo que se refiere a la contaminación, fundamentalmente cuando se localizan en regiones altamente pobladas e industrializadas (Bryan, 1984). Turekian (1977) ha sugerido que los estuarios funcionan realmente como trampas en las que los metales pesados, entre otras sustancias químicas, son acumulados en el sedimento, retirándose de esta manera del ciclo hidrológico.

El elevado número de procesos en los que participan los metales, hace que el estudio de su comportamiento en los estuarios resulte un problema difícil. Existe

la dificultad adicional de que el comportamiento de estos elementos se ve afectado por un gran número de factores, tales como las diferencias dentro de un estuario en los tiempos de residencia para el agua y las partículas, las variaciones espacio-temporales del pH, la fuerza iónica, la cantidad y composición del material particulado (Duinker y Nolting, 1978; Loring et al., 1983; Millward et al., 1990) y de los patrones de circulación estuárica (Latouche y Jouanneau, 1981; Holmes, 1986). Estos procesos actúan en uno u otro sentido en lo que se refiere al reparto metálico, por lo que el resultado final dependerá de la importancia relativa de cada uno.

El establecimiento del comportamiento de los metales pesados en los estuarios es una cuestión compleja, puesto que en éste influyen un gran número de factores que tienen una gran variabilidad espacial y temporal, cuyo efecto combinado impide que pueda utilizarse para un estuario concreto la información obtenida en otros, aunque guarden cierta similitud. En lo que respecta al estuario del Guadalquivir, la información bibliográfica sobre su funcionamiento es escasa y además, las condiciones ambientales del mismo son variables, puesto que está sometido a dragados periódicos, lo que afecta tanto a su hidrodinámica como a las características físico-químicas del medio.

En este capítulo se aborda el estudio del comportamiento de los metales pesados en el estuario del Guadalquivir, tanto en el agua, como en el material particulado, así como la evolución temporal que han sufrido las concentraciones desde mayo de 1998 hasta junio de 2002, pasando por un análisis de los efectos iniciales del accidente minero de Aznalcóllar. Por otra parte, se presenta un estudio donde se ha determinado el intercambio de metales pesados con las mareas entre el tramo final del Guadalquivir y la zona marina próxima a la desembocadura, y/o los sedimentos del estuario.

2. METODOLOGÍA

2.1. Estaciones de muestreo y muestreos realizados

Las muestras de agua proceden de una red de estaciones a lo largo del Guadalquivir y del Brazo de La Torre cuya localización se indica a continuación (Tabla 1). La elección de estas estaciones se realizó en mayo de 1998 procurando obtener con ellas una visión homogénea del tramo final del estuario y se hicieron coincidir con lugares singulares del territorio que fueran fácilmente localizables.

La temporalidad de los muestreos ha estado determinada por la evolución de determinadas variables ambientales (régimen de lluvias, caudal del Guadalquivir, temperatura, amplitud de las mareas, entre otras) que tenían una marcada influencia en los procesos a estudiar. No obstante, con carácter general, se ha realizado al menos un muestreo por estación climática, con objeto de aumentar una base de datos que permita -en su día- su análisis como una serie temporal. Es de señalar, también, que la elección exacta de las fechas de muestreo ha estado sesgada, en cierta medida, por la disponibilidad de embarcaciones adecuadas al tipo de estudio a realizar.

En la tabla 1 se indica la localización geográfica de las estaciones muestreadas sistemáticamente en el Guadalquivir y en el Brazo de La Torre y en la figura 1 se muestra de manera aproximada sobre un plano de la zona estudiada.

Tabla 1. Localización de las estaciones muestreadas en el Guadalquivir y en el Brazo de La Torre.

Estación	Coordenada X (huso 30)	Coordenada Y (huso 30)
BT6	208536	4102102
BT5	208155	4100711
BT4	207679	4099112
BT3	207118	4096176
BT2	207543	4095295
BT1	209072	4092973
GL8	216851	4094656
GL7	212487	4088709
GL6	208355	4090264
GL5	203862	4089441
GL4	201980	4088220
GL3	201064	4084257
GL2	202090	4078562
GL1	194575	4074942

Los muestreos para el seguimiento de las concentraciones en el estuario se realizaron utilizando pequeñas embarcaciones de la UCA y de la Consejería de Medio Ambiente (AMA V y AMA VI).

Las campañas que requerían el fondeo de correntímetros para el establecimiento de las variaciones de los flujos de metales con las mareas, se hicieron a bordo del B/O Mytilus (CSIC, Vigo).

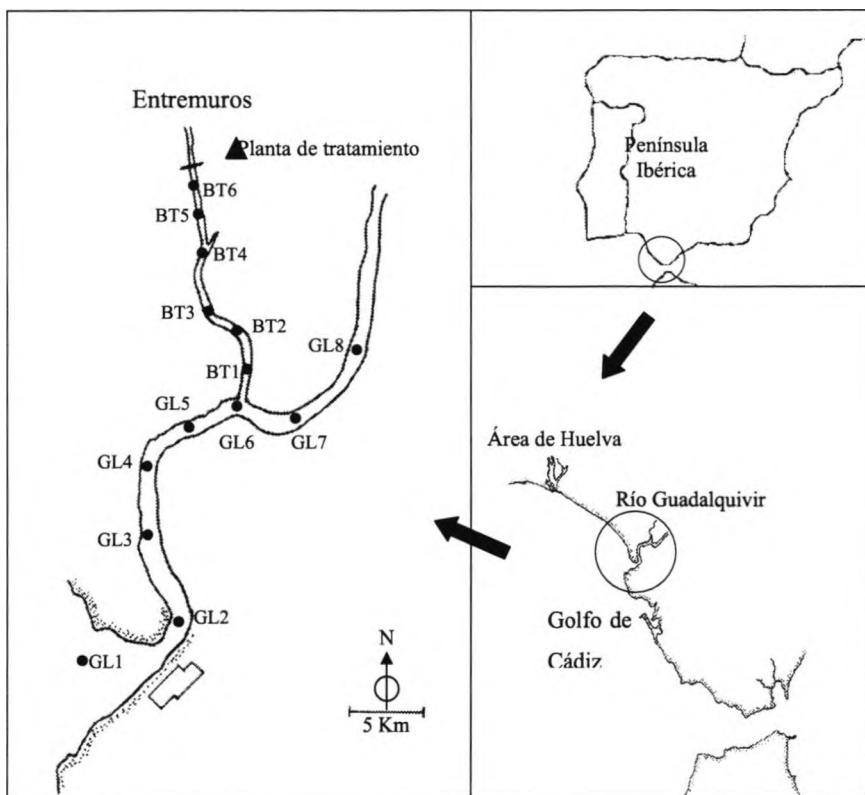


Figura 1. Localización de las estaciones de muestreo.

2.2. Toma de muestras y pretratamiento

Las muestras de agua del estuario se tomaron con botellas Ruttner (Hidrobios, Kiel) recubiertas de teflón. Su contenido se transfirió inmediatamente a frascos de polietileno de 5 L de capacidad que se mantuvieron refrigerados hasta su traslado al laboratorio. Dado que el muestreo es una de las etapas cruciales a la hora de obtener resultados fiables, se tomó la máxima precaución para evitar la contaminación. Todo el material en contacto con las muestras durante el muestreo, así como durante su procesamiento, siguió el protocolo de limpieza y almacenamiento propuesto por Baeyens et al. (1998a).

De forma previa a la determinación de la concentración de metales, las muestras se filtraron a través de filtros de membrana de 0.40 μm (Millipore HHTP047). El filtrado se utilizó para los análisis de metales pesados disueltos, tras la digestión con radiación UV, como se describe posteriormente. La determinación de metales pesados asociados a material particulado se realizó después de liofilizar los filtros durante 4 horas en un liofilizador Heto CT 60e y someterlos a un proceso de digestión total con una mezcla de ácidos, según la metodología de Loring y Rantala (1992). Este procedimiento de disolución del material particulado se describe también a continuación.

La digestión de las muestras de agua para la destrucción de la materia orgánica se llevó a cabo durante 4 horas con un equipo 705 UV DIGESTER (Metrohm) provisto de una lámpara de 500 W de potencia. Para ello, se introdujeron en tubos de cuarzo 10 mL de muestra de agua filtrada, a los que se les añadieron 200 μL de H_2O_2 al 30%. Durante la digestión, la temperatura de las muestras se mantuvo entre 80 y 85 $^\circ\text{C}$.

Tras su liofilización, el material particulado retenido en el filtro fue disuelto en su totalidad, siguiendo el procedimiento descrito por Loring y Rantala (1992). La cantidad de material particulado sometida a este proceso estuvo comprendida entre 10 y 100 mg. En esencia, el proceso de disolución utilizado consiste en el tratamiento con una mezcla de agua regia y HF, que permite la disolución

completa de las muestras, incluyendo la materia orgánica, los aluminosilicatos y la sílice (Agemian y Chau, 1975; Thomson et al., 1980). Para ello, los filtros se introdujeron en bombas de PTFE de 45 mL de capacidad y se añadieron 2 mL de agua regia ($\text{HNO}_3 : \text{HCl}$, 1:3 v/v) y 2 mL de HF. Las bombas utilizadas para la digestión fueron de la marca PARR. Para la digestión, las bombas se introdujeron en un horno microondas (Panasonic, mod. NN6200) durante 70 s a 770 W de potencia. Dicha potencia se comprobó periódicamente.

Finalizada la digestión, los reactores se enfriaron en un baño con hielo y a continuación, cada una de las muestras digeridas se transfirió a un matraz de polipropileno de 50 mL. Posteriormente se enjuagó sucesivas veces la bomba con H_3BO_3 ($37 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) vertiendo los líquidos de lavado al matraz. Finalmente se enrasó con la misma disolución de ácido bórico. Las muestras obtenidas se conservaron en frío y en oscuridad hasta su posterior análisis.

2.3. Análisis de metales

La determinación de Zn, Cd, Pb y Cu, tanto en el agua, como en el material particulado se llevó a cabo por voltamperometría de redisolución anódica con un equipo Metrohm VA 646 con Stand VA 647. El electrodo de trabajo (Metrohm, 6.1246.020) sobre el que se amalgama el metal procedente de la muestra a analizar durante el proceso de preconcentración, se utilizó en el modo HMDE (electrodo de gota de mercurio colgante). Como electrodo de referencia se empleó un electrodo de Ag/AgCl , KCl (3M) (Metrohm, 6.0726.100) y como electrodo auxiliar, uno de platino (Metrohm, 6.0343.000).

Para todos los análisis, que se realizaron por duplicado, se tomaron 10 mL de muestra, realizándose diluciones en el caso de las disoluciones ácidas del material particulado. Antes del análisis se tamponó la muestra mediante la adición de 2 mL de tampón HAc/NaAc (1.73 M).

Las condiciones analíticas empleadas fueron las siguientes:

- El tiempo de purga y de agitación inicial fue de 500 s y entre adiciones de 20s.

- El tiempo de preconcentración, que se realizó a un potencial de -1.1 V, fue de 300 s.

- El tiempo de reposo empleado fue de 10 s.

- La modulación de la onda durante el barrido de potencial se realizó en modo de pulso diferencial (DP), con una amplitud del impulso de 30 mV (E_{ampl}) y una periodicidad de 0.30 s. Dicho barrido se efectuó a una velocidad de 13.33 mV·s⁻¹ y con un incremento de potencial entre impulsos de 4 mV en sentido anódico. El intervalo de potenciales de barrido estuvo comprendido entre -1075 y 50 mV.

- El tiempo de medida utilizado fue de 30 ms, mientras que el tiempo de impulso se estableció en 40 ms.

Para la cuantificación se utilizó el método de las adiciones estándar. Así, se realizaron adiciones a las muestras de 30 μ L de una disolución patrón que contenía 5 ppm de Zn, 0.2 ppm de Cd, 1 ppm de Pb y 2 ppm de Cu, mediante una bureta automática (Dosimat 685, Metrohm). Las señales correspondientes tanto a las muestras, como después de cada adición, se obtuvieron por duplicado utilizando barridos independientes.

En la figura 2 se muestra el resultado de los barridos de potencial correspondientes a una de las muestras. Las concentraciones de metales se calcularon a partir de las áreas de pico tras las adiciones de la solución patrón, mediante una regresión lineal (Fig. 3).

Todos los reactivos utilizados en el análisis de metales fueron de la casa Merck calidad Suprapur. El agua utilizada fue de calidad MilliQ (Millipore).

La exactitud y precisión del método analítico, han sido contrastados mediante la utilización de material de referencia certificado de agua estuárica (SLEW-3, National Research Council Canada) sobre el que se obtuvieron desviaciones inferiores al 5%. Para determinar la validez del tratamiento de digestión del material en suspensión, se utilizaron materiales de referencia de sedimento

estuariño (MESS-1, National Research Council Canada, y CRM-277, Community Bureau of reference), sobre los que se obtuvieron porcentajes de recuperaci3n comprendidos entre el 90 y el 100%.

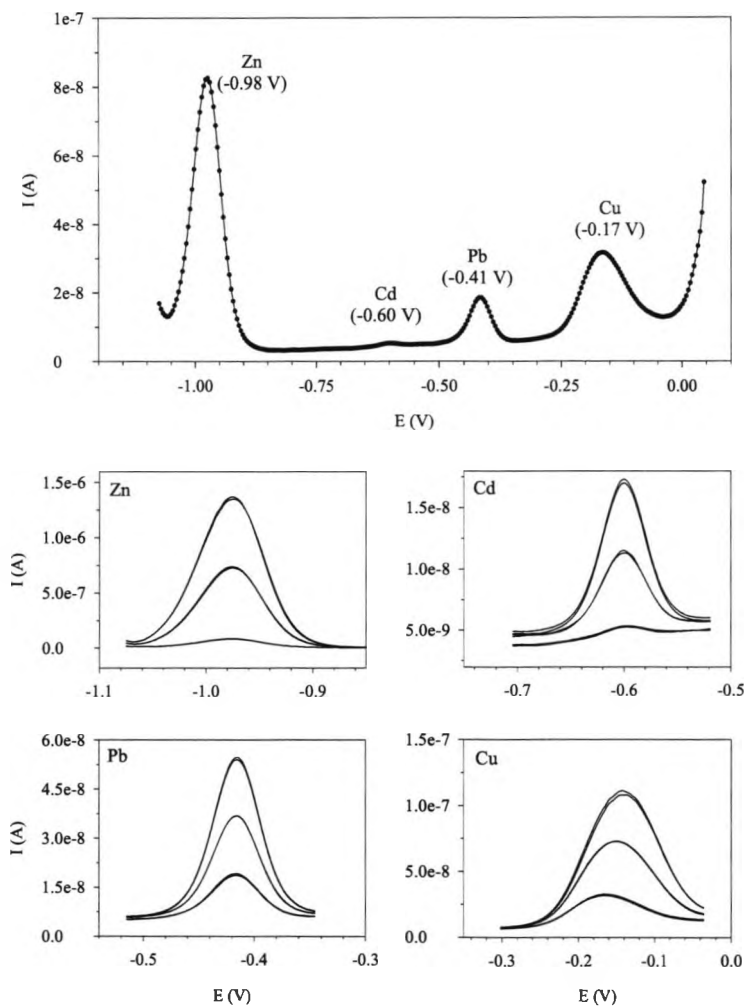


Figura 2. Ejemplo de voltamperograma obtenido siguiendo el procedimiento descrito, donde se incluyen los potenciales de redisioluci3n t3picos de cada uno de los metales. En la parte inferior se muestra un detalle de las zonas de barrido donde se determinan el Zn, Cd, Pb y Cu y las se1ales obtenidas despu3s de cada adici3n.

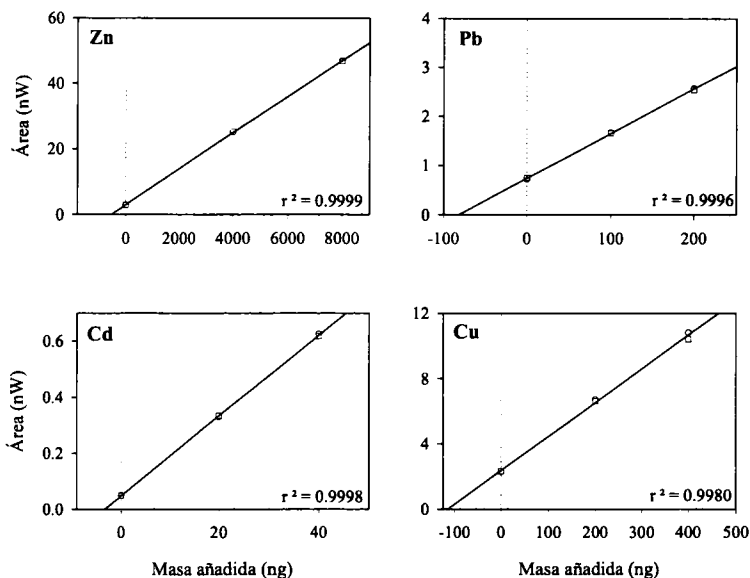


Figura 3. Ejemplo típico de las regresiones lineales empleadas para el cálculo de las concentraciones de Zn, Cd, Pb y Cu mediante la técnica de las adiciones estándar.

2.4. Otros métodos de análisis

La salinidad se midió con un salinómetro de inducción BECKMAN, modelo RS-10, con control automático de temperatura. Una vez calibrado con agua de mar estándar (IAPSO, bath P93), se obtiene la conductividad relativa de las muestras que, permite calcular la salinidad. La precisión del equipo para la medida de la salinidad es de ± 0.001 .

Para el cálculo de los sólidos en suspensión se empleó la metodología propuesta por APHA (1992). El principio utilizado para el cálculo de este parámetro se basa en filtrar a vacío una muestra de agua bien mezclada a través de un filtro de fibra de vidrio previamente pesado. El material retenido en el filtro se seca a $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta peso constante y posteriormente se pesa. El incremento de peso experimentado por el filtro representa los sólidos en suspensión presentes en la

muestra. En este caso se pasaron aproximadamente 250 mL de muestra a través de filtros de microfibras de vidrio (Millipore AP40-047-05).

Para la determinación del transporte de metales con las mareas, se midió la velocidad de corriente con un correntímetro (Oceanoscope Ltd. Modelo DNC-3^a), previamente calibrado.

3. RESULTADOS

3.1. Impacto inicial en las aguas del estuario y las zonas húmedas circundantes

El impacto inicial del accidente de Aznalcóllar producido en las aguas del estuario puede valorarse en la tabla 2, en la que se comparan los intervalos de concentración de Zn, Cd, Pb y Cu en tres de las estaciones muestreadas durante los cinco meses posteriores al accidente (mayo-septiembre de 1998) con los valores encontrados en otros sistemas estuáricos.

Tabla 2. Intervalos de concentración de Zn, Cd, Pb y Cu ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) en algunas de las estaciones muestreadas. Se incluyen los valores encontrados en la bibliografía para otros sistemas estuáricos en los que se midieron simultáneamente los mismos metales y datos del Guadalquivir anteriores al accidente de Aznalcóllar.

Estuario	Zn	Cd	Pb	Cu	Referencia
Severn	11-22	0.31-1.48	1.5-4.1	2.2-4.2	Owens (1984)
Derwent	80	0.8	11	2.6	Noller et al. (1993)
Humber	26-65	n.d.	2-25	2-20	Tipping et al. (1998)
Seine	0.7-11.4	0.01-0.09	0.04-0.62	0.32-3.2	Chiffolleau et al. (1999)
Meuse	1-21.6	0-0.14	0.1-6.5	2.6-6.9	Van den Berg et al. (2001)
Guadalquivir	10-35	--	2-13	3-40	Cordón et al. (1986)
Guadalquivir	7-55	<0.50	5-22	1.0-6.0	AMA (1997)
Estación GL1	16-75	0.06-0.73	2.8-23.2	1.5-7.6	Este trabajo
Estación GL6	64-253	0.19-0.67	4.7-24.9	3.8-19.5	Este trabajo
Estación BT1	49-213	0.18-6.5	4.1-59.4	3.7-10.7	Este trabajo

Se puede apreciar una gran diferencia entre los valores máximos observados para el Zn y el Cd en este estuario en comparación con otros sistemas costeros considerados como altamente contaminados. Los valores de concentración que se encontraron fueron, por otra parte, muy superiores a los que presentaba el estuario del Guadalquivir antes del accidente. Esta diferencia es especialmente acusada para el Cd, que en la estación BT1, llegó a alcanzar valores de concentración de hasta $6.5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ en julio de 1998. Por el contrario, los valores observados para el Cu y el Pb fueron del mismo orden de magnitud que los registrados en otras zonas estuáricas y similares a los existentes antes de abril de 1988. Se observaron también altas concentraciones de determinados metales en algunos sistemas acuáticos asociados al estuario (Fig. 4). Las concentraciones más elevadas de Zn y Cd se obtuvieron en las muestras procedentes de la margen derecha del río, siendo especialmente destacables las observadas en las estaciones B ($1196 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para el Zn y $0.8 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para el Cd) y E ($690 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para el Zn y $4.5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para el Cd). La estación E estaba localizada en uno de los canales de servicio de los arrozales de la zona, muy próxima a la planta de tratamiento que se construyó en Entremuros. La estación B se localizó en el caño de Brenes, en el interior del Parque Nacional de Doñana, y los niveles encontrados denotan que parte del agua tóxica vertida penetró a través de las compuertas que lo comunicaban con el río Guadalquivir, aunque estas concentraciones tan altas están en parte motivadas por la evaporación que sufrió la zona antes de su muestreo.

3.2. Comportamiento de metales en el estuario del Guadalquivir

Durante el proceso de mezcla estuárica, los metales disueltos presentan un comportamiento conservativo, cuando su concentración en disolución en un lugar dado del estuario depende exclusivamente del grado de la mezcla entre las distintas masas de agua que los contienen (Morris, 1984). Por el contrario, experimentan un comportamiento no conservativo, cuando su concentración en la fase disuelta depende, además, de otros procesos que determinan su transferencia desde la fase disuelta a la particulada o viceversa. Hay que tener en cuenta que, el

que un metal presente un comportamiento conservativo en el estuario, no implica necesariamente que no tenga reactividad. De hecho, un metal puede estar involucrado en reacciones, como la formación de complejos o asociaciones iónicas u otras en las que varíe su estado de oxidación, que no determinan la disminución de su concentración por incorporación al material particulado.

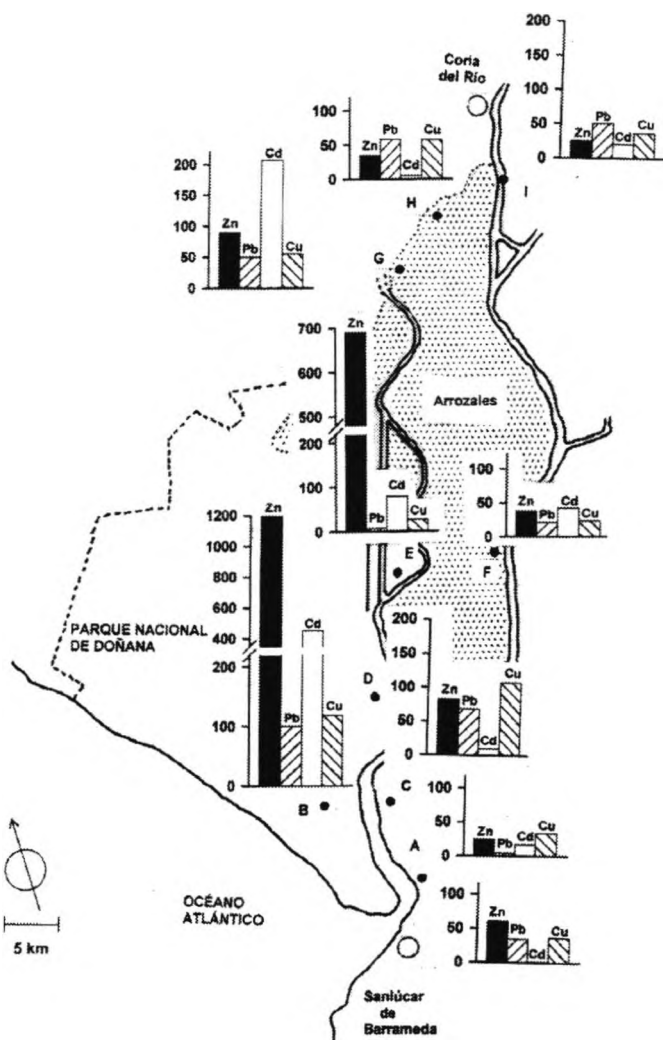


Figura 4. Mapa de las zonas húmedas asociadas al estuario del Guadalquivir, donde se muestran las concentraciones de Zn, Cd, Pb y Cu. Las concentraciones están expresadas como: Zn, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, Pb y Cu $\times 10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y Cd $\times 100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

La determinación del tipo de comportamiento conservativo o no conservativo de un metal dado, puede efectuarse de manera sencilla representando su concentración frente a un índice conservativo de mezcla (Fig. 5), como la salinidad, la clorinidad y la clorinidad, entre otros. Este procedimiento, denominado Método Reactante, permite afirmar que para un metal disuelto sujeto solamente a procesos de mezcla física, la representación resultante será una línea recta, cuya pendiente será positiva para un metal que sea más abundante en el agua de mar y negativa cuando el agua de río se encuentre enriquecida en el metal considerado con respecto al agua de mar. En un comportamiento de tipo conservativo, los datos experimentales se situarán cercanos a la recta de dilución teórica, que une los puntos correspondientes al agua de río y al agua de mar. Las desviaciones por encima o por debajo de esta línea, denotan la ganancia o la pérdida de ese metal en la fase disuelta.

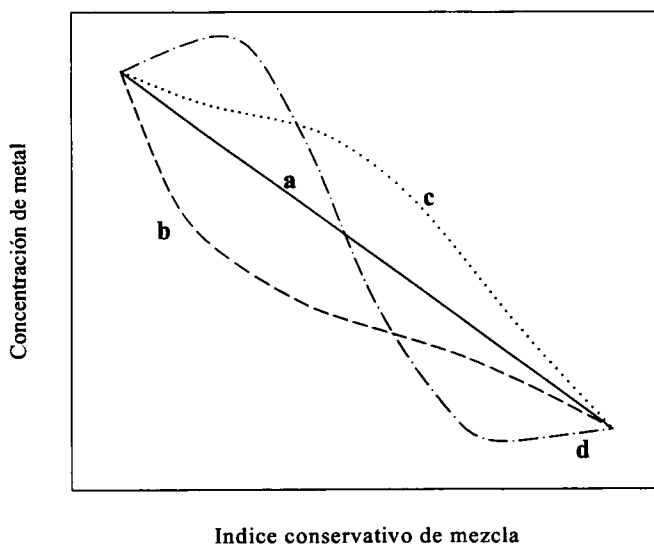


Figura 5. Representación idealizada de la relación entre la concentración de un metal disuelto y un índice conservativo de mezcla, para un estuario en el que existen fuentes simples de agua de mar y agua de río, para un metal cuya concentración es mayor en agua de río que en agua de mar: (a) comportamiento conservativo; (b) comportamiento no conservativo con pérdidas; (c) comportamiento no conservativo con ganancias; (d) comportamiento no conservativo con pérdidas y ganancias a lo largo del estuario en diferentes intervalos de salinidad.

En relación a los metales estudiados en este trabajo, existen antecedentes, como el de Paulson et al. (1989) que encontraron que el Cu y el Zn presentan un comportamiento conservativo en un estuario de Elliot Bay (Washington). Duinker y Nolting (1978) observaron pérdidas en la parte media del estuario del Rhin para el Zn, Cd y Cu disueltos, mientras que Chiffolleau et al. (1994) encontraron ganancias en la fase disuelta para estos mismos metales en el estuario del Sena. Como un ejemplo de un comportamiento que denota pérdidas y ganancias en un mismo estuario, aunque en regiones de distinta salinidad, (tipo (d) de la figura 5), puede mencionarse el observado por Harper (1991) para el Pb en el estuario Severn (costa oeste de Inglaterra).

A pesar de su simplicidad, existen circunstancias en las que la aplicación del Método Reactante está limitada. La desviación de los datos experimentales de la curva de dilución teórica, puede tener una causa diferente a la existencia de una reacción química de la sustancia (Liss, 1976). Entre ellas pueden citarse la elección de los límites de la línea de dilución teórica, la entrada de agua dulce procedente de otros ríos tributarios con concentraciones diferentes de ese compuesto, y la actividad biológica, que puede afectar a las concentraciones de determinados compuestos químicos. Morris (1984) señaló además otros dos inconvenientes: el primero de ellos, es que el modelo asume un estado estacionario, lo que en ocasiones no ocurre, pues la composición química de los ríos tributarios no permanece constante a lo largo del tiempo y el período de variación de la misma no siempre es superior al tiempo de flujo del estuario. El segundo está relacionado con la dificultad de determinar de manera precisa los niveles de concentración de los analitos, máxime cuando sus concentraciones están muy próximas a los límites de detección de las técnicas analíticas disponibles y existen problemas de matriz que son muy variables a lo largo del estuario.

El comportamiento químico de un metal durante su transporte a través del estuario, vendrá, en gran medida, determinado por la forma química en la que se transporta por el río. Estas formas son las siguientes: (1) en disolución, como ión

libre y formando complejos orgánicos e inorgánicos, (2) en partículas orgánicas sólidas, (3) como recubrimiento de partículas detríticas tras adsorción o coprecipitación sobre óxidos de hierro y manganeso (que juegan un papel fundamental en el transporte de metales pesados), (4) en posiciones sobre la red cristalina del material detrítico, y (5) precipitado como fases puras, posiblemente sobre partículas detríticas. Este esquema permite la distinción de fracciones de metales pesados que están realmente disponibles (forma 1), fracciones disponibles tras sufrir cambios químicos (formas 2 y 3) y fracciones prácticamente no disponibles (formas 4 y 5).

En la figura 6, se muestran las variaciones de la concentración de Zn, Cd, Pb y Cu con la salinidad, para todos los muestreos realizados desde mayo de 1998 hasta junio de 2002. Puede apreciarse que existe una amplia variabilidad en la evolución espacial de la concentración de todos los metales con una clara tendencia a la disminución hacia la desembocadura del estuario.

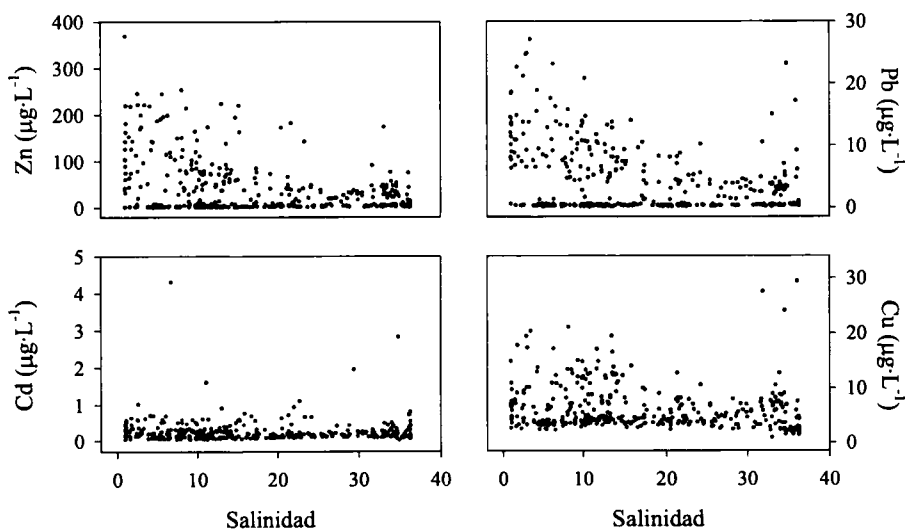


Figura 6. Concentraciones de Zn, Cd, Pb y Cu disueltos a lo largo del gradiente de salinidad, para todos los muestreos realizados.

La dispersión observada en las concentraciones de estos metales puede atribuirse, en primer lugar, al control que ejercen las condiciones hidrodinámicas del sistema sobre su distribución. Estas fueron muy variables en los muestreos realizados, sobre todo en lo que se refiere al momento y a la intensidad de la marea.

Al tratarse la zona de estudio de un sistema formado por dos ríos tributarios (Guadalquivir y Guadiamar) con concentraciones distintas de Zn, Cd, Pb y Cu en fase disuelta, no puede aplicarse el Método Reactante y, por tanto, no se puede establecer el tipo de comportamiento (conservativo o no conservativo) de estos metales de manera generalizada. Lo que sí es evidente es que se produce una disminución considerable con la salinidad en los niveles de los cuatro metales. Así, el Zn, que para salinidades en torno a 1.5 presenta una concentración media de $82.9 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, llega hasta un valor de $21.4 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para salinidades de 35. Lo mismo sucede para el resto de metales, donde la disminución de sus concentraciones medias va de $0.35 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ a $0.20 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, para el Cd, de $9.81 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ a $2.54 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, para el Pb y de $7.44 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ hasta $4.80 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, para el Cu.

3.3. Evolución temporal de la concentración de metales en las aguas del estuario y del Brazo de La Torre

En la figura 7, en la que se muestra la evolución temporal las concentraciones de metales disueltos en las aguas desde el accidente hasta junio de 2002, puede observarse que en términos generales existe una clara disminución de las concentraciones de Zn y Cd con el tiempo, incluso en más de un orden de magnitud. Las concentraciones de Zn y Cd disueltos han disminuido desde mayo de 1998 hasta junio de 2002, desde 200 a $4 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y desde 0.5 a $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente. No obstante, en septiembre de 1998 se apreció un aumento significativo de la concentración de metales disueltos, especialmente en las estaciones más próximas al Guadiamar, que pudo estar provocado por algún problema transitorio en el funcionamiento de la planta depuradora de Entremuros o al vertido de un cierto volumen de agua sin tratar. A su vez, se observa una

clara disminución de las concentraciones de Zn y Cd desde la estación GL6, en las proximidades de la confluencia del Guadalquivir y el Guadiamar, hasta la GL2, cercana a la desembocadura, especialmente en los meses posteriores al vertido, lo que denota el origen terrígeno del Zn y Cd en esta zona. Para el Pb y el Cu, la evolución temporal de su concentración es más irregular, lo que sugiere que la presencia de estos metales en la zona no tiene su origen exclusivamente en el acceso de agua ácida de mina al estuario. Si se exceptúan los valores máximos de Pb y Cu encontrados en septiembre de 1998, las concentraciones de éstos están comprendidos entre 5 y 15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, que pueden considerarse como habituales en la zona (Cordón et al., 1986).

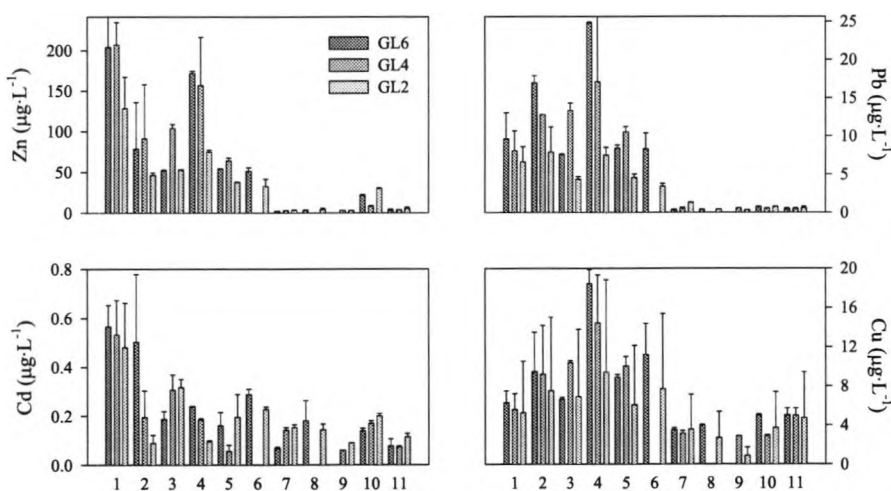


Figura 7. Evolución temporal de las concentraciones de Zn, Cd, Pb y Cu disueltos en tres estaciones seleccionadas del estuario del Guadalquivir. (1: mayo 1998; 2: julio 1998; 3: agosto 1998; 4: septiembre 1998; 5: diciembre 1998; 6: enero 1999; 7: abril 2000; 8: junio 2000; 9: diciembre 2000; 10: noviembre 2001; 11: junio 2002).

En la figura 8 se han representado las concentraciones medias de Zn, Cd, Pb y Cu disueltos en el Brazo de La Torre, desde julio de 1998 hasta noviembre de 2001. Puede apreciarse, en primer lugar, que las concentraciones de Zn y Cd en los primeros meses posteriores al accidente son superiores a los observados en el

estuario del Guadalquivir (aproximadamente $250 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para el Zn y $1.5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para el Cd, frente a 200 y $0.5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente en el estuario). Esto está motivado, presumiblemente, por la mayor proximidad al punto donde se produjo el vertido. En segundo lugar, al igual que en las aguas del estuario, se observa una clara disminución de las concentraciones de metales con el tiempo. De este modo, las concentraciones observadas en noviembre de 2001, fueron de 9.1 , 0.22 , 0.18 y $6.38 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para el Zn, Cd, Pb y Cu respectivamente. En el caso del Cu, esta tendencia a la disminución no ha sido tan clara, y sus concentraciones se han mantenido prácticamente constantes con el tiempo, poniendo de manifiesto, como se ha comentado anteriormente, que este metal debe presentar otras fuentes distintas al accidente minero.

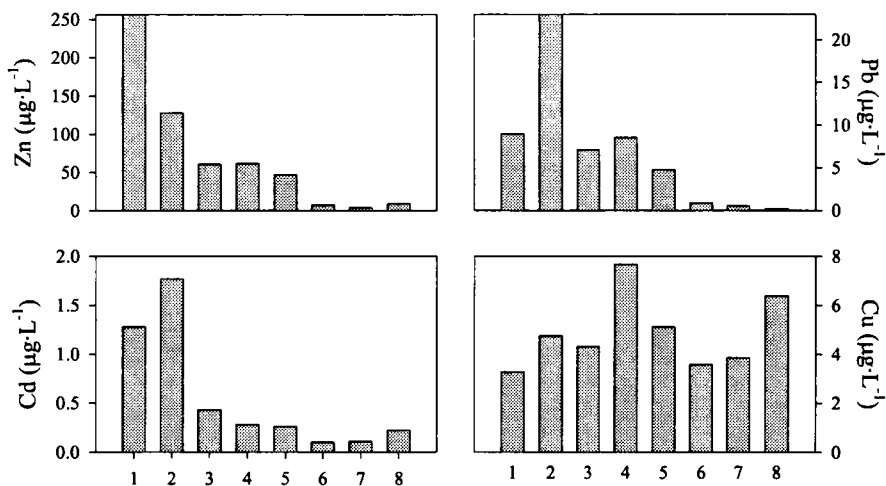


Figura 8. Evolución temporal de las concentraciones de Zn, Cd, Pb y Cu disueltos en El Brazo de La Torre. (1: julio 1998; 2: agosto 1998; 3: septiembre 1998; 4: diciembre 1998; 5: enero 1999; 6: abril 2000; 7: diciembre 2000; 8: noviembre 2001).

3.4. Metales en el material particulado

Los metales interactúan fuertemente con el material particulado, de tal forma que su comportamiento vendrá regulado por la concentración y naturaleza del material en suspensión (Duinker, 1980; Katz y Kaplan, 1981; Santschi, 1983; Förstner, 1989). Una vez unidos al material particulado, los metales podrán incorporarse al sedimento y la velocidad de la transferencia entre ambos compartimentos ambientales dependerá, en gran medida, de las condiciones físico-químicas del medio y de su régimen hidrodinámico. De este modo, los sedimentos constituyen un sumidero de estos elementos traza, pudiendo comportarse como posible fuente (Calmano et al., 1990; Coetzee, 1993) cuando se producen cambios en las condiciones de pH, fuerza iónica, potencial redox y concentración de los agentes complejantes orgánicos. Además, los metales también pueden movilizarse por medio de otros procesos de índole física o biológica (Förstner y Wittman, 1979).

Dado que el material particulado es un componente clave en el transporte de metales pesados en sistemas acuáticos, es necesario conocer los distintos tipos de sustratos sólidos que componen el material particulado y los mecanismos implicados en la unión, más o menos estable de los metales a estas partículas sólidas.

Goldberg (1954) realizó una clasificación en amplios grupos atendiendo a la génesis de las de sustancias sólidas con un alto contenido metálico que acceden a los sistemas acuáticos: (a) formaciones litogénicas, resultantes de la meteorización de la corteza terrestre, que sufren pequeños cambios en su estructura antes de su incorporación a la fase disuelta; (b) formaciones hidrogénicas, procedentes de precipitaciones en la lámina de agua inducidas por cambios en las condiciones físico-químicas, que originan fenómenos de adsorción; (c) formaciones biogénicas, que resultan de la degradación de sustancias orgánicas y restos inorgánicos calcáreos y silíceos; (d) formaciones atmógenas, que proceden de la deposición de partículas atmosféricas; y (e)

formaciones cosmógenas, constituidas por partículas de origen extraterrestre. Dentro de cada sistema en particular, la importancia de cada una de estas fuentes en la constitución del material particulado es muy variable.

Tessier y Campbell (1988) propusieron una clasificación más ajustada, incluyendo las siguientes fases:

- 1) **Sólidos detriticos.** Proceden de la meteorización y erosión de suelos y rocas y están constituidos por partículas inorgánicas, tales como arcillas y otros aluminosilicatos, óxidos hidratados de Fe y Al, cuarzos y carbonatos metálicos.
- 2) **Fraciones endógenas.** Constituidas por partículas originadas en procesos que tienen lugar en la columna de agua. Pueden dividirse en dos grupos distintos: (i) aquellas fracciones resultantes de procesos de precipitación y adsorción, y (ii) fracciones biogénicas, que pueden incluir tanto materia orgánica (organismos vivos, sustancias húmicas, detritos), como productos inorgánicos (fosfatos, carbonatos, sílice). Los procesos que dan lugar a estas fracciones biogénicas, presentan un notable carácter temporal, debido a cambios estacionales en la productividad biológica (Shimield y Pedersen, 1990).
- 3) **Fraciones diagenéticas.** Se generan fundamentalmente en el sedimento como consecuencia de la descomposición de la materia orgánica (Förstner, 1989; Shimield y Pedersen, 1990). Es importante destacar, que en esta fase los óxidos hidratados de Fe y Mn formados en condiciones óxicas y los sulfuros de Fe, formados en condiciones anóxicas, juegan un papel relevante.

De todas ellas, las dos primeras fracciones son las más importantes en lo que se refiere a su capacidad de fijar compuestos contaminantes (Förstner, 1989).

Förstner y Patchineelam (1976) realizaron una clasificación de los mecanismos por los que se produce la unión de los metales pesados a las distintas fases químicas del material particulado, agrupándolos en los siguientes:

- 1) **Procesos adsortivos.** Los procesos de adsorción y cambio catiónico se dan sobre todo en sustancias de elevada superficie específica. Guy y Chakrabarti (1975) establecieron una secuencia de la capacidad adsortiva sobre los metales pesados de los siguientes adsorbentes: óxidos de Mn > ácidos húmicos > óxidos hidratados de Fe > arcillas.
- 2) **Procesos de coprecipitación con óxidos hidratados de Fe y Mn** (Jenne, 1977). Estos procesos son especialmente importantes durante la formación de los mismos en la zona de mezcla estuárica, en la cual se produce generalmente un aumento del pH y un incremento en el contenido de oxígeno disuelto.
- 3) **Complejación por la materia orgánica.** La naturaleza de la materia orgánica presente en el medio acuático es muy compleja, ya que está constituida mayoritariamente por macromoléculas formadas por la polimerización de un gran número de moléculas más simples y de intermediatos de la degradación de otras. Las sustancias húmicas (extraíbles mediante soluciones alcalinas débiles) son las más importantes en cuanto a su capacidad de acumular metales pesados (Förstner y Wittman, 1979). Se trata de polímeros de heterogeneidad acusada que incluyen sustancias de pesos moleculares muy altos (huminas), moderados (ácidos húmicos) y bajos (ácidos fúlvicos y ácidos orgánicos amarillos). Los ácidos fúlvicos son los más activos en el transporte y acumulación de metales dentro de la disolución, debido a su alta solubilidad y a que presentan una gran variedad de grupos funcionales que pueden formar enlaces coordinados (Jenne, 1977).
- 4) **Incorporación dentro de minerales detriticos** de rocas y suelos, entrando a formar parte de su estructura cristalina.

Durante la mezcla estuárica, el material disuelto y el particulado interaccionan, pudiendo producirse tres tipos de procesos (Burton, 1976):

- a) La precipitación de material disuelto para dar lugar a nuevas fases sólidas.

- b) La acumulación de material disuelto por fases sólidas ya presentes. Estas fases sólidas comprenden a los minerales litogénicos, las fases autigénicas formadas por material inorgánico y la materia orgánica viva o detrítica, generada tanto dentro como fuera del estuario.
- c) La liberación de material hacia la disolución desde las fases particuladas, por disolución o desorción.

En la tabla 3 se muestran los valores de concentración de Zn, Cd, Pb y Cu en el material particulado de distintos estuarios considerados como contaminados, y se comparan con los valores obtenidos para el estuario del Guadalquivir en este estudio. Los valores encontrados en el estuario del Guadalquivir son en general, más bajos que los observados para otros sistemas estuáricos, por lo que puede inferirse que tiene en la actualidad unos niveles de contaminación para estos metales, que pueden considerarse bajos.

Tabla 3. Concentraciones de Zn, Cd, Pb y Cu (en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) en distintos sistemas estuáricos considerados como contaminados. Se muestran también los rangos de estos valores encontrados en el estuario del Guadalquivir para los distintos muestreos realizados.

Estuario	Zn	Cd	Pb	Cu	Referencia
Kishon	500-2000	0.02-200	--	90-300	Herut y Kress (1997)
Danubio	248	1.14	84	115	Guieu et al. (1998)
Fraser	100-700	--	20-90	50-200	Stecko y Bendell-Young (2000)
Scheldt	100-800	1-28	50-300	40-270	Baeyens et al. (1998b)
Tay	53-470	0.02-3.99	18-191	12-133	Owens et al. (1997)
Rhine/Meuse	150-1100	2-17	50-175	20-140	Paalman y Van Der Weijden (1992)
Guadalquivir	18-223	0.05-2.06	14-74	30-118	Este trabajo

En las figuras 9 y 10 se muestran, respectivamente, las concentraciones de metales en el material particulado en suspensión (en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) y las concentraciones de metales particulados (en $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), en muestreos realizados entre mayo de 1998 y diciembre de 2000, en las estaciones GL2, GL4 y GL6. En la primera de las

figuras, puede apreciarse que no existen tendencias claramente definidas en cuanto a la distribución espacial de las concentraciones; sin embargo, se pone de manifiesto un incremento de las concentraciones de metales en el material particulado con el tiempo, probablemente asociado a procesos de adsorción, incremento además, coincidente con una disminución de las concentraciones de metales disueltos, expuesta previamente.

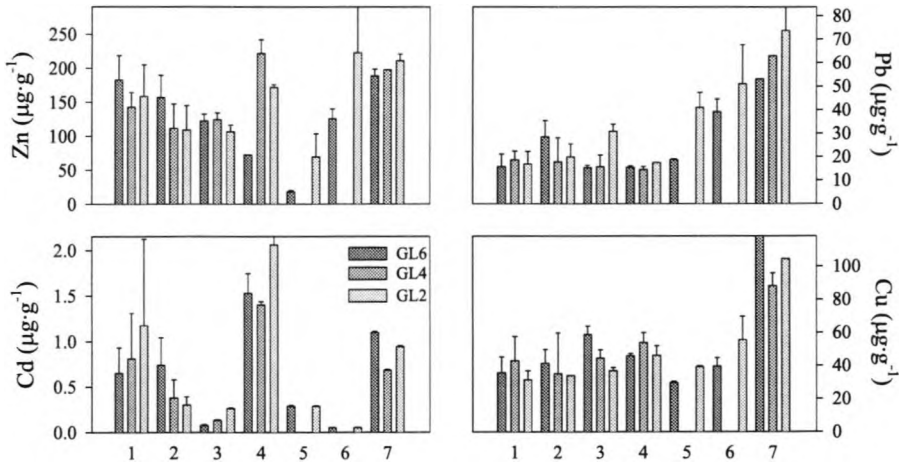


Figura 9. Evolución temporal de las concentraciones de Zn, Cd, Pb y Cu en el material particulado de las estaciones GL2, GL4 y GL6. (1: mayo 1998; 2: julio 1998; 3: agosto 1998; 4: septiembre 1998; 5: enero 1999; 6: junio 2000; 7: diciembre 2000).

En la figura 10 no se detecta una evolución temporal clara, pues los niveles dependen de la cantidad de sólidos en suspensión. Las concentraciones de sólidos en suspensión son muy variables, debido al control que ejercen las condiciones hidrodinámicas del sistema sobre su distribución. Estas fueron muy variables en los muestreos realizados, sobre todo en lo que se refiere al momento y a la intensidad de la marea. Puede destacarse un máximo considerable ocurrido en septiembre de 1998, que estuvo motivado por las elevadas precipitaciones ocurridas días previos a la fecha del muestreo, lo que provocó un notable aumento de las concentraciones de sólidos en suspensión en la lámina de agua (e.g. $1118 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en la estación GL6) debido a procesos de resuspensión. Este

máximo se aprecia también en la figura 9 y podría ser debido a que las partículas resuspendidas son relativamente finas, y por tanto, poseen una mayor capacidad de adsorción, lo que hace que se vean enriquecidas en metales pesados.

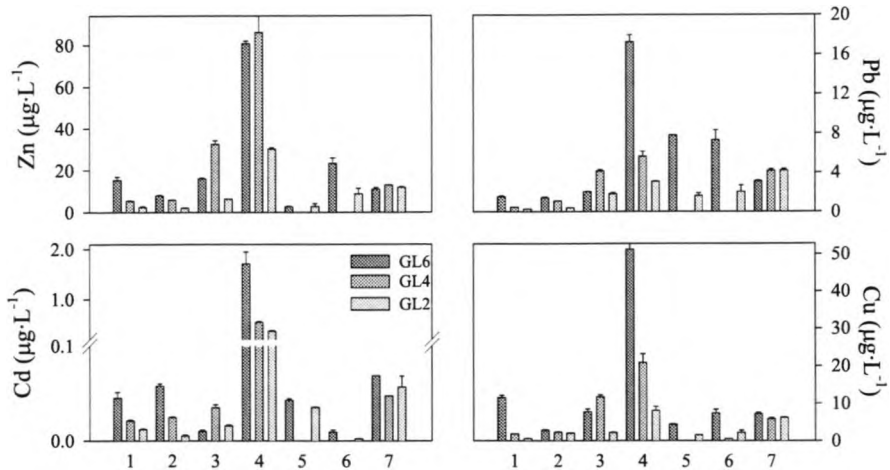


Figura 10. Evolución temporal de las concentraciones de metales particulados en las estaciones GL2, GL4 y GL6. (1: mayo 1998; 2: julio 1998; 3: agosto 1998; 4: septiembre 1998; 5: enero 1999; 6: junio 2000; 7: diciembre 2000).

3.5. Coeficientes de reparto metal particulado/metal disuelto

El comportamiento de contaminantes en sistemas acuáticos depende de manera crítica de su distribución entre la fase disuelta y la sólida. La afinidad relativa de los metales por la fase sólida y disuelta se puede evaluar a partir de su coeficiente de partición entre ambas fases (Chiffolleau et al., 1994; O'Reilly Wiese et al., 1997) que viene dado por la expresión:

$$K_D = C_p/C_w$$

donde C_p es la concentración del metal en el material particulado y C_w es la concentración del metal en la fase acuosa. Este parámetro posee una gran importancia a la hora de determinar los flujos biogeoquímicos y de elaborar evaluaciones de impacto ambiental en aguas estuáricas y costeras (Van der Kooij et al., 1991; Wood et al., 1995).

En sistemas estuáricos, donde los flujos de constituyentes se modifican por una pronunciada reactividad biogeoquímica, y donde se producen importantes entradas de contaminantes de origen antropogénico, este parámetro adquiere particular relevancia.

En la tabla 4 se muestran, a modo de ejemplo los logaritmos de los coeficientes de partición de Zn, Cd, Pb y Cu en las estaciones GL2 y GL6, en septiembre de 1998 y junio de 2001. Los valores de K_D para el Zn, Cd, Pb y Cu estuvieron comprendidos entre 10^2 y 10^5 , concordantes con los obtenidos por otros autores en estudios realizados en otros sistemas estuáricos (e.g. Benoit et al., 1994; Wood et al., 1995) y que denotan una clara afinidad de estos metales por la fase sólida. Se aprecia un aumento de los valores de K_D con el incremento de la salinidad, tendencia similar a la observada por Wood et al. (1995) en la Bahía de San Francisco, e inversa a la observada por otros autores en otras zonas estuáricas (e.g. Benoit et al., 1994; Turner et al., 1993; Turner, 1996).

Tabla 4. Valores de $\log K_D$ de Zn, Cd, Pb y Cu en las estaciones GL2 y GL6 para los muestreos realizados en septiembre de 1998 y junio de 2001.

Estación		Zn	Cd	Pb	Cu
GL2	<i>Septiembre 1998</i>	3.350	4.349	3.420	3.673
	<i>Junio 2001</i>	5.071	4.012	5.766	5.054
GL6	<i>Septiembre 1998</i>	2.629	3.803	2.807	3.371
	<i>Junio 2001</i>	5.327	3.725	5.125	4.668

En primer lugar, con la entrada de agua de mar al estuario se produce una entrada de iones divalentes mayoritarios en el agua de mar (fundamentalmente de Ca^{2+} y Mg^{2+}) que compiten por los centros activos de las partículas en suspensión, originando, por tanto una desorción de los metales desde las partículas hacia la disolución; este efecto, traería como consecuencia, el descenso de los coeficientes de partición con el aumento de la salinidad. Sin embargo, existe otro proceso contrapuesto, y es que, con el aumento de la fuerza iónica se produce

una disminución acusada de los coeficientes de actividad de los metales en fase disuelta, favoreciéndose los procesos de adsorción. Parece ser que en el caso de este estudio, el segundo proceso tiene una mayor importancia, dado que las concentraciones de Ca^{2+} en el Guadalquivir son de 2.45 mM, concentraciones anormalmente altas en comparación con otros estuarios. Esto provoca que la competencia por los lugares de adsorción de los metales alcalinotérreos sea menos importante. A este hecho contribuye el que el tamaño de las partículas sea más fino a medida que se avanza hacia la desembocadura (puesto que las partículas más gruesas han ido sedimentando a lo largo del estuario) y a que el contenido en materia orgánica de las mismas es mayor.

A lo largo de todos los muestreos realizados se observó una clara disminución de la concentración de los sólidos en suspensión con la salinidad. Así, existe una relación inversa entre los coeficientes de partición y el contenido en sólidos en suspensión, relación que ya ha sido descrita por otros autores (Benoit, 1995; Turner, 1996). De todo esto, puede deducirse, que el transporte neto de metales en fase particulada hacia la zona marina próxima a la desembocadura, dependerá de los coeficientes de partición y del contenido en sólidos en suspensión; así, si el contenido en sólidos en suspensión es importante, se producirá también un considerable transporte neto de metales en fase particulada, a pesar de que los coeficientes de partición sean inferiores.

Los valores de $\log K_D$ han aumentado considerablemente desde 1998 hasta la actualidad, hasta valores de 5.052 para el Zn, 3.999 para el Cd, 5.213 para el Pb y 4.536 para el Cu, como consecuencia de la fuerte disminución de la concentración de metales en fase disuelta y el aumento de la concentración en la fase particulada, ya descritos en apartados anteriores.

3.6. Transporte de Zn, Cd, Pb y Cu con las mareas en el estuario del Guadalquivir

A lo largo del desarrollo de este trabajo, surgió la necesidad de determinar el destino de los metales que accedieron al estuario, es decir, si estos permanecían

en la columna de agua, ya fuese en fase disuelta o asociados al material particulado -pudiendo en este caso llegar a formar parte del sedimento-, o si por el contrario, se transportaron hacia la zona marina próxima a la desembocadura. De este modo, en junio de 2001 se realizó un estudio para determinar las cantidades de metales pesados que se intercambiaban con las mareas entre el tramo final del estuario y su entorno marino inmediato. Para ello fue necesario medir la velocidad de transferencia de los metales en distintos instantes de marea, durante un ciclo completo, a través de tres secciones consideradas. La primera se situó en Bonanza (GL2), próxima a la desembocadura; la segunda se estableció en la zona denominada El Puntalete (GL6), aguas abajo de la confluencia del Brazo de La Torre y del río Guadalquivir, mientras que la tercera se localizó aguas arriba de dicha confluencia, en El Yeso (GL7). La medida de la velocidad de transferencia requiere conocer en cada instante el área de esa sección, la concentración de los metales de la columna de agua que fluye y la velocidad de corriente, según sea el régimen de flujo a través de esa sección y/o el tipo de mezcla estuárica. Estas dos últimas variables pueden cambiar considerablemente en sentido vertical. Por ese motivo, la velocidad de corriente y la concentración de metales se midieron a dos profundidades, lo que permitió estimar el transporte a través de la sección total como suma del que atraviesa las dos subsecciones consideradas. Las concentraciones de metales, así como la velocidad de corriente se determinaron a intervalos de una hora. De estas subsecciones, sólo para la superior se admitió que su altura era dependiente del estado de la marea, mientras que la inferior se consideró en la zona situada por debajo del cero hidrográfico (bajamar escorada).

La velocidad de transferencia de los metales pesados (V_{CID}) se calculó por medio de la siguiente expresión:

$$V_x = C_x \cdot S \cdot v$$

donde V_x es la velocidad de transferencia de un metal dado a través de una determinada subsección ($g \cdot s^{-1}$), C_x es su concentración ($\mu g \cdot L^{-1}$), S es el área de la

subsección (m^2) y v la correspondiente velocidad instantánea de la corriente ($m \cdot s^{-1}$). Los valores de las secciones se han obtenido a partir de la siguiente expresión:

$$S = S_0 / 2 \quad (\text{Subsección de fondo})$$

$$S = S_0 / 2 + l (y_0 + a (\text{sen} (bt+c))) \quad (\text{Subsección superficial})$$

donde S_0 es el área en bajamar escorada (m^2) y l la anchura del cauce del río (m). Los valores de S_0 , l y l estimados a partir de la cartografía disponible para el sistema estudiado se indican en la tabla 5.

Tabla 5. Valores de la sección en bajamar escorada (S_0) y de la anchura del cauce del río (l) de las distintas estaciones estudiadas.

Estación	l (m)	S_0 (m^2)
Bonanza	950	2720.846
El Puntalete	725	1534.545
El Yeso	650	786.568

La ecuación sinusoidal que aparece en el segundo término de la expresión que define la subsección superficial, es la que describe la variación de la altura de la marea en cada una de las estaciones consideradas. y_0 , a , b y c son parámetros de ajuste y t es el tiempo en horas. Los parámetros de ajuste de las ecuaciones sinusoidales aparecen en la tabla 6.

Tabla 6. Parámetros de ajuste a una función seno para los cálculos de la subsección superficial en las estaciones del estuario del Guadalquivir. Se incluyen los valores de los coeficientes de correlación (r^2).

Estación	y_0	a	b	c	r^2
Bonanza	1.7	1.1	0.5028	-0.3	0.9986
El Puntalete	1.7	1.1	0.5028	-0.3	0.9992
El Yeso	1.62	1.0	0.5095	0.55	0.9988

En las figuras 11, 12 y 13 se muestran a modo de ejemplo las evoluciones temporales de las velocidades de transferencia de Zn, Cd, Pb y Cu disueltos en Bonanza, El Puntalete y El Yeso, respectivamente. Puede apreciarse que las velocidades en superficie son superiores a las del fondo.

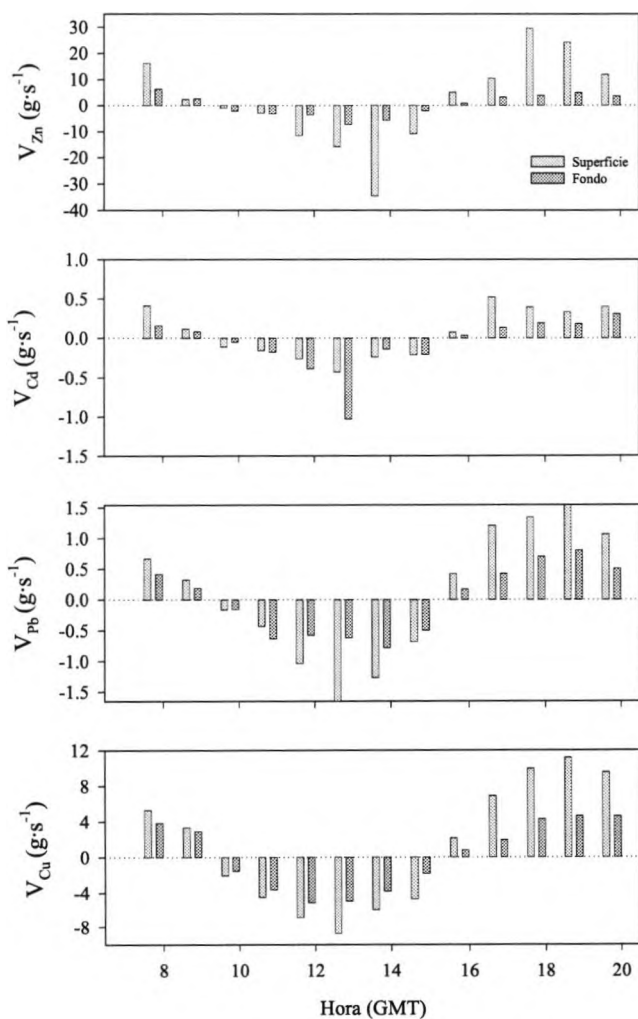


Figura 11. Variación temporal de las velocidades de transferencia de Zn, Cd, Pb y Cu disueltos a lo largo de un ciclo de marea a través de las subsecciones superficial y de fondo en Bonanza.

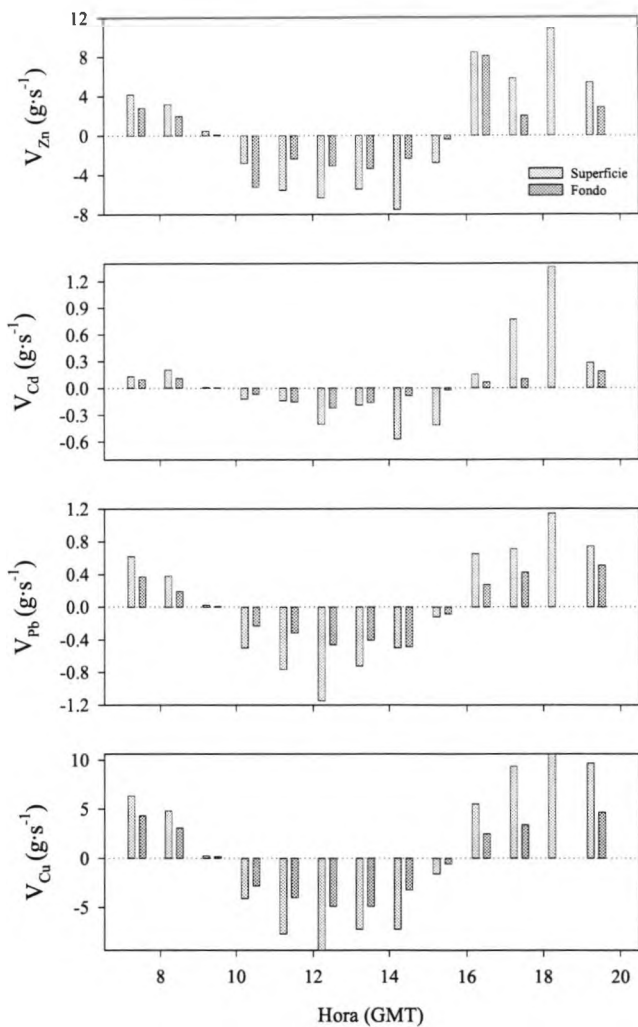


Figura 12. Variación temporal de las velocidades de transferencia de Zn, Cd, Pb y Cu disueltos a lo largo de un ciclo de marea a través de las subsecciones superficial y de fondo en El Puntalete.

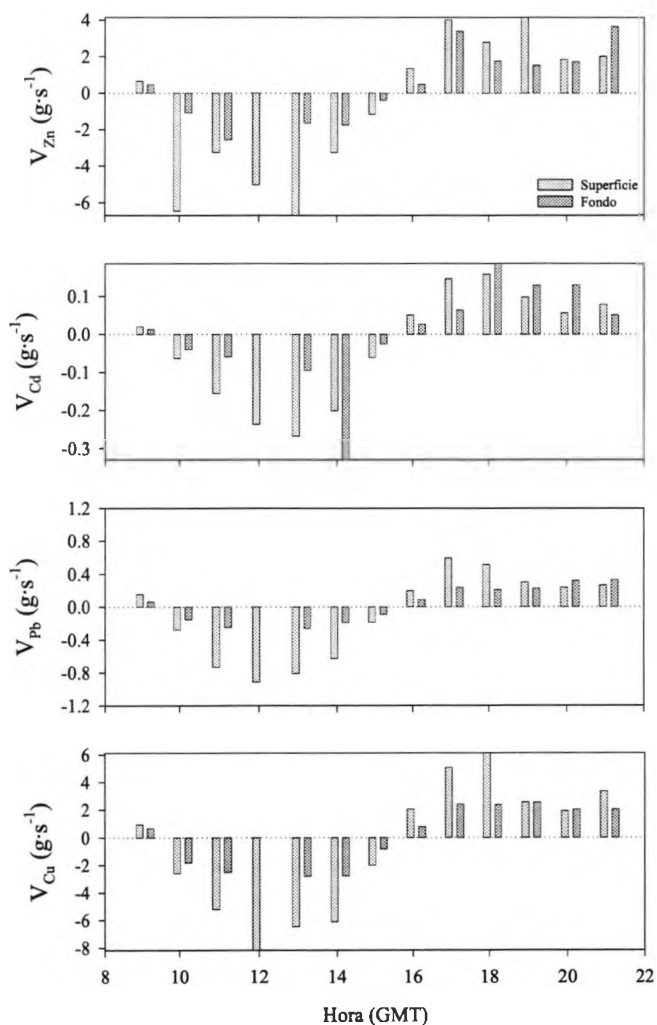


Figura 13. Variación temporal de las velocidades de transferencia de Zn, Cd, Pb y Cu disueltos a lo largo de un ciclo de marea a través de las subsecciones superficial y de fondo en El Yeso.

Las tasas de entrada y salida de metales en cada una de las subsecciones, durante ciclos completos de marea, se obtuvieron a partir de las áreas comprendidas debajo de los segmentos que unen los valores experimentales de las velocidades de transferencia. Los valores negativos implican un transporte aguas arriba del río, mientras que los valores positivos indican un transporte de metales en

dirección hacia la desembocadura. Este procedimiento se ha utilizado para calcular el transporte de metales disueltos y particulados a través de las distintas secciones. Los resultados de los balances a través de cada una de las secciones se presentan en la tabla 7.

Tabla 7. Entradas y salidas de Zn, Cd, Pb y Cu disueltos y particulados a través de las distintas subsecciones y estaciones. Los valores están expresados en $\text{g}\cdot\text{s}^{-1}$.

Estación		Disuelto	Particulado	TOTAL Zn
Bonanza	<i>Superficie</i>	1.578	5.873	7.451
	<i>Fondo</i>	-0.5367	2.474	1.937
	<i>Total</i>	1.041	8.347	+9.388
El Puntalete	<i>Superficie</i>	0.6758	8.098	8.774
	<i>Fondo</i>	0.1100	3.060	3.170
	<i>Total</i>	0.786	11.158	+11.944
El Yeso	<i>Superficie</i>	-1.702	-44.547	-46.276
	<i>Fondo</i>	0.1954	-7.892	-7.697
	<i>Total</i>	-1.507	-52.466	-53.973

Estación		Disuelto	Particulado	TOTAL Cd
Bonanza	<i>Superficie</i>	0.0775	0.0132	0.0907
	<i>Fondo</i>	-0.1856	0.0056	-0.180
	<i>Total</i>	-0.108	0.019	-0.0893
El Puntalete	<i>Superficie</i>	0.1757	0.0383	0.214
	<i>Fondo</i>	-0.0243	0.0152	-0.0091
	<i>Total</i>	0.151	0.054	0.205
El Yeso	<i>Superficie</i>	-0.0698	-0.1573	-0.2271
	<i>Fondo</i>	-0.0099	-0.0406	-0.0505
	<i>Total</i>	-0.080	-0.198	-0.2776

Tabla 7 (cont.). Entradas y salidas de Zn, Cd, Pb y Cu disueltos y particulados a través de las distintas subsecciones y estaciones. Los valores están expresados en $g \cdot s^{-1}$.

Estación		Disuelto	Particulado	TOTAL Pb
Bonanza	<i>Superficie</i>	0.0786	1.855	1.934
	<i>Fondo</i>	-0.0759	0.4622	0.3863
	<i>Total</i>	0.003	2.317	+2.320
El Puntalete	<i>Superficie</i>	-0.0213	2.4765	2.455
	<i>Fondo</i>	-0.0232	0.8982	0.875
	<i>Total</i>	-0.045	3.375	+3.330
El Yeso	<i>Superficie</i>	-0.255	-9.892	-10.147
	<i>Fondo</i>	0.0130	-2.0707	-2.058
	<i>Total</i>	-0.242	-11.963	-12.205

Estación		Disuelto	Particulado	TOTAL Cu
Bonanza	<i>Superficie</i>	1.430	1.472	2.902
	<i>Fondo</i>	-0.3112	0.6278	0.3166
	<i>Total</i>	1.119	2.100	+3.219
El Puntalete	<i>Superficie</i>	0.3308	2.791	3.122
	<i>Fondo</i>	-0.4365	0.9317	0.495
	<i>Total</i>	-0.106	3.723	+3.617
El Yeso	<i>Superficie</i>	-1.751	-10.939	-12.69
	<i>Fondo</i>	-0.3342	-2.357	-2.691
	<i>Total</i>	-2.085	-13.296	-15.381

En la figura 14 se presenta el balance del intercambio de metales con las mareas en el tramo final del estuario del Guadalquivir. Los valores positivos observados en Bonanza y en El Puntalete indican que existe un transporte global de metales desde el río hacia la desembocadura. En El Yeso, los valores negativos observados para los cuatro metales, indican que existe un transporte de los mismos hacia zonas situadas aguas arriba de la confluencia del Brazo de la Torre y el río Guadalquivir. Parece ser, por tanto, que parte de los metales procedentes

del Brazo de La Torre, se transporta aguas arriba del río por efecto de las mareas y otra parte se transporta hacia la zona marina adyacente.

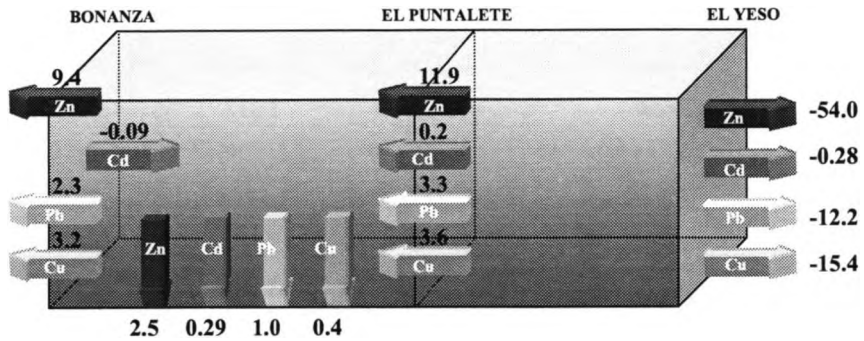


Figura 14. Balance global del intercambio con las mareas de Zn, Cd, Pb y Cu en el tramo final del estuario. Los valores están expresados en $g\ s^{-1}$.

A partir de las diferencias en los transportes en Bonanza y en El Puntalete, pueden estimarse las cantidades de metales que reaccionarían en el tramo final del estuario. Presumiblemente, el destino de estas diferencias sea los sedimentos marinos, bien por sedimentación directa del material particulado, o bien por adsorción directa sobre sedimentos superficiales, o asociación al material particulado y posterior sedimentación en la zona final del estuario. A partir de este balance puede estimarse que un 21% del Zn, un 30% del Pb y un 11% del Cu que atraviesan la sección del El Puntalete quedan retenidos en la parte final del estuario. En el caso del Cd, este metal tiende a acumularse en la parte final del estuario, procedente tanto del río como de la zona marina próxima.

En la tabla 8 se muestran las distribuciones relativas de los metales entre las fracciones disuelta y particulada. Puede apreciarse que el transporte de los constituyentes se produce fundamentalmente en fase particulada, sobre todo en las estaciones más fluviales. En la zona de máxima turbidez, los procesos de

adsorción / desorción juegan en favor de la pérdida de metales desde la fase disuelta, debido a la baja salinidad del ambiente y a la elevada disponibilidad de superficies de adsorción (numerosas partículas de pequeño tamaño). Adicionalmente, las partículas de origen marino, pobres en metales, son transportadas aguas arriba. Dado que los metales muestran una mayor afinidad por la adsorción que los cationes marinos, se producirá un desplazamiento que dará lugar al enriquecimiento de las partículas en metales. La mayor salinidad y la reducida concentración de sólidos en suspensión aguas abajo, favorecerá los procesos de desorción, de forma que en términos generales, la proporción de metales transportados en fase disuelta sufrirá un considerable aumento.

Tabla 8. Distribución relativa de Zn, Cd, Pb y Cu entre las fases disuelta y particulada, en las tres estaciones seleccionadas.

Estación	Zn (%)		Pb (%)		Cd (%)		Cu (%)	
	DIS	PART	DIS	PART	DIS	PART	DIS	PART
Bonanza	11.09	88.91	85.04	14.96	0.13	99.87	34.76	65.24
El Puntalete	6.58	93.42	73.66	26.34	1.32	98.68	2.77	97.23
El Yeso	2.79	97.21	28.78	71.22	1.98	98.02	13.56	86.44

4. BIBLIOGRAFÍA

- Agemian H, Chau ASY (1975) An atomic absorption method for the determination of 20 elements in lake sediments after acid digestion. *Anal Chim Acta* 80:61-66
- AMA (1997) Ejecución del Plan de Policía de Aguas del Litoral Andaluz, 510 p
- APHA (1992) American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington DC, 312 p
- Baeyens W, Parmentier K, Goeyens L, Ducastel G, De Gieter M, Leermakers M (1998a) The biogeochemical behaviour of Cd, Cu, Pb and Zn in the Scheldt estuary: results of the 1995 surveys. *Hydrobiol* 366:45-62

- Baeyens W, Elskens M, Gillain G, Goeyens L (1998b) Biogeochemical behaviour of Cd, Cu, Pb and Zn in the Scheldt estuary during the period 1981-1983. *Hydrobiol* 366:15-44
- Benoit G, Otkay-Marshall A, Cantu A, Hood EM, Coleman CH, Corapcioglu MO, Santschi PH (1994) Partitioning of Cu, Pb, Ag, Zn, Fe, Al y Mn between filter-retained particles, colloids, and solution in six Texas estuaries. *Mar Chem* 45:307-336
- Benoit G (1995) Evidence of the particle concentration effect for lead and other metals in fresh waters based on ultraclean technique analyses. *Geochim Cosmochim Acta* 59(13):2677-2687
- Bryan, GW (1984) Pollution due to heavy metals an their compounds. In: Kinne O (ed) *Mar Ecol Vol 5*, part. 3, p 1289-1431.
- Burton JD (1976) Basic properties and processes in estuarine chemistry. En: Burton JD, Liss PS (eds) *Estuarine Chemistry*. Academic Press, London, p 1-36
- Calmano W, Ahlf W, Förstner U (1990) Exchange of heavy metals between sediment components and water. En: Broekaert JAC, Güçer S, Adams F (eds) *Metal speciation in the environment. Series G: Ecological Sciences vol 23*. Springer-Verlag, Berlin, 503 pp
- Chiffolleau JF, Cossa D, Auger D, Truquet I (1994) Trace metal distribution, partition and fluxes in the Seine estuary (France) in low discharge regime. *Mar Chem* 47:145-158
- Chiffolleau J-F, Auger D, Chartier E (1999) Fluxes of selected trace metals from the Seine estuary to the eastern English Channel during the period August 1994 to July 1995. *Cont Shelf Res* 19:2063-2082

- Coetzee PP (1993) Determination and speciation of heavy metals in sediments of the Hartbeespoort Dam by sequential chemical extraction. *Water SA* 19(4):291-300
- Cordón R, Cabrera F, Arambarri P (1986) Concentraciones de metales pesados en aguas, sedimentos y tres especies animales (*C. angulata*, *D. labrax*, *M. auratus*) de los estuarios de los ríos Barbate y Guadalquivir. *Seminario de Química Marina* 3:65-71
- Duinker JC, Nolting RF (1978) Mixing, removal and mobilization of trace metals in the Rhine estuary. *Neth J Sea Res* 12:205-223
- Duinker JC (1980) Suspended matter in estuaries: adsorption and desorption processes. En: Olausson E, Cato I (eds) *Chemistry and biogeochemistry of estuaries*. John Wiley & Sons, Chichester, p 121-152
- Förestner U, Patchineelam SR (1976) Bindung und mobilisation von schwermetallen in fluviatilen sedimenten. *Chem ZTG* 100:49-57
- Förestner U, Wittman GTW (1979) Metal pollution in the aquatic environment. Förestner, U, Wittman GTW (eds) *Springer-Verlag, Berlin Heidelberg*, 486 pp
- Förestner U (1989) *Contaminated sediments*. Springer-Verlag, Berlin, 157 pp
- Goldberg ED (1954) Marine geochemistry. Chemical scavengers of the sea. *J Geol* 62:249-266
- Guieu C, Martin J-M, Tankéré SPC, Mousty F, Trincherini P, Bazot M, Dai MH (1998) On trace metal geochemistry in the Danube river and Western Black Sea. *Estuar Coast Shelf S* 47:471-485
- Guy RJ, Chakrabarti CL (1975) Distribution of metal ions between soluble and particulate forms. *Abstr Int Conf Heavy Metals Environ*. Toronto, D-29-30

- Harper DJ (1991) The distribution of dissolved cadmium, lead and copper in the Bristol Channel and the outer Severn estuary. *Mar Chem* 33:131-143
- Herut B, Kress N (1997) Particulate metals contamination in the Kishon river estuary, Israel. *Mar Pollut Bull* 34(9):706-711
- Holmes CW (1986) Trace metal seasonal variations in Texas marine sediments. *Mar Chem* 20:13-27
- Jenne EA (1977) Trace element sorption by sediments and oil-sites and processes. En: Chappel W, Pedersen K (eds) *Symp Molybdenum*, vol 2. Marcel-Dekker, New York, p 425-553
- Katz A, Kaplan IR (1981) Heavy metals behaviour in coastal sediments of Southern California: a critical review and synthesis. *Mar Chem* 10:261-299
- Latouche C, Jouanneau JM (1981) Evolution of trace metals in connection with the suspended particle phase at the freshwater-seawater interface: the Gironde river-estuary system. *Oceanus* 6:621-636
- Liss PS (1976) Conservative and non-conservative behaviour of dissolved constituents during estuarine mixing. En: Burton JD, Liss PS (eds) *Estuarine Chemistry*. Academic Press, London, p 93-130
- Loring PH, Rantala RTT, Morris AW, Bale AJ, Howland RJM (1983) Chemical composition of suspended particles in an estuarine turbidity maximum zone. *Can J Fish Aquat Sci* 40:201-206
- Loring DH, Rantala RTT (1992) Manual for the geochemical analyses of marine sediments and suspended particulate matter. *Earth-Sci Rev* 32:235-283
- Martin JM, Whitfield M (1983) The significance of the river input of chemical elements to the ocean. En: Wong CS, Boyle E, Bruland KW, Burton JD,

- Goldberg ED (eds) Trace metals in seawater. NATO Conference Series, Plenum Press, New York, 256 pp
- Millward GE, Turner A, Glasson DR, Glegg GA (1990) Intra and interestuarine variability of particle microstructure. *Sci Total Environ* 97/98:289-300
- Morris AW (1984) Estuarine chemistry and general survey strategy. En: Head PC (ed) *Practical estuarine chemistry*. Cambridge University Press, Cambridge
- Noller BN, Bloom H, Dineen RD, Johnson MG, Hammond RP (1993) Effective monitoring of pollution by toxic elements in waters, sediment and biota of the Derwent river estuary, Tasmania, through long term retention of analytical facilities. *Environ Monit Assess* 28:169-181
- O'Reilly Wiese SB, Macleod CL, Lester JN (1997) Partitioning of metals between dissolved and particulate phases in the salt marshes of Essex and north Norfolk (UK). *Environ Technol* 18:399-408
- Owens M (1984) Severn Estuary -an appraisal of water quality. *Mar Pollut Bull* 15(2):7-41
- Owens RE, Balls PW, Price NB (1997) Physicochemical processes and their effects on the composition of suspended particulate material in estuaries: implications for monitoring and modelling. *Mar Pollut Bull* 34(1):51-60
- Paalman MAA, Van Der Weijden CH (1992) Trace metals in suspended matter from the Rhine/Meuse estuary. *Neth J Sea Res* 29:311-321
- Paulson AJ, Feely RA, Curl HCJr, Tennant DA (1989) Estuarine transport of trace metals in a buoyant riverine plume. *Estuar Coast Shelf S* 28:231-248
- Santschi PH (1983) Particle flux and trace metal residence time in natural waters. *Limnol Oceanogr* 29:1100-1108

- Shimield GB, Pedersen TF (1990) The geochemistry of reactive trace metals and halogens in hemipelagic continental margin sediments. *Rev Aquat Sci* 3(2/3):255-279
- Stecko JRP, Bendell-Young LI (2000) Contrasting the geochemistry of suspended particulate matter and deposited sediments within an estuary. *Appl Geochem* 15:753-775
- Tessier A, Campbell PGC, Bisson M (1979) Sequential extraction procedure for the speciation of trace metals. *Anal Chem* 51:844-851
- Tessier A, Campbell PGC (1988) Comments on the testing of the accuracy of an extraction procedure for determining the partitioning of trace metals in sediments. *Anal Chem* 60:1475-1476
- Thomson EA, Luoma SN, Cain DN, Johansson C (1980) The effect of sample storage on the extraction of Cu, Zn, Fe, Mn and organic material from oxidized estuarine sediments. *Water Air Soil Poll* 14:215-233
- Tipping E, Lofts S, Lawlor AJ (1998) Modelling the chemical speciation of trace metals in the surface waters of the Humber system. *Sci Total Environ* 210/211:63-77
- Turekian KK (1977) The fate of metals in the oceans. *Geochim Cosmochim Acta* 41: 1139-1144
- Turner A, Millward GE, Bale AJ, Morris AW (1993) Application of the K_D concept to the study of trace metal removal and desorption during estuarine mixing. *Estuar Coast Shelf S* 36:1-13
- Turner A (1996) Trace-metal partitioning in estuaries: importance of salinity and particle concentration. *Mar Chem* 54:27-39

- Van den Berg GA, Meijers GGA, Van der Heijdt LM, Zwolsman JJG (2001)
Dredging-related mobilisation of trace metals: a case study in The Netherlands. *Water Res* 35(8):1979-1986
- Van Der Kooij LA, van de Meent D, van Leeuwen CJ, Bruggeman WA (1991)
Deriving quality criteria for water and sediment from the results of aquatic toxicity tests and product standards: application of the equilibrium partitioning method. *Eater Res* 25:697-705
- Wood TM, Baptista AM, Kuwabara JS, Flegal AR (1995) Diagnostic modelling of trace metal partitioning in south San Francisco Bay. *Limnol Oceanogr* 40(2):345-358

Evaluación de la especiación química de metales pesados en aguas del estuario del Guadalquivir y el brazo de La Torre afectadas por el desastre de Aznalcóllar

Granado Castro, M.D., Galindo Riaño, M.D. y García Vargas, M.

Departamento de Química Analítica, Universidad de Cádiz

Polígono Río San Pedro, 11510, Puerto Real, Cádiz

1. INTRODUCCIÓN

Los metales pesados tienen una gran significación ecológica tanto por su toxicidad como por su comportamiento acumulativo (Batley, 1987). Son introducidos en los sistemas acuáticos disueltos o asociados a la materia suspendida. Los cambios que se pueden encontrar en la concentración de estos metales, presentes en el agua, son buenos indicadores de los cambios generalizados que se producen en un ecosistema (clima, vegetación, suelo, actividad antropogénica,...).

En general, la contaminación por metales pesados en aguas continentales naturales o recicladas, ya sea su origen natural o antropogénico, afecta a áreas concretas de España. Actualmente, la legislación que regula la presencia de metales en el medio ambiente, y en especial en aguas naturales, considera las concentraciones totales de cada uno de ellos, sin tener en cuenta que muchos elementos metálicos pueden encontrarse en muestras medioambientales en una amplia variedad de formas químicas que se diferencian, además de por sus propiedades físicas y químicas, porque pueden poseer diversos efectos tóxicos sobre organismos vivos; por otro lado, los cambios en el grado de oxidación de un elemento pueden tener también un gran efecto en el grado de biodisponibilidad, siendo útil supervisar las diferentes formas químicas en las

que se encuentran (Ulrich, 1998, Prasada et al., 1998). Así, la necesidad de determinar las diferentes especies químicas en las que se encuentran los metales traza en las aguas y en los sistemas biológicos se hace imprescindible para conocer su toxicidad, biodisponibilidad, comportamiento biogeoquímico, así como el riesgo potencial de su presencia en los sistemas acuáticos.

Los primeros estudios, tras el accidente minero, se enfocaron hacia la evaluación de las concentraciones totales de metales en las aguas afectadas (www.cma.junta-andalucía.es/aznalcollar, Manzano et al., 1999), pero como ya se ha expuesto, esto no proporciona una medida amplia de la toxicidad y el posible impacto ambiental que pueden producir esos elementos en determinadas situaciones. De igual forma, tampoco proporcionan una guía completa sobre la movilidad o biodisponibilidad de los metales (Raisanen et al., 1992), ni sus posibles efectos sobre el medio ambiente (Quevauviller et al., 1994).

Puesto que existe esa relación entre la toxicidad de los metales pesados en el medio acuático y las formas químicas en la que se encuentren, el uso de un esquema de especiación que separe las especies químicas, o grupos de especies químicas, según su tamaño, carga, grado de oxidación o fuerza de enlace es una herramienta importante a la hora de conocer más profundamente el impacto producido por el vertido minero y sus consecuencias a largo plazo.

El objetivo principal de este trabajo fue la evaluación de la especiación química de los metales pesados en las aguas muestreadas, con el fin de determinar y diferenciar las formas químicas de éstos, presentes a nivel de trazas, en orden a estudiar sus potenciales tóxicos y bioacumulativos. Se estudió la distribución de cuatro metales pesados (Cd, Pb, Cu y Zn) presentes en los vertidos mineros. Se analizaron las aguas del Brazo de la Torre y del estuario del Guadalquivir, durante los años 2000 y 2001 posteriores al desastre, una vez que las autoridades españolas redujeron el impacto inicial del mismo a través de la retirada de los lodos y mediante diversas técnicas de remediación, con objeto de evaluar el impacto ambiental del desastre a medio plazo.

La especiación de los metales en la fase líquida se realizó a partir de los esquemas descritos en la bibliografía (Florence y Batley, 1980; Liu e Ingle, 1989; Florence et al., 1983) que se basan en una separación previa de las especies químicas distribuidas entre el material suspendido y la fase disuelta.

Posteriormente, las especies químicas disueltas se separan en diferentes fracciones, obteniéndose finalmente una distribución metálica que consta de: materia particulada, formas lábiles y moderadamente lábiles y fracción inerte, asociadas tanto a la materia orgánica como a compuestos de naturaleza inorgánica. De ellas, las formas químicas disueltas son más disponibles que las particuladas, y a su vez y dentro de ese primer grupo, las especies libres o que presentan asociaciones lábiles representan la mayor disponibilidad metálica en un ecosistema acuático. Por tanto, evaluar estas concentraciones permite conocer de forma más concreta el grado de contaminación del ecosistema en estudio y, sobre todo, su carácter potencialmente tóxico.

2. MATERIAL Y METODOS

Los muestreos se realizaron desde los barcos de la Consejería de Medio Ambiente (AMA-VI y AMA-V). Se seleccionaron seis puntos localizados en el estuario del Río Guadalquivir (GL1, GL2, GL4, GL5, GL6 y GL8) y 4 puntos en el Brazo de la Torre (BT1, BT4, BT5 y BT6) en la desembocadura del Río Guadiamar (Figura 1) (denominación utilizada por la Consejería de Medio Ambiente).

La toma de muestra se realizó durante los años 2000 (abril y diciembre) y 2001 (marzo y octubre), durante las estaciones de primavera y otoño con objeto de poder

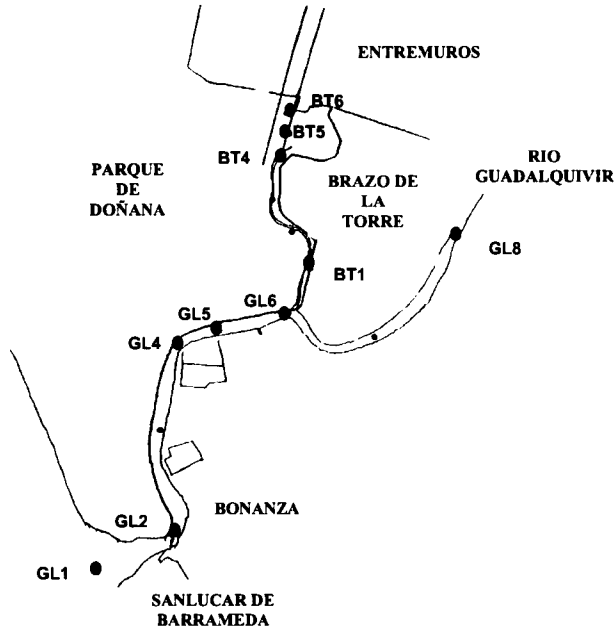


Figura 1. Mapa orientativo de los puntos de toma de muestra

establecer variaciones espacio-temporales en los niveles metálicos.

Durante el primer año la especiación realizada diferenció las especies metálicas particuladas y disueltas. Durante el segundo año, y una vez conocidos los niveles existentes para estos metales, ese estudio se amplió utilizando uno de los esquemas de especiación más completos establecidos en la bibliografía (Figura 2), basado fundamentalmente en los de Florence y Batley (Florence et al., 1983; Batley, 1987) determinándose los blancos para cada una de las fases establecidas.

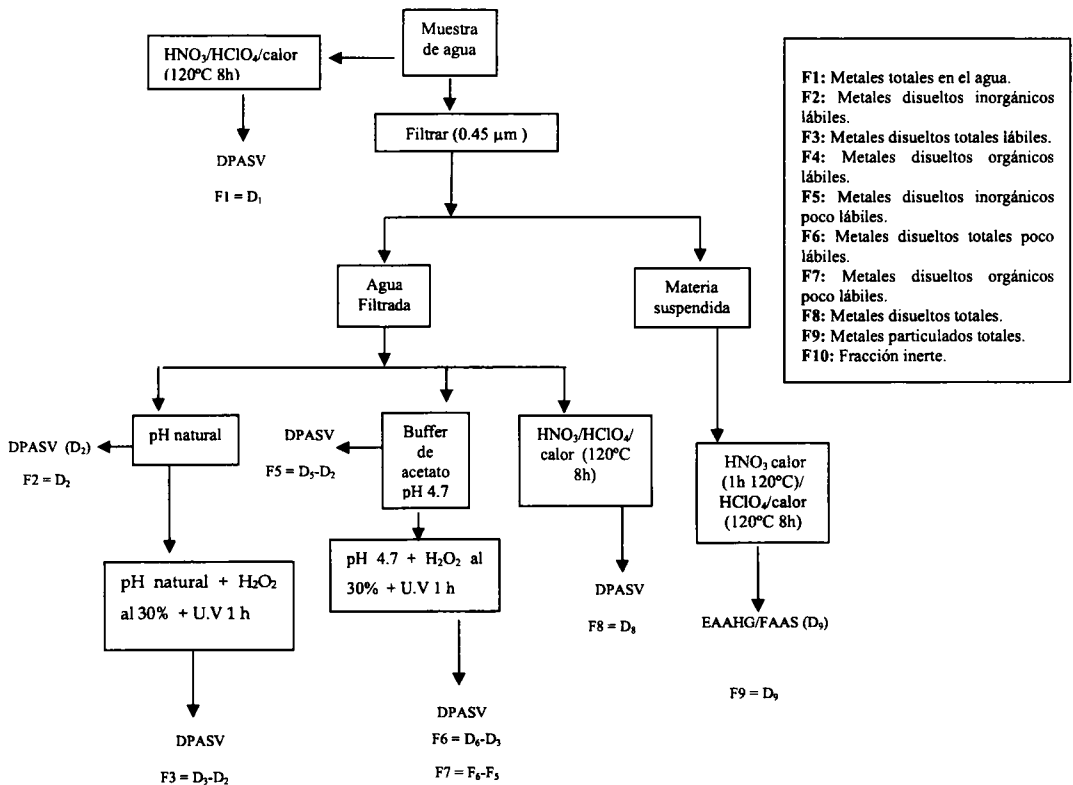


Figura 2. Esquema de especiación de metales en aguas

Las muestras de agua fueron tomadas a una profundidad de 0.30-0.50 m desde la superficie, en continuo mediante bomba peristáltica y aquellas que requerían ser 3/ filtradas lo fueron in situ mediante filtros de 0.45 µm (Calyx Capsule MSI 8'' barb,1/PK, polipropileno, Illinois, USA).

Las muestras fueron depositadas en recipientes de polietileno y llevadas en bolsas de plástico, en frío, hasta el laboratorio donde en campanas de flujo laminar clase 100 (Crumair 9005-FL, Crumair, España) fueron tratadas según era requerido por cada fase del procedimiento de especiación. Posteriormente fueron almacenadas en oscuridad y a -20 °C hasta su análisis.

Se determinaron in situ parámetros tales como salinidad, pH y oxígeno disuelto de las aguas, usando una sonda multiparamétrica Sension-156 pH/DO/mV/T

(HACH, USA) y la materia en suspensión y su contenido en materia orgánica fueron determinados gravimétricamente después de la filtración de las aguas.

La materia suspendida fue aislada de las muestras en las 6-8 horas siguientes al muestreo, empleando para ello filtros de celulosa de 0.45 μm (Millipore HAWP04700, USA).

Las digestiones ácidas se realizaron en material de teflón mientras que las digestiones con radiación UV se realizaron en tubos de cuarzo usando un equipo digestor Metrohm modelo 705 UV (Herisau, Switzerland).

Todo el material fue sometido a un lavado ácido con HNO_3 y mantenido en condiciones de ultralimpieza (ALLEN 2000). Los reactivos utilizados fueron de pureza Suprapur o para análisis y para las disoluciones se empleó agua desionizada con $18 \text{ M}\Omega\text{cm}^{-1}$.

Para los análisis se usaron diferentes técnicas de análisis según la fase del proceso de especiación: la técnica voltamétrica empleada fue el análisis por redisolución anódica diferencial de impulso (DPASV) con un equipo 747 VA Trace Analyzer y los análisis por espectroscopía de absorción atómica se llevaron a cabo con un equipo Solaar Serie M provisto de atomización con llama y módulo de Horno de Grafito GF95Z (Unicam, UK).

Las técnicas de análisis fueron validadas con el material certificado referencia NIST-1646a para la materia particulada y LGC6016 para los metales disueltos.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Concentración de metales totales en las aguas del Estuario del Guadalquivir y el afluente Brazo de la Torre

El efecto inmediato del vertido minero de Aznalcóllar, sobre las aguas objeto de estudio, fue evaluado en trabajos previos (Achterberg et al., 1999; Palanques et al., 1999; Van Geen et al., 1999; Gómez-Parra et al, 2000). En todos ellos se reflejó la presencia de altos valores de concentración de metales, tanto en la fase disuelta como en la particulada, principalmente Zn, Cd y Pb, con respecto a los valores datados previos al accidente. Sin embargo, a partir de los niveles totales analizados en este trabajo (Figura 3, suma de los contenidos disueltos y particulados) se observó una disminución de los mismos, desde el 2000 al 2001, siendo por último más parecidos a los encontrados con anterioridad al desastre para esta zona. Este hecho se confirma con el enriquecimiento superficial de algunos metales en el Brazo de la Torre y en el río Guadalquivir, ya descritos en la bibliografía (Riba et al., 2002), con altos valores en los sedimentos de la confluencia de ambos ríos, principalmente para Zn. Por otro lado, es importante recordar que las aguas del Golfo de Cádiz poseen altos niveles de metales traza con respecto a los encontrados en otras áreas costeras (Achterberg et al., 1999), debido a la influencia de la cuenca pirítica Ibérica y las actividades mineras (pirita y cobre) que tradicionalmente se desarrollaron en la zona desde la época romana, factor que influye de forma decisiva en el establecimiento de niveles guía para la zona.

De los datos obtenidos en este trabajo se observó cierta estacionalidad en los valores de concentraciones metálicas, siendo superiores en primavera en comparación con los niveles de otoño, relacionada con un mayor caudal de los cauces que puede producir procesos de resuspensión metálica.

■ Metal disuelto

■ Metal particulado

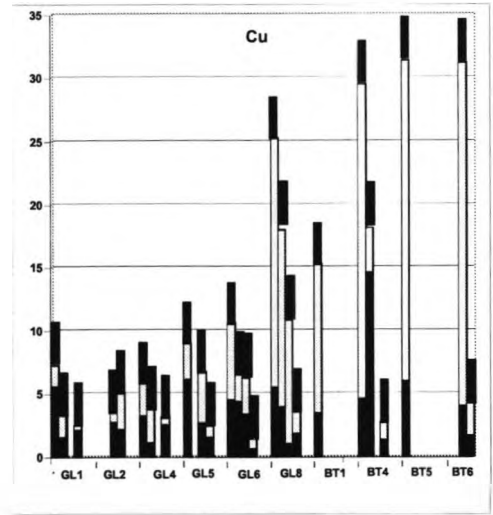
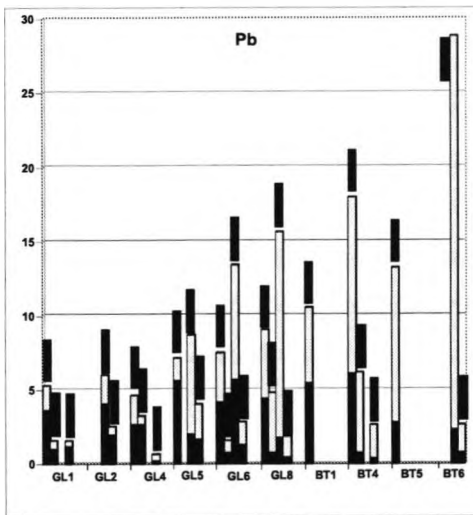
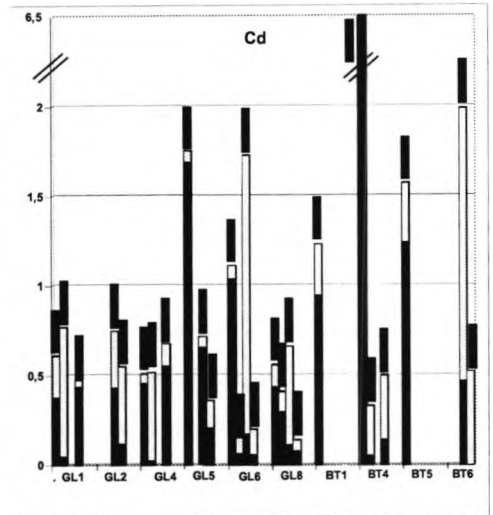
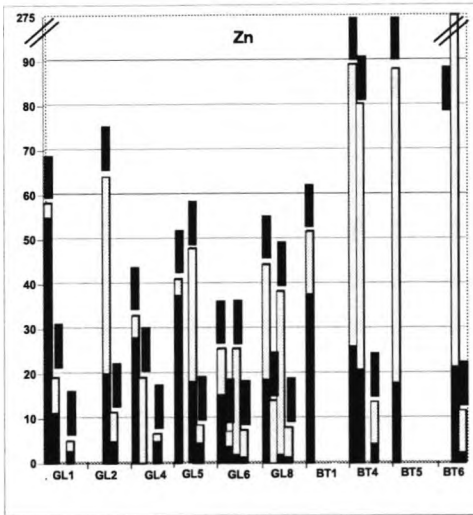


Figura 3. Concentración de metales disueltos y particulados ($\mu\text{g l}^{-1}$) (en las estaciones del Estuario del Guadalquivir y el afluente del Brazo de la Torre (primavera y otoño 2000-2001))

El análisis del contenido total metálico para cada elemento analizado detectó de forma general mayores valores en el Brazo de la Torre que en el estuario del Guadalquivir, con algunas excepciones para Cd. Esa disminución en la confluencia confirma por tanto el enriquecimiento de los sedimentos tras la precipitación metálica en esa zona, anteriormente citado.

Por otro lado, las mínimas concentraciones metálicas detectadas en los puntos de muestreo estudiados estuvieron asociadas a valores de mayor salinidad, debido a procesos de adsorción-precipitación sobre la materia en suspensión y/o la materia orgánica, efecto que se produce a través de la progresiva dilución de las aguas fluviales con las marinas. Además y salvo algunas excepciones, la línea de tendencia reflejó un comportamiento no conservativo.

Analizando los valores encontrados en el punto utilizado para comparar con las aguas que bajan del Guadalquivir, anterior a la confluencia con el Brazo de la Torre (GL8), se detectó un aporte significativo de Cu procedente de las aguas fluviales del río, produciéndose también en las aguas de Brazo de la Torre. Así, los aportes de este metal a la desembocadura no estaban únicamente producidos por efecto del accidente, por lo que el Río Guadalquivir constituía un foco de Cu para el estuario, paralelo al foco puntual del accidente minero.

Progresivamente este metal fue quedando retenido en los sedimentos del estuario hasta la desembocadura. Este efecto se detectó también para el Pb pero en menor extensión.

3.2. Especiación metálica con dos fracciones: contenidos disueltos y asociados a la materia particulada

En general, el contenido metálico en el Brazo de la Torre fue ligeramente superior en la fase particulada, lo que representaba una tendencia de los metales aportados por este río a eliminarse a través de su incorporación en el sedimento (Figura 3). No obstante, hay que destacar que para el primer muestreo en el caso

del Cd esta tendencia fue inversa, siendo más elevado el Cd disuelto, lo que implicaba una mayor disponibilidad inicial. Probablemente, esto fuera debido, al mayor efecto del desastre sobre los valores de este metal en fechas más cercanas al mismo.

En el Río Guadalquivir estas diferencias entre contenidos particulados y disueltos fueron menores, aunque se detectaron en zonas cercanas a la influencia del Brazo de la Torre mayores niveles de Cd, Zn y parcialmente de Pb disueltos en la primera primavera, con un cambio totalmente contrario en la segunda, donde los niveles particulados fueron superiores. Por tanto, la influencia potencialmente más peligrosa que el accidente produjo en las aguas con ciertos contenidos disueltos fue paliada en el segundo año.

En el caso del Cu, la influencia del Brazo de la Torre, como ya se ha mencionado no es más significativa que la procedente del Río Guadalquivir y sobre todo influye en el Cu particulado.

3.3. Especiación metálica: cinco fracciones metálicas

La aplicación del esquema de especiación propuesto en la Figura 2 permitió fraccionar los contenidos metálicos en las siguientes fracciones: metal disuelto lábil (inorgánico y orgánico), metal moderadamente lábil (inorgánico y orgánico) y fracción inerte. Los resultados obtenidos se han representado en la Figura 4. La falta de estudios de especiación previos al desastre ha imposibilitado realizar una comparación de los mismos con la situación de las aguas anterior al desastre acaecido en Abril del 1998.

En las aguas del Brazo de la Torre se encontraron las siguientes distribuciones:

- a. Para el Zn la fracción inorgánica poco lábil fue la más significativa, reflejando el proceso de precipitación que sucedía en esta zona y que contribuyó a un menor

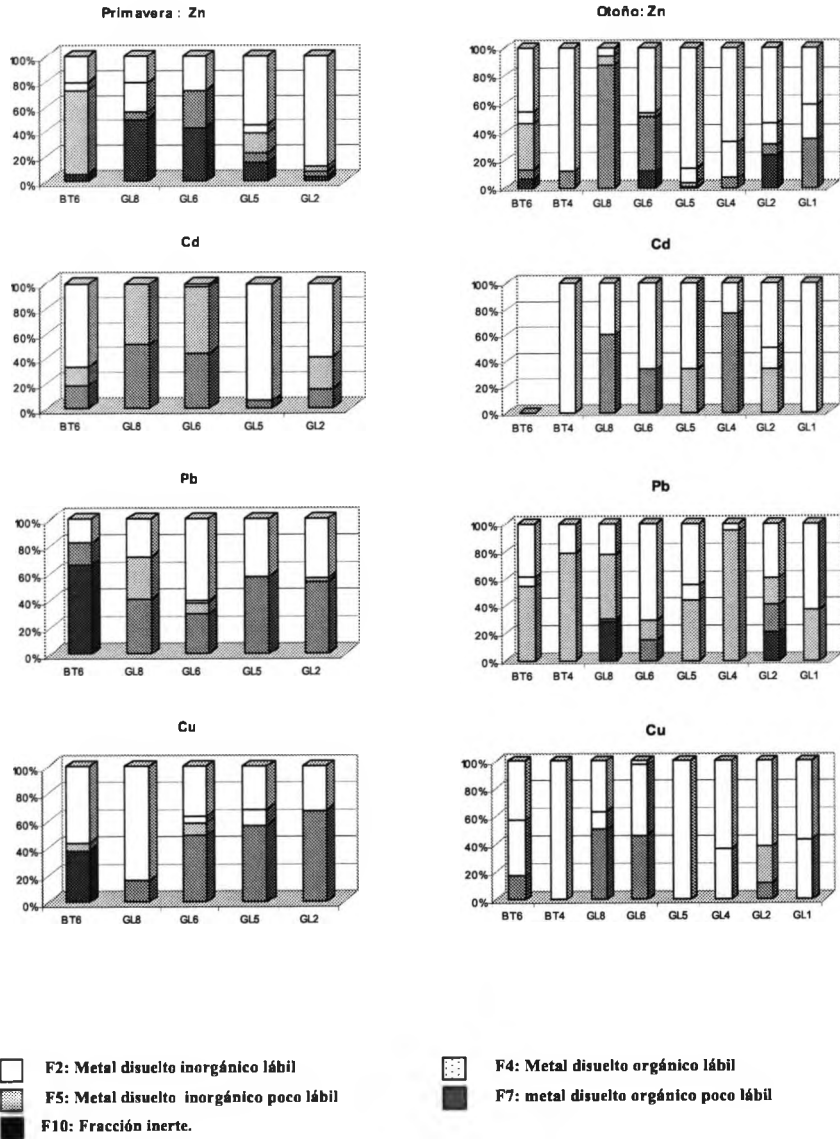


Figura 4. Distribución de los metales estudiados según el esquema de especiación utilizado en las aguas de las estaciones del Estuario del Guadalquivir y el afluente Brazo de la Torre (primavera y otoño 2001)

aporte de metales al estuario. Cuando disminuyó la cantidad de Zn (en otoño), esta fase se hizo menos significativa.

- b. En el caso del Cd el mayor porcentaje se encontraba asociado con la fase residual, lo que puede indicar una inertización del aporte significativo que sufría el estuario en el año anterior.
- c. Los niveles de Pb disuelto fueron ligeramente superiores en primavera, después de fenómenos de resuspensión y solubilización, presentando niveles de metal muy lábil considerables. En otoño, la disminución en los contenidos de Pb sucedió de forma paralela al incremento del porcentaje de las formas poco lábiles inorgánicas, disminuyendo la disponibilidad de este metal tóxico.
- d. El Cu lábil encontrado en las aguas en primavera no representó un porcentaje tan elevado como para el Pb pero fue igualmente destacado, sobre todo por su total disponibilidad. No obstante, durante el otoño, estos niveles disminuyeron, siendo más significativa la fracción metálica asociada a formas poco lábiles de naturaleza orgánica, así como a la fracción inerte.

En las aguas del Río Guadalquivir los valores de especiación reflejaron las siguientes conclusiones:

- a. El contenido en Zn presentó un considerable porcentaje de metal lábil, pasando a la fracción inerte al aumentar la salinidad. En otoño, después de la estación cálida, el Zn en el río se asoció a la materia orgánica de forma lábil y hacia el estuario se fue transformando en asociaciones orgánicas más estables y como Zn inerte.
- b. El Cd encontrado aguas arriba del Río Guadalquivir estaba asociado en parte lábilmemente a la materia orgánica. La fracción menos disponible se encontraba como compuestos orgánicos estables en primavera o en la fracción inerte en otoño. No obstante, conviene recordar que los valores absolutos en las estaciones GL8 y GL6 no fueron muy elevados.

- c. El contenido en Pb disuelto fue mayor en primavera que en otoño, aunque su disponibilidad fue ligeramente menor que en el Brazo de la Torre pues se incrementó el porcentaje de metal asociado a especies lábiles orgánicas. En otoño, con menor concentración aún se hizo más estable asociado a especies inorgánicas poco lábiles, como ocurría en el Brazo de la Torre.
- d. El Cu al igual que el Pb se encontraba en primavera asociado a compuestos orgánicos lábiles. La disminución de Cu en otoño estuvo asociada con un mayor porcentaje de Cu inerte, al igual que sucedió en el Brazo de la Torre y cierto porcentaje en la materia orgánica poco lábil.

Por último destacar que en la confluencia del Brazo de la Torre con el Guadalquivir, la influencia de las aguas procedentes del desastre minero influyeron en la disponibilidad de los metales en:

- GL5 con un aumento de la fase inorgánica poco lábil y fundamentalmente en primavera de Zn.
- GL5 con la presencia de Cd en la fracción inerte en primavera y un poco antes en GL6 en otoño, debido probablemente a un menor caudal estacional que enlenteció el desplazamiento de este frente metálico.
- Para Pb la influencia del Brazo de la Torre sobre la especiación de los metales en el estuario no fue la única, pues influyó de forma significativa el río; esa influencia se hizo más notable en otoño en GL5, época de menores flujos fluviales.
- En GL5 en otoño para Cu asociado a la fracción inerte. Los aportes de este metal realizados en primavera, cuando llegaron al estuario se complejaron de forma rápida y lábil con la materia orgánica.

Las fracciones metálicas con un mayor porcentaje en los contenidos disueltos para cada punto de muestreo se han recogido en la Tabla 1. De ellas, las especies libres o que presentan asociaciones lábiles orgánicas representan la mayor disponibilidad

Tabla 1. Fase con mayor porcentaje de contenido metálico disuelto en cada punto de muestreo (destacan los puntos analizados con mayor disponibilidad metálica)

Estación	Primavera 2001			
	Zn	Cd	Pb	Cu
BT6	Metal disuelto inorgánico poco lábil	Fracción inerte	Metal disuelto inorgánico lábil	Fracción inerte
GL8	Metal disuelto inorgánico lábil	Metal disuelto orgánico lábil	Metal disuelto orgánico lábil	Fracción inerte
GL6	Metal disuelto inorgánico lábil	Metal disuelto inorgánico poco lábil	Fracción inerte	Metal disuelto orgánico lábil
GL5	Fracción inerte	Fracción inerte	Metal disuelto orgánico lábil	Metal disuelto orgánico lábil
GL2	Fracción inerte	Fracción inerte	Metal disuelto orgánico lábil	Metal disuelto orgánico lábil

Estación	Otoño 2001			
	Zn	Cd	Pb	Cu
BT6	Fracción inerte	---	Metal disuelto inorgánico poco lábil	Fracción inerte
BT4	Fracción inerte	Fracción inerte	Metal disuelto inorgánico poco lábil	Fracción inerte
GL8	Metal disuelto orgánico lábil	Metal disuelto orgánico lábil	Metal disuelto inorgánico poco lábil	Metal disuelto orgánico lábil
GL6	Fracción inerte	Fracción inerte	Fracción inerte	Metal disuelto orgánico poco lábil
GL5	Fracción inerte	Metal disuelto orgánico poco lábil	Fracción inerte	Fracción inerte
GL4	Fracción inerte	Metal disuelto orgánico lábil	Metal disuelto inorgánico poco lábil	Fracción inerte
GL2	Fracción inerte	Fracción inerte	Fracción inerte	Fracción inerte
GL1	Fracción inerte	Fracción inerte	Metal disuelto orgánico poco lábil	Fracción inerte

metálica para cada punto de muestreo. Cabe destacar que en forma de metal disuelto inorgánico lábil con el máximo potencial tóxico, únicamente se encontró Zn en GL8 y GL6 y Pb en BT6, y sólo en el primer muestreo donde se hizo especiación, reflejando posiblemente cierta influencia del desastre minero, pero también con influencias de aportes de las aguas del río Guadalquivir.

Las siguientes fracciones lábiles en forma de complejos orgánicos correspondieron sobre todo a Pb y Cu. En el caso de Cd esto sucedió de forma puntual en GL8.

En otoño, los metales sólo fueron disponibles como complejos orgánicos lábiles y se encontraron únicamente en dos estaciones, GL8 para Zn, Cd y Cu y GL4 para Cd, pudiendo observarse como la disponibilidad metálica se había reducido considerablemente y como ésta dependía menos de los aportes del Brazo de la Torre.

4. CONCLUSIONES

En este estudio se detectó la influencia del vertido minero sobre los contenidos metálicos disueltos en las aguas que fue paliándose por precipitación en el segundo año muestreado. Igualmente se encontraron diferencias significativas en las fracciones metálicas estudiadas en las aguas del Estuario del Río Guadalquivir y el Brazo de la Torre entre la primavera y el otoño del 2001, disminuyendo la disponibilidad de los metales estudiados con el tiempo de forma destacada.

Se detectaron pocos puntos de muestreo con el máximo potencial tóxico (Zn en GL8 y GL6 y Pb en BT6) sólo en primavera de 2001 y algunos en forma de complejos orgánicos lábiles sobre todo para Pb y Cu, reflejando la influencia del vertido minero y lógicamente de las aguas del Río Guadalquivir en las aguas del estuario.

En cualquier caso estas especies disponibles, sobre todo durante el segundo año, pasaron a formar parte de complejos poco lábiles o de la fracción inerte disminuyendo considerablemente su disponibilidad.

Por último, la existencia de fracciones inertes representativas en la distribución de los metales disueltos analizados confirma la tendencia de los mismos a ser eliminados de la columna de agua para ser incorporados a los sedimentos, lo que produce su enriquecimiento. Por tanto, tanto los contenidos metálicos presentes en las aguas como en los sedimentos del estuario deberían de ser investigados durante los próximos años al objeto de seguir su evolución en este ecosistema, el cual durante los años analizados comenzaba a regular esos niveles metálicos de sus aguas derivados del desastre minero, pues se hace necesario conocer los posibles riesgos de removilización y de biodisponibilidad que puedan proceder de esos sedimentos.

5. REFERENCIAS

- Anónimo.(1998) Accidente minero de Aznalcóllar y repercusiones ecológicas en el entorno de Doñana . Junta Andalucía Datos analíticos. www.cma.junta-andalucia.es/aznalcollar/.
- Achterberg EP, Braungardt C, Morley NH, Elbaz-Poulichet F, Leblanc M (1999) Impact of los Frailes mine spill on riverrine, estuarine and coastal waters in southern Spain. *Wat Res* 33(16): 3387-3394
- Allen HE (2000) Importance of clean techniques and speciation in assessing water quality for metals. *Hum Ecol Risk Asses* 6(6):989-1002
- Battley GE (1987) Heavy metal speciation in waters, sediments and biota from lake Macquarie, New South Wales. *Aust J Mar Freshwater Res* 38:591-606
- Florence TM, Batley GE (1980) Chemical speciation in natural waters . *Critical Rev Anal Chem* 9(3):219-296
- Florence TM, Lumsden BG, Fardy JJ (1983) Evaluation of some physico-chemical techniques for the determination of the fraction of dissolved copper toxic to the marine diatom *Nitzschia Closterium*. *Anal Chim Acta*, 151: 281-295

- Gómez-Parra A, Forja JM, Delvalls TA, Saenz I, Riba I (2000) Early contamination by heavy metals of the Guadalquivir estuary after the Aznalcollar mining spill (SW Spain). *Mar Poll Bull* 40(12) : 1115-1123
- Grimalt JO, Macpherson E (1999) The mine tailing accident in Aznalcollar. *Sci Total Environ* 242(1-3): 3-11
- Liu Y, Ingle JD (1989) Measurement and compensation for metal complex dissociation in speciation studies with an automated two-column ion-exchange system. *Anal Chim Acta* 222: 279-289
- Manzano M, Ayora C, Doménech C, Navarrete P, Garralon A, Turmero MJ (1999) The impact of the Aznalcollar mine tailing spill on groundwater. *Sci Total Environ* 242(1-3): 189-209
- Palanques A, Puig P, Guillen J, Querol X, Alastuey (1999) Zinc contamination in the bottom and suspended sediments of the Guadalquivir estuary after the Aznalcollar spill (south-western Spain). Control of hydrodynamic processes. *Sci Total Environ* 242(1-3): 211-220
- Prasada RT, Karthikeyan S, Vijayalekshmy CSP (1998) Speciative determination of chromium (VI) and chromium (III) using flow-injection on-line preconcentration and flame atomic-absorption spectrometric detection. *Anal Chim Acta* 369: 69-77
- Quevauviller P, Rauret G, Muntau, H, Ure AM, Rubio R, Lopez-Sanchez JF, Fiedler HD, Griepink B (1994) Evaluation of a sequential extraction procedure for the determination of extractable trace metal contents in sediments. *Fresenius J Anal Chem* 349(12): 808-814
- Rainsanen M, Hamalainen L, Westerberg LM (1992) Selective extraction and determination of metals in organic stream sediments. *Analyst* 117(3): 623-627
- Riba I, Delvalls TA, Forja JM, Gómez Parra A (2002) Influence of the Aznalcóllar mining spill on the vertical distribution of heavy metals in sediments from the Guadalquivir estuary (SW Spain). *Mar Poll Bull* 44: 39-47
- Ulrich N (1998) Speciation of antimony (III), antimony (V) and trimethylstilboxide by ion chromatography with ICPAES and MS detection. *Anal Chim Acta* 359: 245-253
- Van Geen A, Takesue R, Chase Z (1999) Acid mine tailings in southern Spain. *Sci Total Environ* 242(1-3) 221-229

Acumulación y fraccionamiento geoquímico de metales pesados en sedimentos del estuario del Guadalquivir

Sáenz, I., Riba, I., Forja, J.M., DelMls, T.A. y Gómez-Pa rra, A.

Departamento de Química Física. Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales.
Campus Río San Pedro, s/n. 11510, Puerto Real, Cádiz (Spain)

1. INTRODUCCIÓN

La contaminación por metales pesados de sedimentos, suelos y aguas constituye una de las mayores amenazas para la calidad ambiental y la salud humana. A menudo se ha afirmado que el sedimento es el sumidero o reservorio más importante de metales y otros contaminantes procedentes de distintas fuentes (Salomons y Förstner, 1984). Los metales traza tóxicos liberados a los sistemas acuáticos se unen generalmente al material particulado, que eventualmente se asienta incorporándose a los sedimentos. Sin embargo, algunos de estos metales unidos al sedimento pueden removilizarse y liberarse de nuevo a las aguas cuando se producen cambios en las condiciones ambientales que provocar efectos adversos sobre los organismos vivos.

Se sabe que el conocimiento de las concentraciones totales no proporciona suficiente información a la hora de evaluar la capacidad de los sedimentos de actuar como fuente de metales potencialmente tóxicos. La importancia biogeoquímica y toxicológica de un determinado elemento está determinada no sólo por su concentración en el ecosistema, sino también por la forma en la que se encuentra, que está, en definitiva, controlada por las características físicas, químicas y biológicas del sistema (Kersten y Förstner, 1990).

La extracción secuencial, como forma de fraccionar los metales u otros elementos presentes en muestras sólidas en varios grupos de diferente labilidad

se ha utilizado ampliamente para determinar la distribución de los metales en distintas fases o formas químicas. Aunque los procedimientos empleados son generalmente largos y tediosos, los resultados obtenidos pueden proporcionar información detallada acerca del origen y destino de los metales en el ambiente.

En este capítulo se resumen los resultados obtenidos en una serie de estudios, llevados a cabo sobre sedimentos del estuario del Guadalquivir y del Brazo de la Torre, entre mayo de 1998 y junio de 2001. Los diferentes estudios abordan cuestiones tales como la determinación del impacto inicial del accidente de Aznalcóllar sobre los sedimentos de la zona, mediante la determinación de concentraciones totales y el uso del procedimiento de extracción secuencial propuesto por Tessier et al. (1979), distribuciones verticales de metales pesados en diferentes estaciones, y la determinación de los niveles de contaminación de la zona, tanto en 1998, como en el año 2001.

2. METODOLOGÍA

2.1. Descripción de la zona de estudio

El estuario del Guadalquivir está sometido a un régimen de marea semidiurno cuya amplitud media decrece desde 1.02 m en la desembocadura hasta 0.82 m en la confluencia con el Guadiamar, su último río tributario (Fig. 1). El caudal de estiaje del río Guadalquivir es de unos $60 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$, aunque en épocas de fuertes lluvias puede llegar a superar los $5000 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$. Desde un punto de vista fisiográfico se caracteriza por presentar una batimetría prácticamente constante, con una profundidad media en bajamar escorada en torno a los 5 m. El tramo final del estuario ha sido fuertemente alterado por la actividad humana, que ha eliminado los meandros y ha hecho que su anchura sea muy uniforme (aproximadamente 400 m). Estas circunstancias favorecen la propagación de la onda de marea y la evacuación de las riadas que regularmente se producen en él. Por este motivo, el estuario está sometido a un fuerte régimen hidrodinámico que hace que sus aguas presenten una elevada turbidez y que la naturaleza de sus sedimentos sea predominantemente arenosa. En Gallart et al. (1999) y Alastuey

et al. (1999) puede encontrarse información adicional acerca del estuario del Guadalquivir.

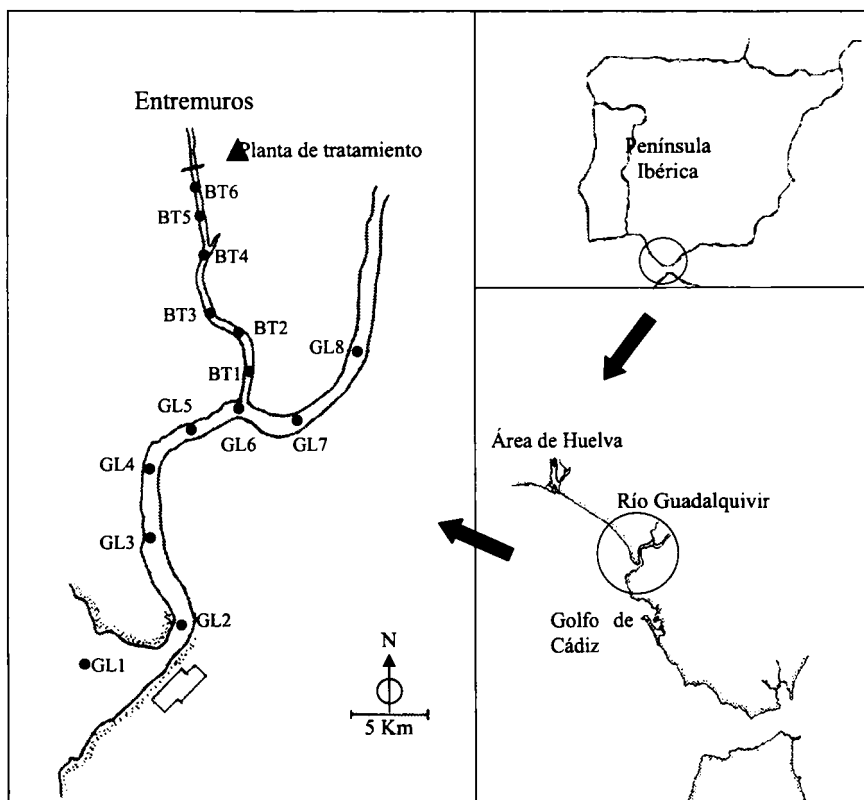


Figura 1. Localización de las estaciones de muestreo.

Para el estudio de los sedimentos se seleccionaron diferentes estaciones de muestreo, cuya localización se muestra en la figura 1.

2.2. Procedimientos analíticos

Con objeto de obtener resultados fiables, se tomó la máxima precaución para evitar la contaminación, de forma que todo el material en contacto con las muestras, durante las etapas de muestreo y procesamiento, siguió el protocolo de limpieza y almacenamiento propuesto por Baeyens et al. (1998).

Las muestras de sedimento superficial para la determinación de metales, granulometría y carbono orgánico se recogieron utilizando una draga Van Veen con una superficie efectiva de muestreo de 0.024 m². La penetración máxima de la draga se estimó en 10 cm y se descartaron todas aquellas muestras que no alcanzaron un mínimo de 2/3 del volumen de la draga. El contenido de las dragas se mantuvo refrigerado durante las campañas. Para determinar la concentración de metales a distintas profundidades en la columna de sedimento se recogieron testigos de sedimento que fueron tomados por buzos, por medio de tubos de metacrilato (sobre los que se realizaron las determinaciones del potencial redox) o PVC, de 60 y 40 mm de diámetro interno, respectivamente. Los testigos se transportaron verticalmente y, en la misma posición, se congelaron a -20 °C en un plazo no superior a 4-5 horas desde que fueron tomados. No se consideraron aquellos testigos en los que se observaron alteraciones en su superficie antes de su descongelación para ser procesados.

Los testigos se cortaron en secciones de un cm de espesor que se secaron a 80 °C hasta peso constante. Posteriormente, cada sección se molturó con un molino de bolas de óxido de zirconio (FRITSCH) durante 15 minutos. A continuación se tamizó a través de un tamiz de 63 µm y la fracción que pasó fue la que posteriormente se utilizó para los distintos análisis.

2.2.1. Concentraciones totales de metales

Para la determinación de la concentración total de metales se realizó una disolución total de las muestras utilizando el método descrito por Loring y Rantala (1992).

La determinación de Zn, Cd, Pb y Cu en el sedimento se llevó a cabo por voltamperometría de redisolución anódica con un equipo Metrohm VA 646 con Stand VA 647. El electrodo de trabajo (Metrohm, 6.1246.020) se utilizó en el modo HMDE (electrodo de gota de mercurio colgante). El método seguido para la determinación de metales se basa en la optimización realizada por Ponce et al. (2000) y cada análisis se realizó por duplicado.

Para la cuantificación se utilizó el método de las adiciones estándar. Las señales correspondientes tanto a las muestras, como después de cada adición, se obtuvieron por duplicado utilizando barridos independientes. Bajo estas condiciones y para los intervalos de concentración encontrados en este trabajo, la precisión obtenida en la medida de patrones externos fue de $\pm 2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para el Zn, $\pm 0.06 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para el Cd, $\pm 0.3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para el Pb y $\pm 0.6 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para el Cu. Esta técnica tiene unos límites de detección típicos de $1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para el Zn y el Pb, y de $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para el Cu y el Cd.

La validez del tratamiento de digestión del sedimento, así como la exactitud y precisión del método analítico, han sido contrastados mediante la utilización de material de referencia. En este caso se utilizaron el MESS-1, elaborado y certificado por el National Research Council of Canada (sedimento estuárico) y el CRM-277, de la Community Bureau of Reference. En las Tablas 1 y 2 se puede apreciar la bondad de los porcentajes de recuperación obtenidos.

Tabla 1. Resultados obtenidos de los análisis del material de referencia MESS-1. (Concentraciones en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).

Metal	Valor certificado	Mor medido	Recuperación (%)
Zn	191 \pm 17	184 \pm 18	96.33
Cd	0.59 \pm 0.10	0.67 \pm 0.11	113.56
Pb	34.0 \pm 6.1	36.8 \pm 5.3	108.24
Cu	25.1 \pm 3.8	26.0 \pm 6.2	103.58

Tabla 2. Resultados obtenidos de los análisis del material de referencia CRM-277. (Concentraciones en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).

Metal	Mor certificado	Mor medido	Recuperación (%)
Zn	547 \pm 12	496 \pm 20	90.68
Cd	11.9 \pm 0.4	11.8 \pm 1.9	99.16
Pb	146 \pm 3	111 \pm 13	76.03
Cu	101.7 \pm 1.6	106.9 \pm 1.9	105.11

2.2.2. Fraccionamiento geoquímico de metales en sedimentos

Considerado como un sistema multicomponente, el sedimento es un complejo sistema que actúa como un reactor físico, químico y biológico que hace que la evaluación del comportamiento de contaminantes sea una cuestión difícil. En el caso de los metales pesados, los científicos se han interesado fundamentalmente en la predicción de su movilidad y disponibilidad biológica. Se sabe que el conocimiento de las concentraciones totales no proporciona suficiente información para el desarrollo de este propósito, y la biodisponibilidad y movilidad de los metales en sedimentos se determina por las formas químicas en las que se presentan. Estas formas químicas pueden determinarse por métodos instrumentales directos, como la microscopía electrónica de barrido / microanálisis de energía dispersiva (SEM / EDX), ciertas técnicas de rayos-X o espectroscopía vibracional (Glidewell y Goodman, 1994), o mediante métodos no instrumentales indirectos basados en constantes condicionales de equilibrio y procedimientos de extracción secuencial (Oakley et al., 1981). Los métodos instrumentales son generalmente de aplicación limitada, debido a su poca sensibilidad a las concentraciones comparativamente bajas (menores de %) de metales que son relevantes a nivel ambiental, y a la naturaleza frecuentemente no estequiométrica de estas especies (Glidewell y Goodman, 1994). Los cálculos basados en constantes de equilibrio condicionales presentan una pequeña aplicación práctica en estos sistemas, debido a la amplia variabilidad de estas “constantes” entre ligandos naturales (Oakley et al., 1981). Como una técnica alternativa prometedora, las extracciones químicas se han aplicado ampliamente en tres áreas principales: investigación físico-química y mineralógica en Geoquímica, evaluación de la movilización potencial de metales debido a cambios ambientales en Química Ambiental y estudios de correlación entre contenidos de metales en extractos y en marcadores biológicos. La extracción secuencial, como forma de fraccionar los metales u otros elementos presentes en muestras sólidas en varios grupos de diferente labilidad se ha utilizado ampliamente para determinar la distribución de los metales en distintas fases o formas químicas. A pesar de que los procedimientos empleados son

generalmente tediosos y consumen un gran tiempo, los resultados pueden proporcionar información detallada acerca del origen y destino de los metales en el ambiente. El desarrollo y el uso de este tipo de esquemas de extracción tienen sus inicios a finales de los 70 y tenían como objetivo la evaluación de las fracciones de metal disponibles para las plantas (y estimar, por tanto los efectos fitotóxicos relacionados) y los metales traza accesibles para el medio ambiente.

Los mecanismos principales de acumulación de metales en el sedimento dan lugar a la existencia de cinco formas geoquímicas en las que se presentan los metales (Tessier et al., 1979; Salomons et al., 1988): (1) intercambiables; (2) unidos a la fase carbonatada; (3) asociados a óxidos de hierro y manganeso; (4) asociados a materia orgánica; y (5) fase residual. Estas fracciones presentan diferente movilidad, biodisponibilidad y comportamiento químico. Por tanto, será necesario identificar y cuantificar las formas de los metales, con objeto de evaluar los impactos ambientales de sedimentos contaminados.

Existen numerosos procedimientos de extracción secuencial, que difieren tanto en las fases que determinan, como en los agentes, temperaturas y tiempos de extracción empleados.

Hasta la fecha, el protocolo de extracción secuencial más ampliamente utilizado ha sido el de Tessier et al. (1979). A pesar de que este procedimiento se ha aplicado extensivamente a sedimentos acuáticos y suelos, existen varios aspectos de éste y de otros procedimientos de extracción secuencial actualmente disponibles, que se encuentran sujetos a controversia. Estas limitaciones (Clark et al., 2000) son las siguientes:

- a) Las reacciones, o no son completamente selectivas, o no son completamente efectivas.
- b) La eficiencia de la extracción depende de la duración del experimento.
- c) El cociente material sólido / volumen del agente de extracción afecta a los resultados obtenidos (Förstner, 1989).

d) La distribución del tamaño de grano y la mineralogía del sedimento pueden afectar a la efectividad de las extracciones.

e) Las fases lábiles pueden transformarse durante la preparación de las muestras (por ejemplo, oxidación de sulfuros) o los metales pueden redistribuirse entre otras fracciones del sedimento durante la extracción (Raksataya et al., 1996). Este problema es función tanto de la naturaleza del esquema de extracción como del propio metal investigado. Para algunos metales es aparentemente insignificante, mientras que para otros puede ser bastante notable. En el caso del Pb, se observó en el trabajo de Raksataya et al. (1996), que utilizando el esquema de Tessier et al. (1979) la mayor recuperación de este metal se producía en la etapa de reducción, mientras que utilizando el esquema BCR, esta mayor recuperación se producía en la etapa de oxidación. Podría incluirse aquí la posible oxidación de sedimentos anóxicos debido a los reactivos utilizados en el proceso de extracción (Ngiam y Lim, 2001). Se ha encontrado que cuando se oxida un sedimento anóxico, los metales se liberan desde la fase sulfurosa al agua intersticial y se distribuyen entre el resto de las fases geoquímicas. Por tanto, existirá un descenso en el contenido metálico de la fase sulfurosa/orgánica y un incremento en el de las otras fases del patrón de especiación. Estos mismos autores sugieren que para solventar este problema, el procedimiento de extracción secuencial utilizado para la especiación de sedimentos anóxicos debería complementarse con la determinación de metales extraídos simultáneamente (SEM) y sulfuros volátiles ácidos (AVS).

Bemond (2001) concluye en uno de sus trabajos que el pH y sus cambios es probablemente uno de los mayores parámetros que explican algunos de los problemas no resueltos en la aplicación de los procedimientos de extracción secuencial, como la no selectividad de los agentes de extracción y la potencial redistribución de los metales entre las fases durante la extracción. Además, propone que el papel del carbono orgánico disuelto podría ser también un importante parámetro, particularmente para la no selectividad, a tener en cuenta cuando se estudian estos problemas (You et al., 1999).

Dado que la extracción secuencial es un fraccionamiento químico “definido operacionalmente”, proporciona, de modo inevitable, resultados que dependen de los parámetros de extracción, como tipos, concentraciones y pH de los reactivos, cocientes muestra / agente de extracción, métodos de agitación y separación de fases, etc. (Shiowatana et al., 2001). Así, por ejemplo, se han investigado los efectos de las condiciones de extracción como fuente potencial de irreproducibilidad (Quevauviller, 1998b; Sahuquillo et al., 1999) en el análisis de un material de referencia certificado CRM 601, y se ha observado que el pH del agente de extracción, después de la extracción, puede diferir en más de 1.5 unidades de su pH original. El cambio de pH durante la extracción depende de la composición de la muestra y puede afectar considerablemente a la cantidad de metal recuperado. Algunos autores (Sahuquillo et al., 1999; Maiz et al., 1997) han estudiado el efecto de la concentración del agente de extracción, observando que éste afecta a la capacidad de extracción de algunos metales, pero no de otros. También se ha encontrado que la temperatura de extracción afecta a la eficiencia en la extracción de algunos metales (Sahuquillo et al., 1999; Raksataya et al., 1996). El efecto del tiempo de extracción no parece ser crucial, debido probablemente a los generalmente altos tiempos de extracción empleados en la mayoría de los procedimientos. Maiz et al. (1997) propusieron un procedimiento rápido de extracción secuencial, reduciendo el tiempo de extracción en su estudio sobre biodisponibilidad de metales en suelos contaminados. Pérez-Cid et al. (1998) utilizaron una prueba de ultrasonidos para reducir el tiempo de extracción desde 16 horas a 7 minutos. Otros autores recomiendan el uso de un tiempo de extracción mínimo para permitir el establecimiento de un estado estacionario entre muestra y agente de extracción, pero no demasiado largo como para que se produzca la disolución de otras fases (Kennedy et al., 1997). Además, también se ha descrito que pequeñas variaciones en la velocidad de centrifugación, modo de agitación y procedimiento de separación sólido-líquido, también pueden ser causa de incomparabilidad (Sahuquillo et al., 1999; Quevauviller et al., 1993).

Debido al hecho de que la extracción secuencial se emplea para el estudio de muchos materiales sólidos de distinta naturaleza, se carece todavía de

uniformidad de los procedimientos utilizados. Adicionalmente surgen muchas cuestiones acerca de la exactitud y la significatividad de los métodos de extracción secuencial, debido a los problemas mencionados y a la dependencia de los resultados de las condiciones de operación (Quevauviller, 1998a; Quevauviller, 1998b; Sahuquillo et al., 1999).

El procedimiento de extracción secuencial seleccionado para el trabajo que se recoge en este capítulo es una modificación del esquema propuesto por Tessier et al. (1979). A pesar de los inconvenientes que presenta, es el que permite una mayor comparabilidad de los resultados obtenidos, pues es el que se ha utilizado con más frecuencia. La modificación introducida consiste en la determinación de la fracción residual tal como fue descrito por Loring y Rantala (1992). Con esta metodología se diferencian las cinco fracciones siguientes:

1ª fracción Metales pesados intercambiables. La extracción se llevó a cabo a temperatura ambiente, durante una hora, con 10 ml de $MgCl_2$ (1M) a pH 7, con agitación continua en un baño termostático Selecta Unitronic 320 OR. La agitación mantenida fue de 60 U min⁻¹.

Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 4°C durante 30 minutos a 3000 r.p.m., usando una centrífuga Heraeus Sepatech 17 RS. El sobrenadante se separó y se acidificó a pH 1 con HNO_3 , pasándose, a continuación, a través de un filtro de acetato de celulosa de 0.45 μm (HAWPO4700 de Milipore). El sedimento se lavó con 5 ml de agua Mili-Q y se centrifugó nuevamente, durante 30 minutos, a 3000 r.p.m. El agua de lavado se desechó y el sedimento se sometió al proceso correspondiente a la siguiente fracción.

2ª fracción . Metales traza ligados a carbonatos. Al sedimento resultante de la 1ª fracción se le añadieron 10 ml de NaOAc/AcOH (1M) a pH 5. Se mantuvo con agitación continua durante 5 horas a temperatura ambiente. Posteriormente, se realizó el mismo tratamiento descrito en la 1ª fracción.

3ª fracción . Metales ligados a óxidos de Fe y Mn. Al sedimento procedente de la fracción anterior se le añadieron 10 ml de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (0.04M) en AcOH al 25% (v/v), se agitó a intervalos regulares y se mantuvo una temperatura de 96°C durante 6 horas. Para la separación de las fases líquidas y sólidas se repitió el mismo procedimiento efectuado con las fracciones anteriores.

4ª fracción. Metales ligados a la materia orgánica. Al sedimento procedente de la fracción anterior se le añadieron 3 ml de HNO_3 (0.02M) y 5 ml de H_2O_2 al 30% ajustado a pH 2 con HNO_3 . La mezcla se calentó a 85°C durante 2 horas con agitación continua. Posteriormente, se añadió una segunda alícuota de 3 ml de H_2O_2 y se procedió de igual manera durante un intervalo de tiempo de tres horas. Después se dejó enfriar, se añadieron 5 ml de NH_4OAc (3.2 M) en HNO_3 al 30% (V/V) . Tras centrifugar, el sobrenadante se diluyó a 20 ml y se agitó continuamente durante 30 minutos. La adición de acetato amónico se llevó a cabo para prevenir la adsorción de metales sobre el sedimento oxidado. La separación de la fase a analizar se realizó como en las etapas anteriores.

5ª fracción. Fracción residual. La obtención de esta fracción se llevó a cabo siguiendo la metodología de Loring y Rantala (1992). El sedimento procedente de la fracción anterior se secó en la estufa a 70°C , se transfirieron a las bombas de teflón y se siguió el procedimiento descrito para los sedimentos en general. Las muestras se filtraron con anterioridad a su análisis, a través de filtros de acetato de celulosa de $0.45\ \mu\text{m}$ (HAWPO4700 de Milipore).

El procedimiento de extracción secuencial fue realizado por duplicado sobre cada una de las muestras de sedimento. En cada una de las series se utilizaba un blanco. La cantidad de sedimento que se sometió a este procedimiento de extracción secuencial de metales fue de aproximadamente 0.35 g.

Las concentraciones de Zn, Cd, Pb y Cu en los extractos se determinaron por voltamperometría de redisolución anódica, del mismo modo que las concentraciones totales. Las concentraciones de Fe y Mn se midieron por espectroscopía de absorción atómica de llama (Perkin Elmer, 3110). Los

porcentajes de recuperación obtenidos sobre materiales de referencia (MESS-1 NRC y CRM 277 BCR) estuvieron comprendidos entre el 90 y el 110%.

2.2.3. *Otros parámetros físico-químicos*

El contenido de carbono orgánico en el sedimento se ha determinado por oxidación química (El Rayis, 1985), la porosidad a partir de la pérdida de peso por desecación y el potencial redox, mediante un electrodo de potencial redox (Metrohm, 6.0415.100). Para la realización de los análisis granulométricos se pesaron aproximadamente 100 g de sedimento seco de cada muestra en vasos de precipitado de 200 mL, a los cuales se les añadió agua y una solución alcalina de $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de metafosfato sódico. Esta solución actúa como dispersante, facilitando la homogeneización de las muestras. Los vasos de precipitado se dispusieron en agitadores magnéticos y la suspensión se mantuvo en agitación durante 48 horas. Disgregadas las muestras, se pasaron en húmedo a través de un tamiz de $63 \mu\text{m}$ de diámetro, con el objeto de separar las fracciones fina y gruesa.

La fracción gruesa, que quedó retenida en el tamiz, se secó en una estufa a $80 \text{ }^\circ\text{C}$ hasta alcanzar un peso constante. Posteriormente se dispuso en una batería de tamices de diámetros: 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125 y 0.063 mm , provista de agitación mecánica. Para el análisis de la distribución de tamaños de la parte fina se utilizó un analizador de partículas láser (FRITSCH, mod. Analysette 22). El equipo utilizado permite la determinación de un intervalo de tamaño de partícula que oscila entre 0.1 y $1000 \mu\text{m}$. En este caso se seleccionó un intervalo de trabajo donde el límite inferior se fijó en $0.44 \mu\text{m}$ y el superior en $63.31 \mu\text{m}$.

Para cada muestra se calcularon los siguientes parámetros granulométricos:

- Abundancia relativa de las distintas fracciones, expresada como el porcentaje en peso del sedimento seco.
- Tamaño medio de grano (η).

- Superficie específica (σ). Su cálculo se realiza a partir de la distribución de tamaños, y considerando que las partículas poseen forma esférica. Aunque los valores obtenidos son sensiblemente menores a la superficie real del sedimento, este parámetro permite estimar la capacidad de adsorción de sedimentos que poseen una constitución similar.

3. RESULTADOS

3.1. Caracterización de los sedimentos de la zona

La tabla 3 muestra el resultado del análisis granulométrico, donde se ha agrupado el material sedimentario en tres grandes fracciones. El tamaño medio de grano en todas las estaciones estudiadas es de 0.077 mm, apreciándose el valor más alto en la estación GL6 y los más bajos en las estaciones BT1 y BT2.

Tabla 3. Resultados del análisis granulométrico de sedimentos superficiales de las estaciones del Guadalquivir y del Brazo de La Torre. (η : tamaño medio de grano; σ_f : superficie específica).

Estación	< 12 μm	12-63 μm	> 63 μm	η (mm)	σ_f (m^2cm^{-3})
GL1	65.623	23.404	10.914	0.023 \pm 0.002	2.28
GL2	50.649	46.571	2.718	0.021 \pm 0.003	1.68
GL3	20.374	7.326	72.107	0.126 \pm 0.007	2.21
GL4	7.452	3.158	89.357	0.153 \pm 0.004	1.90
GL5	7.269	2.121	90.568	0.170 \pm 0.013	2.40
GL6	14.563	6.967	78.392	0.195 \pm 0.092	2.10
GL7	23.629	2.311	74.040	0.125 \pm 0.006	2.42
GL8	20.528	13.902	65.418	0.123 \pm 0.008	1.72
BT1	69.521	29.039	1.211	0.013 \pm 0.002	2.00
BT2	73.149	25.581	1.149	0.013 \pm 0.002	2.03
BT3	60.413	37.360	1.835	0.017 \pm 0.002	1.68
BT4	60.784	37.466	1.485	0.019 \pm 0.010	1.83
BT5	71.205	24.885	3.855	0.056 \pm 0.112	2.17
BT6	76.253	19.747	3.092	0.027 \pm 0.015	2.20

Con respecto al Guadalquivir, parece ser que la distribución granulométrica frente a la distancia es irregular, presentando las estaciones GL1 y GL2, próximas a la desembocadura, un carácter arcilloso, mientras que el resto de las estaciones presentan, en términos generales, un alto contenido en arena. En el caso del Brazo de La Torre, la variación es más regular, presentando el tamaño de grano una tendencia a aumentar a medida que la estación es más interna.

En la tabla 4 se muestra el contenido en carbono orgánico, en %, en todas las estaciones estudiadas. En general, el contenido en carbono orgánico puede considerarse bajo en relación con otras zonas litorales (e.g., Forja y Gómez-Parra, 1998), con valores inferiores al 1% en las estaciones del Guadalquivir y por debajo de 1.5% en las estaciones del Brazo de La Torre.

Tabla 4. Contenido en carbono orgánico de los sedimentos superficiales del Guadalquivir y del Brazo de La Torre.

Guadalquivir	Carbono orgánico (%)	Brazo de la Torre	Carbono orgánico (%)
GL1	0.74096	BT1	0.97623
GL2	0.81285	BT2	1.11108
GL3	0.35423	BT3	1.20242
GL4	0.23215	BT4	1.04204
GL5	0.20026	BT5	1.18934
GL6	0.34031	BT6	1.31788
GL7	0.37597		
GL8	0.49197		

3.2. Impacto inicial del accidente minero de Aznalcóllar sobre sedimentos superficiales del estuario de Guadalquivir y del Brazo de la Torre

En la tabla 5 se muestran las concentraciones en sedimentos superficiales de Zn, Cd, Pb y Cu en tres de las estaciones seleccionadas para este estudio en mayo de 1998 y se comparan con los valores obtenidos para estos mismos metales en otras zonas del Golfo de Cádiz. En general, las concentraciones encontradas después del vertido de Aznalcóllar fueron similares a las observados anteriormente por

Cordón et al. (1986) en los mismos lugares del estuario del Guadalquivir y por Ponce et al. (2000) para otras zonas del Golfo de Cádiz, excepto para el Zn. Las concentraciones encontradas para este metal, sobre todo en el Brazo de La Torre, ponen de manifiesto la importancia de su entrada en el estuario como consecuencia del accidente. Sin embargo, si se comparan las concentraciones de los cuatro metales (Zn, Cd, Pb y Cu), con los observados en la ría del Tinto y del Odiel, puede apreciarse que estas últimas son muy superiores. Esto está motivado tanto por la menor granulometría de sus sedimentos como por producirse en esta zona una descarga continua de metales durante siglos.

Tabla 5. Concentraciones de Zn, Cd, Pb y Cu ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) en sedimentos superficiales del estuario del Guadalquivir. Los valores obtenidos se comparan con trabajos anteriores desarrollados en la zona y en otros sistemas estuáricos del Golfo de Cádiz.

Lugar	Zn	Cd	Pb	Cu	Referencia
Río Barbate	84	--	33.1	36.6	Cordón et al. (1986)
Bahía de Cádiz	181	0.24	53.1	85.6	Ponce et al. (2000)
Río Odiel	1558	4.4	928.0	1070.0	Pérez et al. (1991)
Río Tinto	2810	15.6	2915.0	2403.0	Pérez et al. (1991)
Estuario Guadalquivir	126	--	65.0	63.2	Cordón et al. (1986)
Estación GL2	138	0.63	32.0	37.8	Este trabajo
Estación GL6	321	1.24	28.1	9.6	Este trabajo
Estación BT3	411.2	1.72	39.8	39.0	Este trabajo

Para poder establecer el grado de contaminación de un sistema basándose en medidas de las concentraciones de una sustancia considerada, es necesario conocer los valores asociados a sus variaciones naturales en la zona. La comparación con niveles de referencia permitirá discernir qué valores están asociados a un proceso de contaminación y, en su caso, cuantificarlo.

Existen diferentes formas de evaluar el grado de contaminación metálica de una zona. Una de ellas es referir las concentraciones superficiales de metales en el sedimento, a las concentraciones medidas a una profundidad tal que los materiales analizados puedan considerarse, por su antigüedad, libres de la influencia antropogénica (valores basales o de "background"). De esta manera se

obtiene un factor de enriquecimiento superficial que proporciona información sobre el grado de contaminación a escala local, y por tanto, de difícil comparación con otras zonas. Sin embargo, este procedimiento constituye una medida realista de la velocidad de acumulación de los contaminantes en el ecosistema.

El factor de enriquecimiento superficial (FES) está definido, de acuerdo con Rapin et al. (1981) como el cociente entre el valor medio de la concentración del metal en los primeros centímetros del sedimento, y el valor medio de la concentración del metal en los niveles basales.

Para obtener una información más generalizada, que permita comparar el grado de contaminación de la zona con la existente en otros ecosistemas, se han obtenido los índices de geoacumulación (Müller, 1979), que vienen dados por la expresión:

$$I_{\text{geo}} = \log_2 (C_n / (1.5 \cdot B_n))$$

donde C_n es la concentración del metal en el sedimento superficial y B_n es la concentración del metal en un sedimento no contaminado (“geochemical background” o nivel basal). Los valores de B_n utilizados para el cálculo de los índices de geoacumulación, son los correspondientes a la marga fósil de Turekian y Wedepohl (1961). El factor 1.5 se introduce en la expresión para paliar posibles variaciones en el valor de “background” debido a efectos litogénicos. En función de los valores obtenidos pueden establecerse 7 clases de ecosistemas atendiendo a su grado de contaminación:

I_{geo}	Clase	Intensidad de la contaminación
≥ 5	6	muy fuerte
4-5	5	fuerte a muy fuerte
3-4	4	fuerte
2-3	3	moderada a fuerte
1-2	2	moderada
0-1	1	no contaminada a moderada
0	0	no contaminada

La escala logarítmica del índice de geoacumulación conduce a que cada nivel del mismo suponga duplicar las concentraciones del nivel inmediatamente inferior. Así, para el grado más alto, 6, que corresponde a un $I_{geo} > 5$, representa un contenido en metal aproximadamente 50 veces mayor que el nivel de "background" ($C_n/B_n = 1.5 \cdot 25 = 48$) y la clase inmediatamente inferior, es decir, la 5, que corresponde a un I_{geo} comprendido entre 4 y 5, representa un contenido en metal aproximadamente 25 veces mayor que el nivel de "background" ($C_n/B_n = 1.5 \cdot 24 = 24$). La utilización de escalas de incremento de esta índole es frecuente en índices de cuantificación de la contaminación.

Para evaluar el riesgo potencial de un determinado sedimento sobre el sistema, se utiliza el factor de riesgo ambiental (FRA), que viene dado por la expresión:

$$FRA = (C_i - C_{SQV}) / (C_{SQV})$$

donde C_i es la concentración de metal medida en el ecosistema y C_{SQV} es la mayor concentración del metal estudiado, no asociada a efectos biológicos. Los valores de C_{SQV} que se han utilizado en este trabajo son los calculados por DelValls y Chapman (1998) para el Golfo de Cádiz.

En la tabla 6 se muestran, a modo de ejemplo, los valores del FES, I_{geo} y FRA, para tres estaciones (GL2, GL6 y BT3) obtenidos en mayo de 1998. Tanto en la estación GL2 y GL6, el FES presenta valores superiores a 1 para el Zn y el Cd, lo que indica una contaminación de la zona por estos dos metales. Para el caso del Pb y del Cu, los valores del FES en ambas estaciones fueron cercanos a la unidad, lo que indica que no existe contaminación antropogénica por estos dos metales. En lo que respecta al índice de geoacumulación, puede observarse que sólo existió una contaminación moderada por Zn y Cd, destacándose el valor observado para el Cd en la estación BT3 (contaminación moderada a fuerte). Los valores positivos del factor de riesgo ambiental informan acerca de un efecto biológico adverso potencial asociado al metal. Sólo el Zn presentó valores positivos en algunas de las estaciones.

Tabla 6. Valores de FES, I_{geo} y FRA (en porcentaje) para tres de las estaciones seleccionadas en mayo de 1998.

Índice	Estación	Zn	Cd	Pb	Cu
FES	GL2	1.08	23.8	1.22	0.83
	GL6	1.42	1.8	0.95	0.85
I_{geo}	GL2	-0.1	0.9	0.1	-0.8
	GL6	1.2	1.9	-0.1	-2.8
	BT3	1.5	2.4	0.4	-0.8
FRA (%)	GL2	-11	-67	-84	-74
	GL6	76	-61	-73	-87
	BT3	231	-63	-36	-58

En la figura 2 se presentan los patrones de distribución de Zn, Cd, Pb y Cu en sedimentos del estuario del Guadalquivir y del Brazo de la Torre. Aunque no aparezca representado en la figura, se observó que el Fe estaba asociado fundamentalmente a la fracción a la fracción litogénica (F5). Puede apreciarse que esto sucede también para el caso del Pb y del Cu. El Mn apareció asociado a la fracción carbonatada. El Zn y el Cd se asociaron predominantemente a las fracciones más biodisponibles (F1 y F4).

La distribución del Zn en mayo de 1998 difirió de la observada en septiembre de ese mismo año, estando más asociado a las fracciones biodisponibles en mayo que en septiembre. El comportamiento de este metal en el Brazo de la Torre fue similar al encontrado en el Guadalquivir en mayo. Además, en todas las estaciones del Brazo de La Torre, el patrón de distribución de este metal entre las cinco fracciones fue similar, a pesar de las diferencias que existieron en los valores de las concentraciones totales. Esto pone de manifiesto que el accidente produjo un enriquecimiento de las fracciones más biodisponibles en Zn y en Cd, que pudieron estresar el ecosistema, debido fundamentalmente a las concentraciones de Zn.

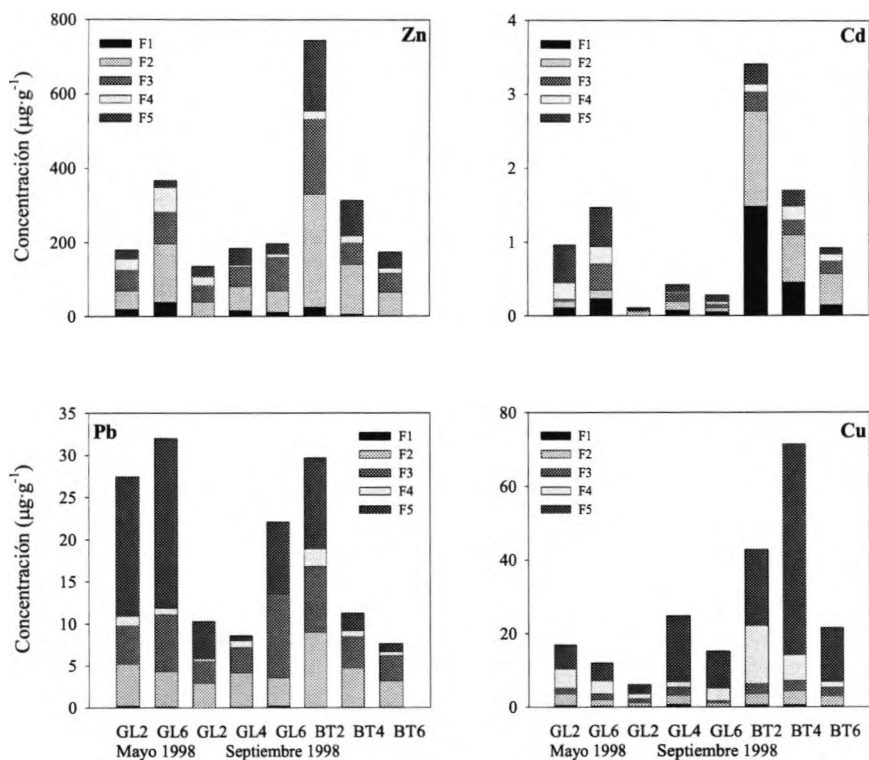


Figura 2. Distribución de Zn, Cd, Pb y Cu en las cinco fracciones geoquímicas: F1 (intercambiable), F2 (carbonatos), F3 (hidróxidos de hierro y manganeso), F4 (materia orgánica) y F5 (fracción litogénica o no reactiva) para sedimentos del estuario del Guadalquivir (GL#) y del Brazo de La Torre (BT#) en mayo y septiembre de 1998.

Para comparar estas asociaciones con otros sistemas estuáricos y litorales del Golfo de Cádiz afectados por una contaminación por metales pesados de diferente grado, se han seleccionado algunos resultados obtenidos por Sáenz et al. (2003) en tres zonas diferentes (Figuras 3 y 4). Las estaciones H1 y H2 corresponden a dos estaciones situadas en la ría de Huelva, donde la actividad minera desarrollada desde hace más 5000 años, ha provocado una contaminación crónica por metales pesados durante los últimos siglos. Se seleccionaron también dos estaciones consideradas como no contaminadas en la bahía de Cádiz (BC) y las marismas del río Barbate (BR) (DeValls et al., 1998).

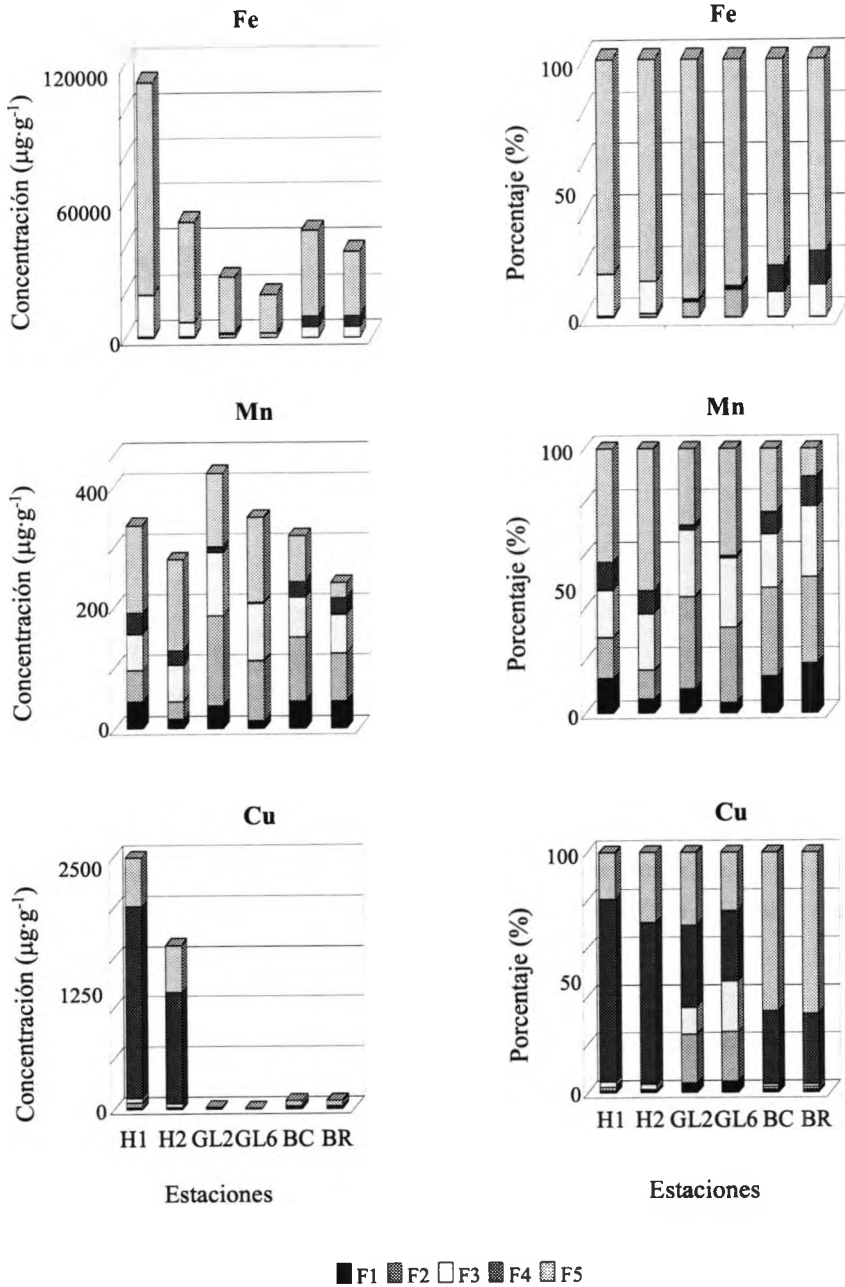


Figura 3. Comparación del fraccionamiento geoquímico de metales pesados (Fe, Mn y Cu) entre el estuario del Guadalquivir y otros sistemas litorales.

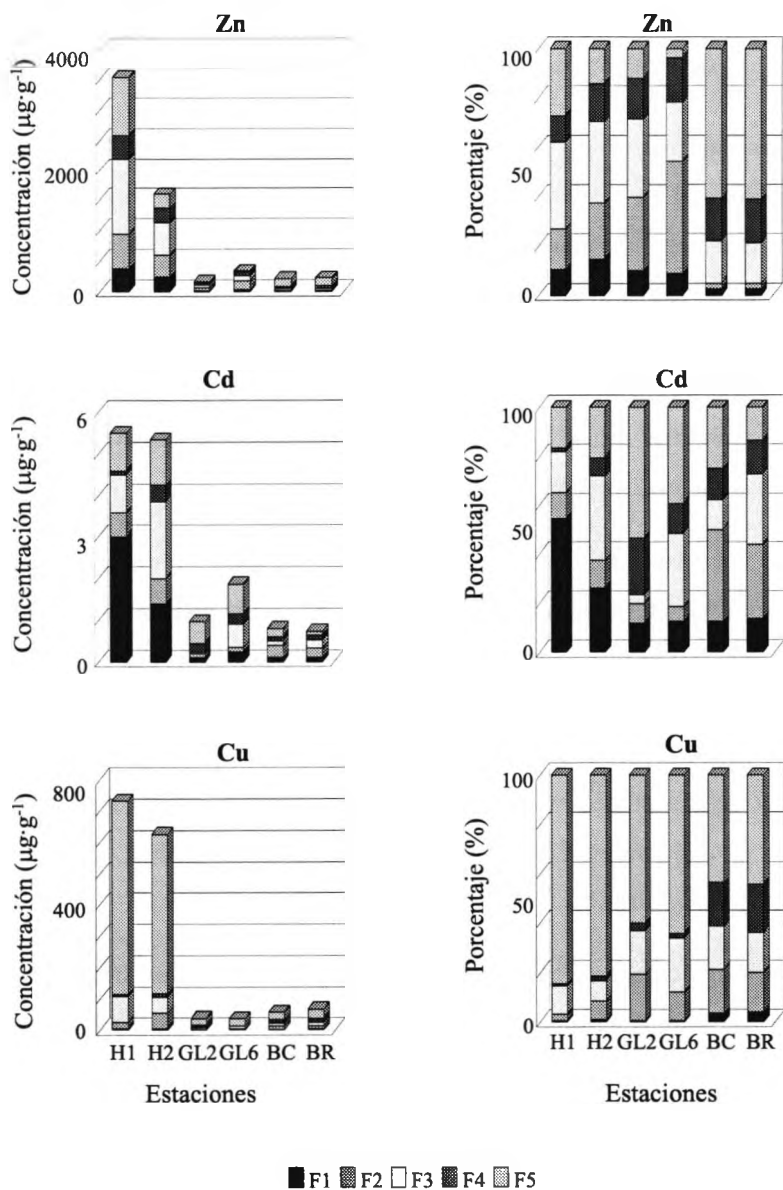


Figura 4. Comparación del fraccionamiento geoquímico de metales pesados (Zn, Cd y Pb) entre el estuario del Guadalquivir y otros sistemas litorales.

La biodisponibilidad es función de las fracciones geoquímicas a las que se asocian los metales y puede verse afectada por factores fisiológicos de los organismos, como la edad, condición sexual y la dieta (Phillips y Rainbow, 1993). Las

fracciones F1, F2 y F4 se han reconocido como las fracciones más biodisponibles (Kersten y Förstner, 1991).

Los patrones de distribución de Fe y Mn en todos los sistemas son similares, estando el Fe fundamentalmente asociado a la fracción litogénica, y el Mn a la fracción carbonatada y a los óxidos de Fe y Mn. En el estuario del Guadalquivir el Cu presenta una relativa afinidad por las fracciones biodisponibles F1 y F4, siendo esta afinidad mayor en la ría de Huelva que en los otros dos sistemas. El Pb se asocia a las fracciones reactivas sólo en las áreas de la bahía de Cádiz y de las marismas del río Barbate, siendo esta asociación insignificante en el caso del estuario del Guadalquivir y de la ría de Huelva.

En el estuario del Guadalquivir el Cd se asocia a las fracciones biodisponibles en menor medida que en los otros tres ecosistemas, a pesar de que su distribución en la estación GL6 sea similar a la de éstos. Cuando se compara la distribución del Zn en las diferentes fracciones en el estuario del Guadalquivir con la de las otras zonas, puede apreciarse que este metal presenta en el estuario la mayor afinidad por las fracciones más reactivas. Así, la suma de las tres primeras fracciones constituye más del 70% de la concentración total, llegando a ser superior al 90% cuando se considera la asociación con la materia orgánica.

De estas comparaciones puede afirmarse que existió un impacto del accidente minero de Aznalcóllar sobre los sedimentos, que produjo un episodio de contaminación aguda por Zn y Cd en algunas zonas del estuario.

3.3. Distribución vertical de metales pesados en sedimentos del estuario del Guadalquivir y del Brazo de La Torre

En la figura 5 se muestran los perfiles verticales de Eh, carbono orgánico y porosidad, correspondientes a tres de las estaciones muestreadas. Aunque los sedimentos tenían una naturaleza física diferente, los perfiles de Eh encontrados presentaban una tendencia similar a la que se encuentra habitualmente en sedimentos costeros, presentando un máximo en superficie y una progresiva

disminución hasta alcanzar valores prácticamente constantes con la profundidad. Las concentraciones de carbono orgánico en los sedimentos variaron entre 0.25 (9.5 cm, en GL6) y 1.24 (9.5 cm, en BT3) (% peso seco), valores sensiblemente inferiores a los encontrados para otras zonas litorales del Golfo de Cádiz (Blasco et al., 2000; Ponce et al., 2000).

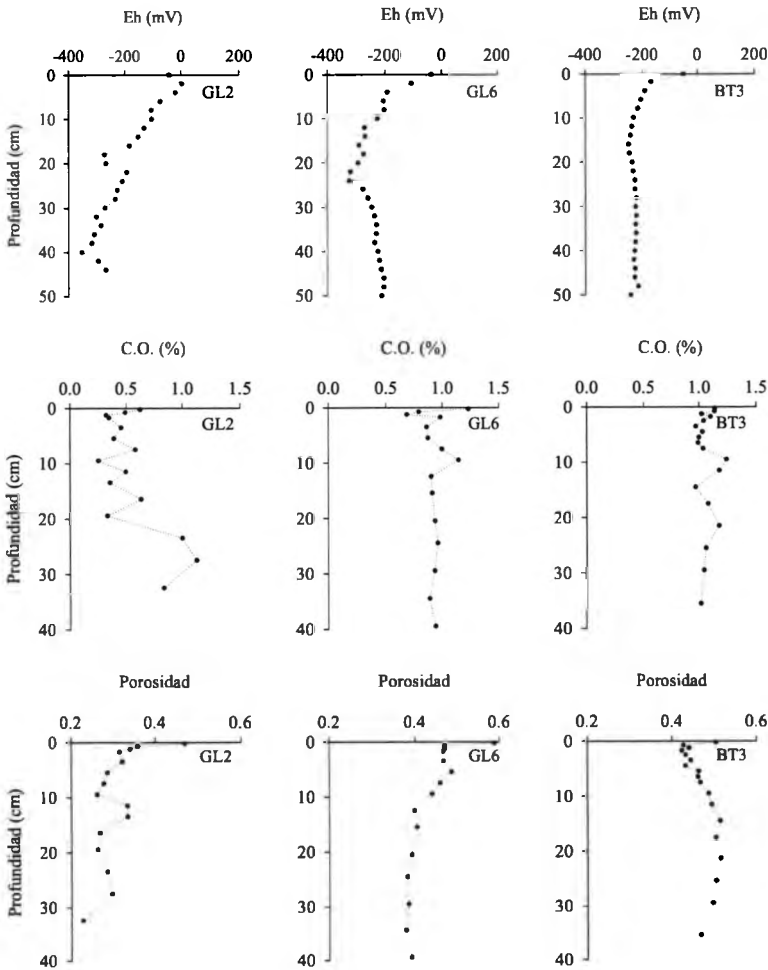


Figura 5. Variaciones verticales de potencial redox, contenido en carbono orgánico y porosidad en los sedimentos de las estaciones GL2, GL6 y BT3.

La estación situada en el Brazo de La Torre, presentó, en términos generales, los mayores valores de concentración de carbono orgánico, hecho relacionado probablemente con el aporte de materia orgánica procedente de cultivos adyacentes y con la menor alteración hidrodinámica que presenta. Los perfiles verticales de concentración de carbono orgánico presentaron patrones diferentes; así, mientras que las estaciones GL6 y BT3 se caracterizaron por presentar un descenso inicial y un posterior aumento hasta alcanzar un máximo y decrecer de nuevo hasta valores constantes, la estación GL2, situada en la desembocadura presentó un perfil más irregular, sin tendencias claramente definidas. Este hecho, así como los bajos valores encontrados, están relacionados con la intensa hidrodinámica de la zona y los dragados periódicos a los que se ve sometida, con objeto de favorecer la navegación a través del río Guadalquivir. Los perfiles de porosidad en la estación de la desembocadura manifestaron este mismo hecho.

Para las otras dos estaciones, este parámetro presentó distribuciones similares a las descritas por Ponce et al. (2000) en distintos puntos del Golfo de Cádiz. Los mayores valores encontrados correspondieron a la estación BT3, debido a su naturaleza arcillosa.

En las figuras 6 y 7 se muestran las variaciones verticales de las concentraciones de Zn, Cd, Pb y Cu en el sedimento de las estaciones GL2, GL6 y BT3. La forma irregular que presentan algunos de estos perfiles se ha relacionado con la propia heterogeneidad de los sedimentos de la zona. Se observa que los mayores niveles de todos los metales aparecen en los primeros centímetros del sedimento, en la zona más superficial y a partir de 5-10 centímetros aproximadamente, se produce una disminución de las concentraciones con la profundidad, hasta alcanzar un valor relativamente constante, que se ha utilizado como nivel basal para estos elementos en esta zona. También puede apreciarse que los mayores niveles superficiales de Zn y Cd aparecen en la estación situada en el Brazo de La Torre (BT3), como consecuencia de su proximidad al punto donde se produjo el accidente minero de Aznalcóllar. Las concentraciones de Pb son similares para las tres estaciones, por lo que puede inferirse que este metal debe presentar otras

fuentes distintas al vertido. El Cu presenta valores similares en toda la zona, excepto en el área de la confluencia del río Guadalquivir y el Brazo de la Torre (estación GL6), lo cual está relacionado presumiblemente con las explotaciones agrícolas de sus inmediaciones.

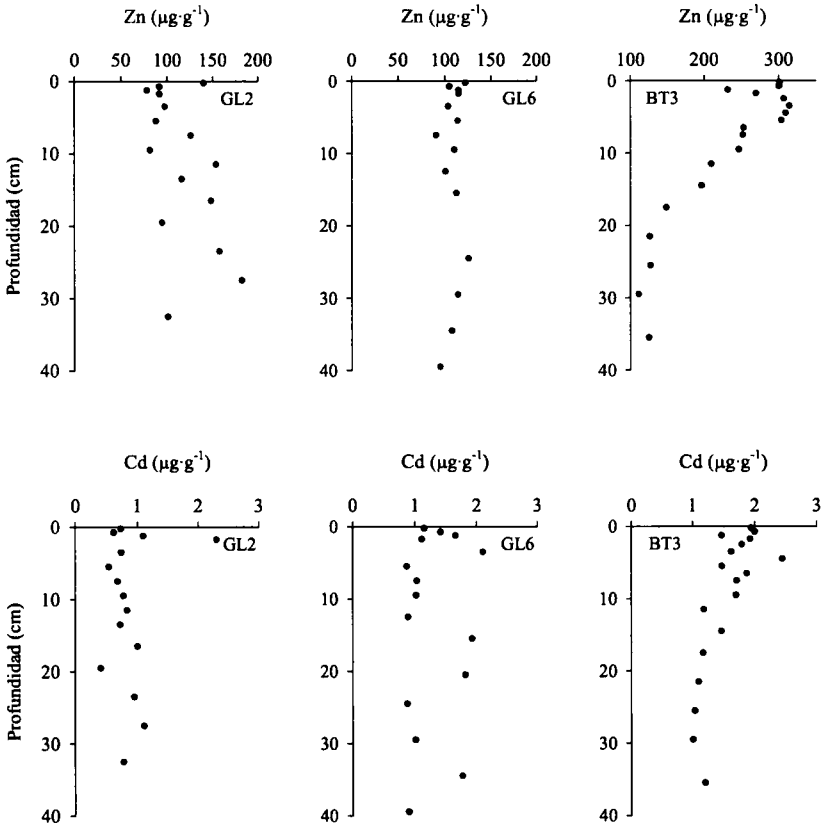


Figura 6. Perfiles verticales de la concentración de Zn y Cd en los sedimentos de las estaciones GL2, GL6 y BT3.

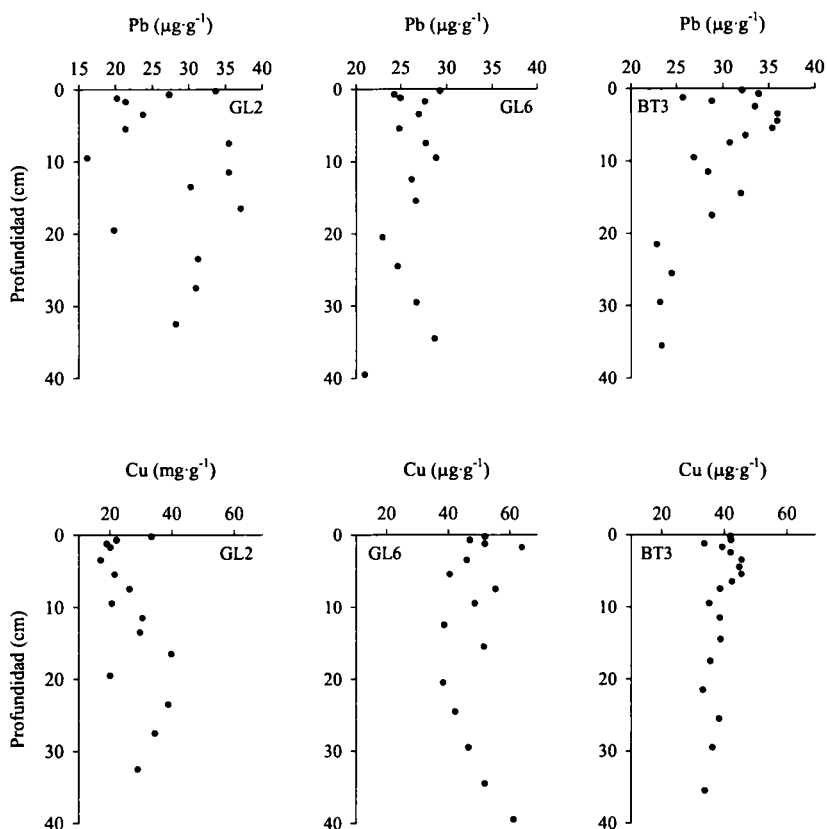


Figura 7. Perfiles verticales de la concentración de Pb y Cu en los sedimentos de las estaciones GL2, GL6 y BT3.

En la figura 8 se muestran, a modo de ejemplo, las distribuciones verticales de los metales pesados estudiados, en las distintas fracciones geoquímicas del sedimento de la estación GL6. En general, el Fe se encuentra asociado a la fracción litogénica del sedimento, mientras que la mayor parte del Mn aparece asociada a los óxidos de Fe y Mn, y en menor medida -aunque de modo significativo- a la fracción residual. Esta afinidad por dichas fracciones se observa también para el Pb. Los tres metales presentan distribuciones verticales similares, mientras que el Cu se asocia preferentemente a la materia orgánica y a la fracción residual. Este metal, a pesar de presentar una disminución de sus

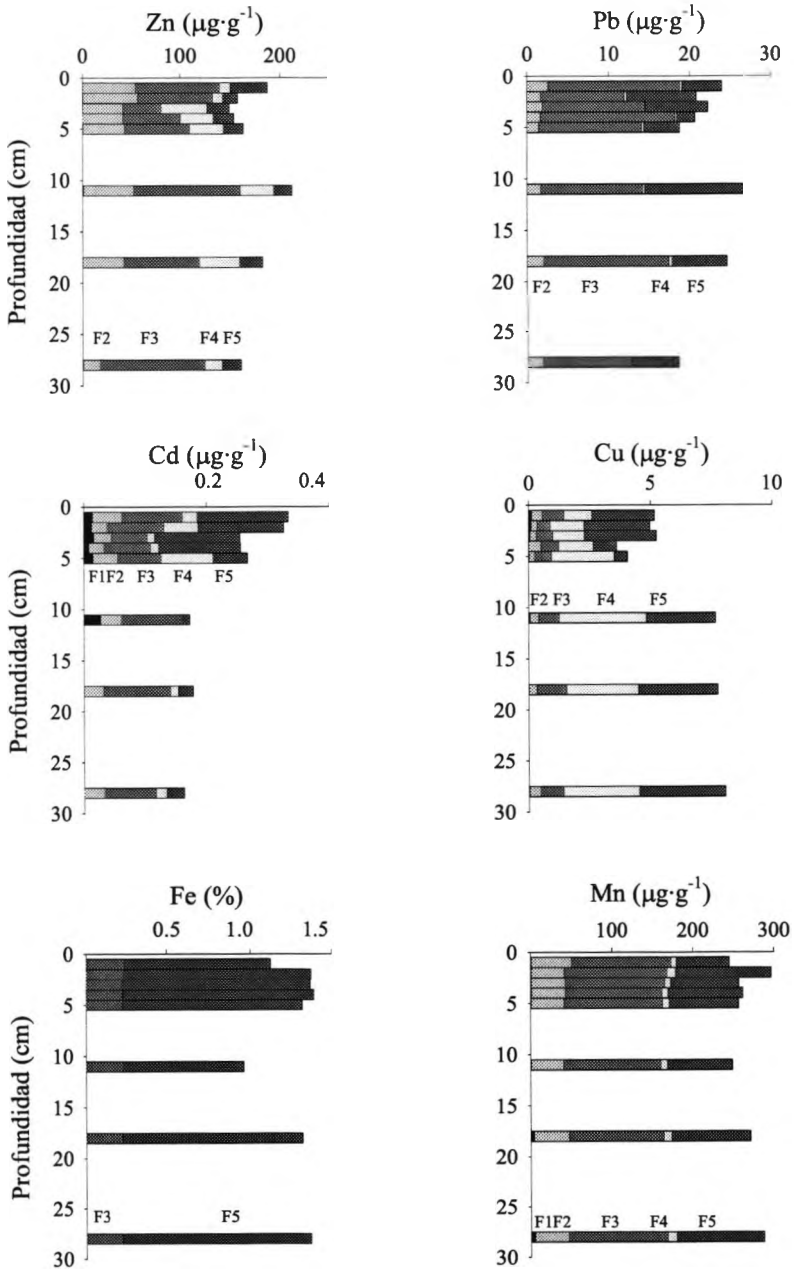


Figura 8. Perfiles verticales la distribución de Zn, Cd, Pb, Cu, Fe y Mn en las cinco fracciones geoquímicas: F1 (intercambiable), F2 (carbonatos), F3 (hidróxidos de hierro y manganeso), F4 (materia orgánica) y F5 (fracción litogénica o no reactiva) para un testigo de sedimento de la estación GL6.

concentraciones totales con la profundidad, muestra en el intervalo de profundidades estudiado, un patrón de distribución entre las diferentes fracciones similar.

Por otra parte, el Zn y el Cd se encuentran mucho más asociados a las fracciones biodisponibles, existiendo diferencias con la profundidad en sus patrones de distribución; así, puede apreciarse que el Cd se asocia a la fracción más biodisponible (F1) en los primeros centímetros del sedimento. El Zn presenta una distribución típica de un enriquecimiento reciente en este metal de las fracciones biodisponibles, estando asociado fundamentalmente a las fracciones F2 y F3, especialmente en la superficie.

Esta asociación del Zn, y en menor medida del Cd, a las fracciones más reactivas del sedimento constituye una fuente de metales potencialmente biodisponibles, susceptibles de removilizarse e incorporarse al ecosistema estuárico.

3.4. Evolución temporal de las concentraciones de metales pesados en sedimentos superficiales del estuario del Guadalquivir y del Brazo de la Torre

En la figura 9 se muestra la evolución que experimentaron las concentraciones de Zn, Cd, Pb y Cu en tres de las estaciones seleccionadas, desde mayo de 1998 hasta junio de 2001. En términos generales puede observarse que la concentración de Zn ha disminuido desde un valor medio de unos $300 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en el momento del accidente hasta $100 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en la actualidad. Puede apreciarse también que existe una disminución de las concentraciones de Zn y Cd desde el Brazo de La Torre hacia la desembocadura, motivado tanto por la mayor distancia al lugar por donde se produjo la entrada de los metales al estuario, como por el aumento de la granulometría de los sedimentos a medida que las estaciones están más próximas al mar. Las concentraciones de Pb, además de ser similares en todas las zonas del estuario, permanecieron prácticamente constantes durante el periodo estudiado. La concentración de Cu sufrió un aumento con el tiempo en la zona de la confluencia del Guadalquivir con el río Guadiamar, lo

que indica la existencia de otras fuentes distintas a la actividad minera para este metal.

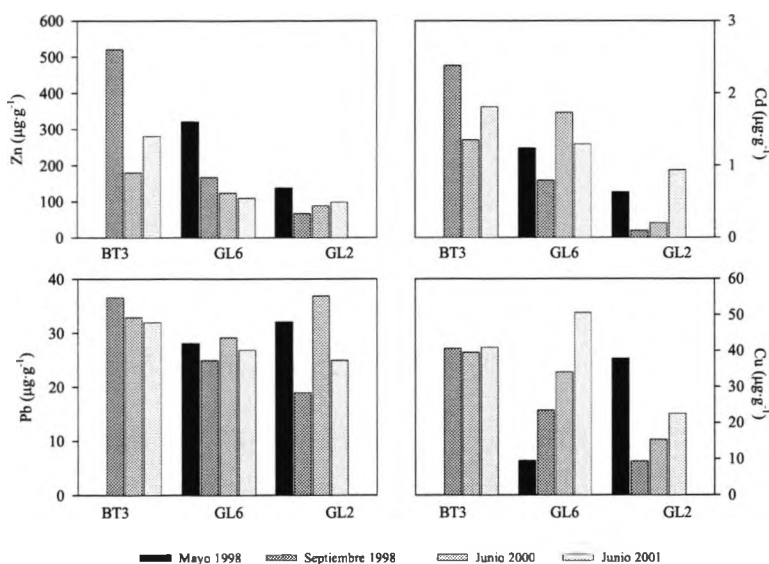


Figura 9. Evolución temporal de las concentraciones de Zn, Cd, Pb y Cu en sedimentos superficiales de las estaciones GL2, GL6 y BT3.

En la tabla 7 se muestran los valores del FES, I_{geo} y FRA, para tres estaciones (GL2, GL6 y BT3) obtenidos en junio de 2001.

Tabla 7. Valores de FES, I_{geo} y FRA (en porcentaje) para tres de las estaciones seleccionadas en junio de 2001.

Índice	Estación	Zn	Cd	Pb	Cu
FES	GL2	1.01	0.95	0.88	0.79
	GL6	1.11	1.53	1.06	0.89
	BT3	2.47	1.66	1.40	1.19
I_{geo}	GL2	-0.48	1.54	-0.20	-1.57
	GL6	-0.35	2.06	-0.19	-0.43
	BT3	1.04	2.47	0.12	-0.69
FRA (%)	GL2	-54	6.7	-69	-77
	GL6	-50	53	-69	-49
	BT3	30	103	-61	-57

Si se comparan estos valores con los obtenidos en mayo de 1998, puede apreciarse que para el Pb y el Cu, los valores de los diferentes índices de contaminación empleados se han mantenido prácticamente constantes, mientras que para el caso del Zn, se ha producido una apreciable disminución. Sin embargo, tanto el índice de geoacumulación, como el factor de riesgo ambiental, han experimentado un aumento en el caso del Cd.

4. BIBLIOGRAFÍA

- Alastuey A, García-Sánchez A, López F, Querol X (1999) Evolution of pyrite mud weathering and mobility of heavy metals in the Guadiamar valley after the Aznalcóllar spill, south-west Spain. *Sci Total Environ* 242:41-55
- Baeyens W, Elskens M, Gillain G, Goeyens L (1998) Biogeochemical behaviour of Cd, Cu, Pb and Zn in the Scheldt estuary during the period 1981-1983. *Hydrobiol* 366:15-44
- Bermond A (2001) Limits of sequential extraction procedures re-examined with emphasis on the role of H⁺ ion reactivity. *Anal Chim Acta* 445:79-88
- Blasco J, Sáenz V, Gómez-Parra A (2000) Heavy metal fluxes at the sediment-water interface of three coastal ecosystems from south-west of the Iberian Peninsula. *Sci Total Environ* 247:189-199
- Clark MW, Davies-McConchie F, McConchie D, Birch GF (2000) Selective chemical extraction and grainsize normalisation for environmental assessment of anoxic sediments: validation of an integrated procedure. *Sci Total Environ* 258:149-170
- Cordón R, Cabrera F, Arambarri P (1986) Concentraciones de metales pesados en aguas, sedimentos y tres especies animales (*C. angulata*, *D. labrax*, *M. auratus*) de los estuarios de los ríos Barbate y Guadalquivir. *Seminario de Química Marina* 3:65-71

- DelValls TA, Chapman PM (1998) Site-specific sediment quality values for the Gulf of Cádiz (Spain) and San Francisco Bay (USA) using the sediment quality triad and multivariate analysis. *Ciencias Marinas* 24(3):313-336
- DelValls TA, Forja JM, Gómez-Parra A (1998) Integrative assessment of sediment quality in two littoral ecosystems from the Gulf of Cádiz, Spain. *Environ Toxicol Chem* 17(6):1073-1084
- Forja JM, Gómez-Parra A (1998) Measuring nutrient fluxes across the sediment-water interface using benthic chambers. *Mar Ecol Prog Ser* 164:95-105
- Förstner U (1989) *Contaminated sediments*. Springer-Verlag Berlin, 157 pp
- Gallart F, Benito G., Martín-Vide JP, Prió JM, Regüés D (1999) Fluvial geomorphology in the dispersal and fate of pyrite mud particles released by the Aznalcóllar mine tailings spill. *Sci Total Environ* 242:13-26
- Glidewell SM, Goodman BA (1994) Direct methods of metal speciation. En: Davidson CM, Ure AM (eds) *Chemical speciation in natural systems*. Blackie Academic & Professional, London, p 33-64
- Kennedy VH, Sánchez AL, Oughton DH, Rowland AP (1997) Use of single and sequential chemical extractants to assess radionuclide and heavy metals availability from soils for root uptake. *Analyst* 122:89-100
- Kersten M, Förstner U (1990) Speciation of trace metals in sediments. En: Batley GE (ed) *Trace element speciation: Analytical methods and problems*. CRC Boca Raton, FL USA, p 246-309
- Loring DH, Rantala RTT (1992) Manual for the geochemical analyses of marine sediments and suspended particulate matter. *Earth-Sci Rev* 32:235-283
- Maiz I, Esnaola V, Millán E (1997) Evaluation of heavy metal availability in contaminated soils by a short sequential extraction procedure. *Sci Total Environ* 206:107-115

- Müller G (1979) Schewermwtalle in den sedimenten del Rheins-Veränderungen seit 1971. Umschau 79:778-783
- Ngiam L-S, Lim. P-E (2001) Speciation patterns of heavy metals in tropical estuarine anoxic and oxidized sediments by different sequential extraction schemes. *Sci Total Environ* 275:53-61
- Oakley SM, Nelson PO, Williamson KJ (1981) Model of trace metal partitioning in marine sediments. *Environ Sci Technol* 15:474-480
- Pérez M, Usero J, Gracia I (1991) Trace metals in sediments from the “ría de Huelva”. *Toxicol Environ Chem* 31/32:275-283
- Pérez-Cid B, Lavilla I, Bendicho C (1998) Speeding up of a 3-stage sequential extraction method for metal speciation using focused ultrasound. *Anal Chim Acta* 360:35-41
- Phillips DJH, Rainbow A (1993) *Biomonitoring of trace aquatic contaminants*. Elsevier Applied Science, London, 371 pp
- Ponce R, Forja JM, Gómez-Parra A (2000) Influence of anthropogenic activity on the vertical distribution of Zn, Cd, Pb and Cu in interstitial water and coastal marine sediments (Cádiz Bay, SW Spain). *Ciencias Marinas* 26(3):479-502
- Rapin F, Nembrini GP, Förstner U, García JI (1983) Heavy metals in a marine sediment phase determined by sequential chemical extraction and their interaction with interstitial water *Environ Technol Lett* 4:387-396
- Quevauviller Ph, Rauret G, Griepink B (1993) Conclusions of the workshop. Single and sequential extraction in sediments and soils. *Int J Environ Anal Chem* 51:231-235
- Quevauviller Ph (1998a) Operationally defined extraction procedures for soil and sediments analysis. I Standarization. *Trends Anal Chem* 17:289-298

- Quevauviller Ph (1998b) Operationally defined extraction procedures for soil and sediments analysis. II Certified reference materials. *Trends Anal Chem* 17:632-642
- Raksasataya M, Langdon AG, Kim ND (1996) Assessment of the extent of lead redistribution during sequential extraction by two different methods. *Anal Chim Acta* 332:1-14
- Sáenz V, Blasco J, Gómez-Parra A (2003) Speciation of heavy metals in recent sediments of three coastal ecosystems in the Gulf of Cádiz, Southwest Iberian Peninsula. *Environ Toxicol Chem* 22(12):2833-2839
- Sahuquillo A, López-Sánchez JF, Rubio R, Rauret G, Thomas RP, Davidson CM, Ure AM (1999) Use of a certified reference material for extractable trace metals to assess sources of uncertainty in the BCR three-stage sequential extraction procedure. *Anal Chim Acta* 382:317-327
- Salomons W, Förstner U (1984) *Metals in the hydrocycle*. Springer-Verlag, London, 349 pp
- Salomons W, Kerdijk H, van Pagee H, Klomp R, Schreur A (1988) Behaviour and impact assessment of heavy metals in estuary and coastal zone. En: Seeliger U, de Lacerda LD, Patchineelam SR (eds) *Metals in coastal environments of Latin America*. Springer, New York, p 159-198
- Shiowatana J, Tantidanai N, Nookabkaew S, Nacapricha D (2001) A flow system for the determination of metal speciation in soil by sequential extraction. *Environ Int* 26:381-387
- Tessier A, Campbell PGC, Bisson M (1979) Sequential extraction procedure for the speciation of trace metals. *Anal Chem* 51:844-851
- Turekian KK, Wedepohl KH (1961) Distribution of the elements in some major units of the earth's crust. *Geol Am* 72:175-192

Simulación a escala de laboratorio del vertido del agua tóxica procedente del accidente de Aznalcóllar en el estuario del Guadalquivir

García-Luque, E., Sáenz, I., Forja, J.M. y Gómez-Parra, A.

Departamento de Química Física. Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales.

Campus Río San Pedro, s/n. 11510, Puerto Real, Cádiz (Spain)

1. INTRODUCCIÓN

Sólo una parte de las aguas ácidas de mina que se vertieron como consecuencia de la rotura de la balsa que contenía estos desechos mineros alcanzó el estuario del Guadalquivir. El resto, unos cinco millones de metros cúbicos, quedó retenido en sus proximidades por medio de unos precarios muros de contención que se construyeron de forma improvisada. Esta situación planteó una disyuntiva a las Administraciones competentes en temas ambientales, ya que se consideraban dos posibles actuaciones que eran excluyentes: i) depurar el agua tóxica retenida antes de su vertido al Guadalquivir o ii) verterla de manera progresiva y programada al estuario, sin proceso previo de depuración.

Ambas alternativas tenían sus ventajas e inconvenientes. La primera implicaba la construcción de una depuradora de coste muy elevado en un plazo de tiempo muy corto, ya que las lluvias que podrían producirse en los meses próximos podrían provocar la rotura de los muros de contención y verter de manera incontrolada el agua tóxica en el estuario. La segunda opción consistía en drenar o bombear al estuario cantidades preestablecidas del agua tóxica aprovechando las mareas de mayor coeficiente y la capacidad de regular el caudal del Guadalquivir por medio de la presa de Alcalá, que es la más próxima a su desembocadura. Esta actuación evitaba los riesgos y el elevado coste de la opción

anterior aunque hubiera podido provocar unos efectos en el estuario difícilmente predecibles.

La elección entre dos alternativas, que eran excluyentes, impide comparar los efectos que hubiesen tenido ambas, toda vez que obviamente ya no puede realizarse el vertido del agua tóxica sin depurar.

El trabajo que se resume en este capítulo ha tenido por objeto determinar el efecto que hubiera producido, en el estuario del Guadalquivir y en la zona oceánica próxima, el vertido sin depurar del agua tóxica retenida en Entremuros, utilizando para ello una simulación del proceso de mezcla de cuerpos de agua que tiene lugar en el bajo Guadalquivir. Los resultados obtenidos en la simulación se han completado con los obtenidos en el seguimiento real del estuario desde Mayo de 1998 a Enero de 1999.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Descripción del Equipo de Simulación empleado

En esencia, el equipo está basado en la realización de una mezcla dinámica de aguas de distintas salinidades poniendo en contacto, en contracorriente, un flujo de agua dulce con otro de agua de mar. Consta de ocho tanques (Figura 1), que están contruidos en metacrilato (plexiglás®), poseen forma cilíndrica y tienen una capacidad de 10 L cada uno. Los tanques están dispuestos en una estructura que los soporta de manera que el fondo de cada uno de ellos se encuentra a un nivel inferior que el del precedente. El flujo ascendente de agua más salina desde cada tanque al inmediatamente superior se consigue mediante bombas peristálticas. El tanque del nivel inferior se alimenta con agua de mar almacenada en un tanque de gran capacidad aparte de los que integran el simulador. El flujo de agua de río (o de una salinidad también conocida), se introduce en el sistema a través del tanque del nivel superior, mediante otra bomba peristáltica. El agua de río (o de salinidad conocida), se almacena a su vez en otro tanque ajeno a los que integran el simulador.

A través de un sistema de rebose hacia el tanque inmediatamente inferior, el volumen de cada uno de ellos se mantiene constante. Este sistema de rebose establece el flujo descendente de agua y su valor viene dado para cada tanque por la suma del caudal que asciende del tanque inmediatamente inferior y el caudal del río. El último tanque (el de nivel inferior) posee, como el resto, un sistema de rebose que mantiene su volumen constante y cuyo efluente (caudal) vierte a un desagüe.

La agitación del agua contenida en cada tanque se realizó por medio de una pala agitadora. Su diseño y dimensiones se optimizaron para asegurar un régimen turbulento en el interior de cada tanque. Cada tanque tiene un sistema de aireación que está conectado a una bomba electrosoplante. El porcentaje de saturación de oxígeno en cada tanque puede variarse a voluntad.

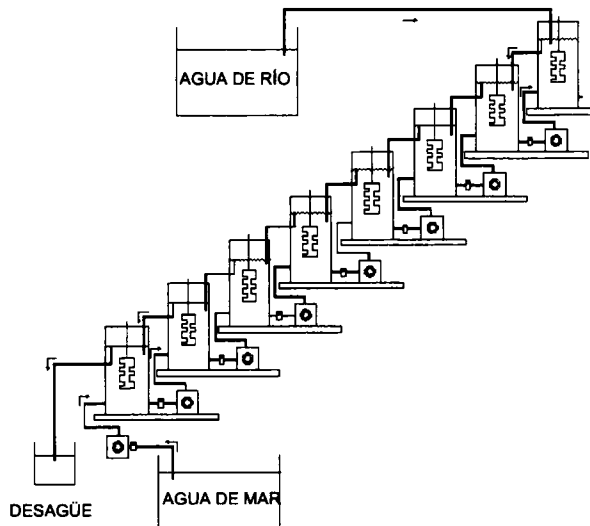


Figura 1. Representación esquemática del simulador dinámico de estuarios.

El control del funcionamiento del equipo se realiza por medio de un ordenador. Para ello, ha sido necesaria la construcción de una Tarjeta de Adquisición de Datos compatible con las características técnicas de los aparatos regulables que integran el equipo (bombas peristálticas, caudalímetros, termopares y termostatos). Para poder realizar un “control remoto” del simulador es necesario el registro continuo de los distintos caudales que suministran las bombas que integran el equipo. Por tanto, a la salida de cada bomba se encuentran instalados unos caudalímetros que llevan a cabo dicha misión.

La tarjeta es, en esencia, un convertidor Analógico-Digital que incluye unos lazos de control que permiten regular el funcionamiento del equipo. La tarjeta está controlada por un software que implementa un algoritmo PID del tipo velocidad. Como soporte informático se ha desarrollado un software en lenguaje informático Visual Basic para controlar tanto los distintos caudales que suministran las bombas peristálticas como la temperatura de cada uno de los tanques. La tarjeta actúa combinada con el PC proporcionando un mecanismo de autorregulación del equipo. Permite recibir la lectura de los caudalímetros de cada bomba y, según sea su valor instantáneo, se aumenta o disminuye de manera automática la velocidad de giro de las bombas peristálticas para adecuar su caudal al valor nominal. Del mismo modo actúa el control de temperatura; los termopares mandan información de la temperatura de cada tanque y, en función de su valor, la tarjeta de adquisición de datos hace conectarse o desconectarse los termostatos. Puede decirse que se establece un control por retroalimentación.

2.2. Descripción de los Experimentos realizados

Se han realizado tres experimentos, denominados SIES 1, SIES 2 y SIES 3, cuyo objetivo principal fue el simular, en el estuario del Guadalquivir, los efectos de un evento de contaminación aguda por metales pesados fruto de la liberación al estuario del agua procedente de la balsa de residuos sin depuración previa.

De forma anterior a los experimentos, se determinaron los gradientes longitudinales de salinidad reales en la zona comprendida entre la

desembocadura del Guadalquivir y su confluencia con el río Guadiamar (Sáenz, 1999; Gómez-Parra et al. 2000) comparándolos posteriormente con los gradientes de salinidad simulados que se utilizaron en cada uno de los experimentos. En la Figura 2 se muestran las variaciones de salinidad en función de la distancia en distintos instantes de marea.

A la vista de los resultados, se aprecia que el primer ensayo de simulación (SIES 1) corresponde a una situación intermedia de marea, por tanto, es el ensayo más representativo de las condiciones hidrodinámicas de la zona. Por esta razón, gran parte de la discusión del comportamiento de los metales corresponde a los resultados obtenidos para esta situación.

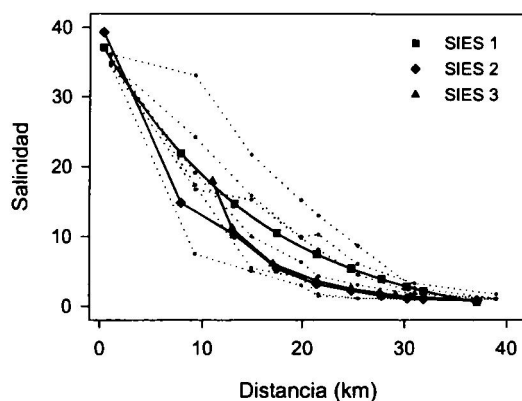


Figura 2. Gradientes longitudinales de salinidad reales medidos en el estuario del Guadalquivir para distintos instantes de marea (en trazo discontinuo), representados junto con los gradientes simulados en SIES 1, 2 y 3 (en trazo continuo). La distancia comienza a medirse desde la desembocadura del Guadalquivir. No se ha podido hacer un reposicionamiento por desplazamiento con la marea.

El segundo ensayo (SIES 2) describe una situación de bajamar típica, donde el volumen de agua del estuario es menor, y la influencia del vertido de metales sobre el sistema debería ser *a priori* más intensa. Por último, en el tercer ensayo (SIES 3), se ha realizado una ampliación de la zona fluvial del estuario, ya que la mayor reactividad de las sustancias se produce precisamente a bajas salinidades. De esta forma, se pueden estudiar más detalladamente los procesos físico-químicos que tienen lugar en dicha zona.

La toma de muestras al finalizar cada experimento se realizó a los ocho días después del comienzo de los ensayos SIES 1 y 2 y once días en el caso de SIES 3. En este momento, el grado de concordancia entre la salinidad de los distintos tanques y los valores teóricos previstos *a priori* fue excelente.

2.3. Métodos Analíticos empleados

2.3.1. Determinación de metales

La determinación de metales (Cd, Cu, Pb y Zn), se realizó por Voltamperometría de Redisolución Anódica, utilizando un equipo Metrohm VA 646 con Stand VA 647. El electrodo de trabajo (Metrohm, 6.1246.020), sobre el cual se amalgaman los metales preconcentrándose desde la disolución, se utilizó en el modo HMDE (Electrodo de gota de mercurio colgante). Se empleó un electrodo de Ag/ AgCl, KCl (3M) (Metrohm 6.0726.100) como electrodo de referencia y uno de Pt (Metrohm 6.0412.100) como electrodo auxiliar.

Para la determinación de metales en *fase disuelta*, las muestras se filtraron a vacío empleando filtros de fibra de vidrio (Millipore AP40-057-05). Las muestras, una vez filtradas, se sometieron a digestión ultravioleta durante 4 horas (previa adición de 200 μ L de H₂O₂ al 30%) en un digestor 705 UV de Metrohm (con lámpara de 500 W) con el fin de eliminar la materia orgánica.

Para la determinación de metales en *fase particulada*, las muestras se filtran a vacío empleando filtros de policarbonato (Millipore HTTP 04700) de 0.4 μ m. Posteriormente, los filtros se liofilizan durante 48 horas y se digieren en bombas de teflón siguiendo la metodología descrita por Loring y Rantala (1992). Todos los reactivos empleados en este protocolo fueron de categoría *Suprapur*. Se ha verificado el método analítico mediante el empleo de material de referencia (MESS-1NRC y CRM 277 BCR). En todos los casos los análisis concordaron con los valores certificados en un porcentaje superior al 90%.

2.3.2. Determinación de la Salinidad

Los datos de salinidad experimental se obtuvieron mediante medida de la conductividad en salinómetro. La salinidad se midió con un salinómetro de inducción BECKMAN, modelo RS-10, con control automático de temperatura. Una vez calibrado con agua de mar estándar (IAPSO, bath P93), se obtienen la conductividad relativa y la temperatura de las muestras y, por medio de los cálculos pertinentes, se consigue directamente la salinidad. La precisión del equipo para la medida de la salinidad es de $\pm 0,001$.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Aplicabilidad de la simulación al estuario del Guadalquivir

Ya que el equipo de simulación no está diseñado para establecer un gradiente vertical de salinidad en cada uno de los tanques, se ha determinado el grado de homogeneidad vertical que existe en el estuario del Guadalquivir.

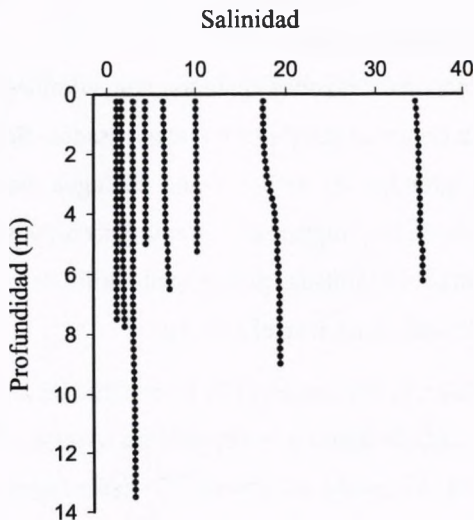


Figura 3. Perfiles verticales de salinidad en distintas estaciones del estuario del Guadalquivir obtenidas por medio de una sonda CTD.

En la Figura 3 se muestran los perfiles verticales de salinidad obtenidos *in situ* en diferentes estaciones de la zona estuárica del Guadalquivir. Puede observarse cómo las variaciones con la profundidad son poco importantes y, en este sentido, el sistema puede considerarse como un estuario no estratificado (estuario tipo A de la clasificación de Beer, 1983). De esta manera, los resultados obtenidos permiten la aplicación del equipo de simulación al estudio del estuario del Guadalquivir.

Por otra parte, en la Tabla 1 se recoge la composición de los tres tipos de agua empleadas en los ensayos SIES 1, 2 y 3. El agua de río ha sido tomada en el Guadalquivir a la altura de Coria del Río (Sevilla). Dicho municipio se encuentra lo suficientemente aguas arriba (a 80 Km de la desembocadura) como para asegurar que el agua recogida pertenece a la zona fluvial del Guadalquivir y que posee una escasa influencia marina. La salinidad de este agua es relativamente baja, en torno a 0.72, y los iones más abundantes son Cl^- , HCO_3^- , Ca^{2+} y SO_4^{2-} . Cabe destacar los altos valores de pH y de la concentración de carbono inorgánico, nitrato y silicato, así como un contenido bajo en los metales estudiados. El agua de mar procede de la bahía de Cádiz y puede considerarse como un agua de mar tipo de zonas costeras, con salinidades próximas a 37, y con niveles bajos de contaminación por metales pesados. Se tomaron volúmenes lo suficientemente grandes de ambos tipos de agua para asegurar que no existieran variaciones en la composición durante los ensayos. Ni el agua de río ni la de mar fueron filtradas ni tratadas previamente, a fin de intentar reproducir las condiciones naturales que existen en el estuario.

El agua tóxica usada en la simulación (100 L) se tomó de la zona de Entremuros, en la arqueta de entrada de aguas a la depuradora (Agosto, 1998). En la Tabla 1 se observa que su pH es elevado, en torno a 7.7. Esta alcalinización ya había sido detectada a las 2-3 semanas del accidente (Mujeriego et al., 1998, informe interno del CSIC) y puede ser la responsable de la importante disminución de la concentración de metales observada. En efecto, en análisis efectuados el 11 de mayo de 1998 la concentración de Zn era de 230 ppm, mientras que el 28 de

agosto era inferior a esa cifra casi un orden de magnitud. El resto de los metales experimentaron un comportamiento similar.

Tabla 1. Composición del agua de río, agua de mar y agua tóxica empleada en los ensayos de simulación.

	Agua de Río	Agua de Mar	Agua Tóxica
Salinidad	0.586	37.098	6.448
pH (NBS)	8.5	8.1	7.7
Carbono Orgánico (mM)	3.12	2.27	1.62
S.S. (mg L⁻¹)	90.7	112.6	852.3
O.D. (mg L⁻¹)	7.31	5.66	2.95
Cloruro (mM)	4.93	598.91	56.61
Sulfato (mM)	2.64	31.36	52.97
Calcio(mM)	2.45	9.70	11.39
Zn (μM)	0.319	0.404	457.98
Cd (μM)	1.06e ⁻³	2.58e ⁻³	0.846
Pb (μM)	0.027	0.019	1.216
Cu (μM)	0.057	0.040	1.454
Amonio (μM)	1.5	3.3	20.7
Nitrito (μM)	0.9	0.8	1.2
Nitrato (μM)	391.5	2.0	1.7
Fosfato (μM)	4.7	2.5	0.7
Silicato (μM)	102.9	6.6	118.2

El caudal de entrada de agua tóxica se fijó en 0.72 mL min⁻¹, que corresponde, tras efectuar el necesario cambio de escala, al vertido de los 3.6 10⁶ m³ de agua que inicialmente se encontraban embalsados en el Brazo de la Torre tras el accidente minero, en un tiempo de 14 días, y considerando un caudal medio del Guadalquivir de 60 m³ s⁻¹ (Estos datos han sido suministrados por el Dr. Francisco Gallart del Instituto de Ciencias de la Tierra Jaime Almera del CSIC y por la Confederación Hidrográfica del Guadalquivir).

3.2. Comportamiento de metales

En la figura 4 se muestra la evolución de las concentraciones de Zn, Cd, Pb y Cu en la fase disuelta a lo largo de los gradientes de salinidad obtenidos en los experimentos SIES 1, 2 y 3.

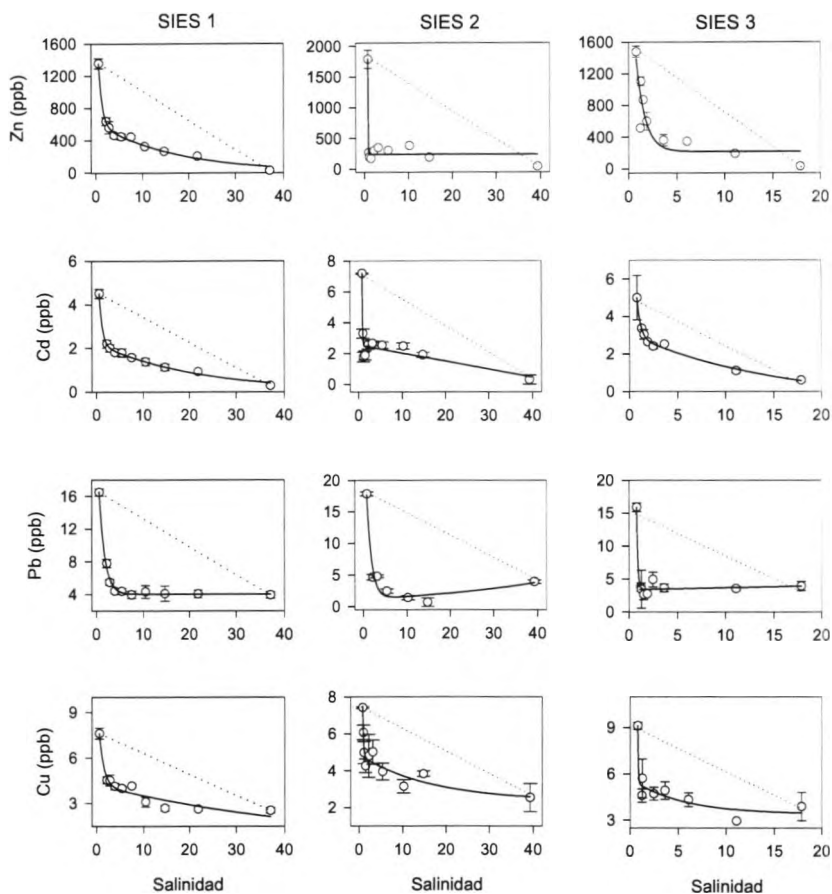


Figura 4. Variación de la concentración de Zn, Cd, Pb y Cu con la salinidad en los experimentos SIES 1, 2 y 3. En trazo discontinuo se señala la línea de dilución teórica; en trazo continuo, los ajustes exponenciales de las tendencias de los cuatro metales.

En todos los casos, las variaciones obtenidas se alejan considerablemente de la curva de dilución teórica, indicando la existencia de una elevada reactividad, fundamentalmente a salinidades bajas. El comportamiento no conservativo de estos metales ha sido descrito en numerosos estuarios (e.g., Holliday y Liss,

1976; Duinker y Nolting, 1978; Flegal et al., 1991; Van der Berg, 1991; Windom et al., 1991; Benoit et al., 1994), y generalmente es atribuido a procesos de adsorción sobre el material particulado, tanto de naturaleza orgánica como inorgánica (Bilinski et al., 1991; Kozar et al., 1992; Dai et al., 1995; Wood et al., 1995). No obstante, otros autores han encontrado variaciones lineales con la salinidad para algunos de estos metales (Paulson et al., 1989; Harper, 1991).

La discusión sobre el comportamiento de estos cuatro metales se centra, principalmente, en el primero de los tres experimentos de simulación (SIES 1) ya que, como se indicó anteriormente, dicho ensayo es el más representativo del estuario del Guadalquivir al reproducir una situación promedio en cuanto a régimen mareal se refiere. Como los procesos de adsorción de los metales sobre las paredes de los tanques son relativamente rápidos (del orden de horas), los resultados de las concentraciones de los cuatro metales obtenidos después del período de estabilización (varios días) no están afectados por esta clase de procesos. Por tanto, la influencia del proceso de adsorción de metales sobre las paredes de los tanques puede obviarse. De hecho, en la Tabla 2 se muestran los resultados del balance de materia efectuado tanque a tanque en el simulador para cada uno de los cuatro metales estudiados. Puede observarse cómo los valores de entrada y salida son similares en todos los casos.

Tabla 2. Balance de materia, tanque a tanque, con los resultados de las concentraciones de los cuatro metales en ambas fases (disuelta y particulada) durante los experimentos de simulación.

	Zn		Cd		Pb		Cu	
	Entrada	Salida	Entrada	Salida	Entrada	Salida	Entrada	Salida
Tanque 1	45.989	45.688	0.104	0.104	0.144	0.144	0.472	0.471
Tanque 2	40.371	39.077	0.093	0.087	0.139	0.138	0.449	0.430
Tanque 3	36.009	32.394	0.078	0.074	0.136	0.133	0.395	0.394
Tanque 4	31.987	31.407	0.072	0.070	0.128	0.126	0.390	0.387
Tanque 5	28.941	27.706	0.066	0.064	0.119	0.116	0.383	0.376
Tanque 6	26.462	22.948	0.057	0.056	0.112	0.109	0.375	0.373
Tanque 7	19.971	19.091	0.050	0.046	0.107	0.107	0.345	0.342
Tanque 8	15.506	12.799	0.042	0.040	0.106	0.104	0.303	0.295

El vertido directo de las aguas tóxicas sin depurar habría producido altas concentraciones de metales en la zona de confluencia entre el Guadalquivir y el Guadiamar, fundamentalmente de Zn (1350 ppb) y de Cd (4.5 ppb). Lógicamente, este hecho es consecuencia directa de la composición del agua tóxica procedente de la balsa siniestrada, que posee concentraciones de Zn y Cd del orden de 10^5 veces superiores a las que existen en la zona fluvial del Guadalquivir. En el caso del Pb y el Cu, estas diferencias son menores, del orden de unas 50 veces, y la dilución hace que los valores máximos encontrados en los ensayos de simulación sean similares a los que se han obtenido en medidas de campo para esta zona. Si se observan las concentraciones de los cuatro metales obtenidas en el segundo y tercer ensayos de simulación, se ve que siguen una tendencia similar al primer ensayo, sólo que con algunos matices.

En los dos últimos ensayos, las concentraciones de Pb y Cu se encuentran en los mismos intervalos de concentración que en el primer ensayo y, en consecuencia, son similares a las obtenidas en las muestras de campo. Sin embargo, las concentraciones de Zn y Cd son sensiblemente mayores en estos dos últimos ensayos (en torno a 1600 ppb y 6.5 ppb respectivamente). Esto es lógico si se consideran las condiciones que se han empleado en cada simulación. Mientras que el primer ensayo describe una situación de marea media para el Guadalquivir, el segundo ensayo representa una situación de bajamar acusada y el tercero consiste en una ampliación de la zona más fluvial del estuario. De ahí que se obtengan mayores concentraciones de Zn y Cd en situaciones de bajamar acusada, en las que la influencia del vertido de metales posee una mayor importancia sobre el sistema.

En la figura 5 se han representado las variaciones con la salinidad de las concentraciones medias de Zn, Cd, Pb y Cu en la fase disuelta para seis estaciones reales situadas entre la confluencia del Guadiamar con el Guadalquivir y la desembocadura de éste último en un período de tiempo comprendido entre los meses de mayo y septiembre de 1998 (adaptadas de Gómez-Parra et al., 2000).

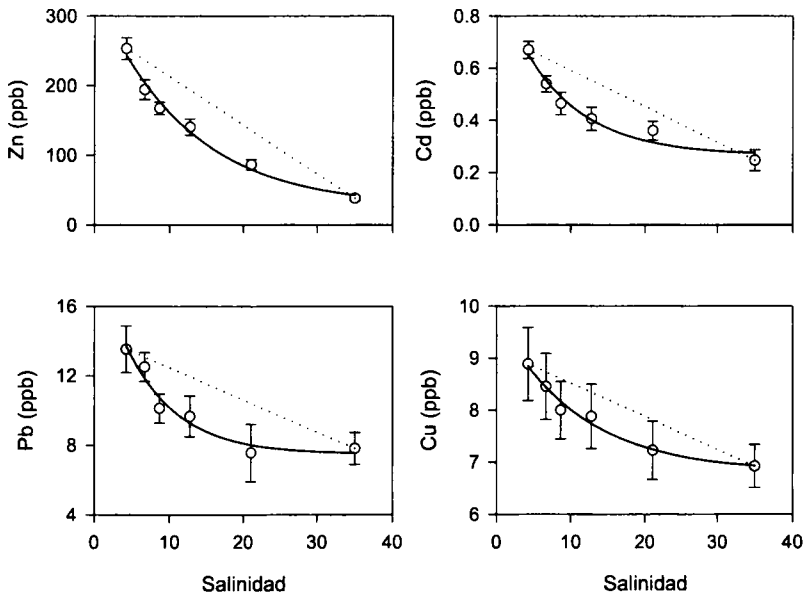


Figura 5. Variación de la concentración de Zn, Cd, Pb y Cu con la salinidad en seis estaciones reales del estuario del Guadalquivir (tomado de Gómez-Parra et al., 2000).

Puede observarse cómo las desviaciones estándar en estos casos son sensiblemente mayores que las encontradas en el primer ensayo de simulación (figura 4). Este hecho viene a poner de manifiesto la propia variabilidad natural del sistema, fundamentalmente relacionada con el régimen hidrodinámico existente y la velocidad del vertido de las aguas depuradas. En cualquier caso, el comportamiento es también, y de forma clara, de tipo no conservativo, aunque las concentraciones máximas de Zn y Cd (260 ppb y 0.7 ppb, respectivamente) son considerablemente menores que las encontradas en los tres ensayos de simulación. Por el contrario, los intervalos de variación de las concentraciones de Pb y Cu son similares para las muestras reales y las obtenidas en los tres ensayos de simulación. Lógicamente, esto pone de manifiesto la escasa influencia que poseen las características del agua vertida (depurada o no) sobre el estuario del Guadalquivir en lo que se refiere a estos dos últimos metales. A partir de los resultados obtenidos, se desprende que el vertido de agua tóxica procedente de la ruptura de la balsa de Aznalcóllar *habría producido* una fuerte contaminación por Zn y Cd.

Aunque el comportamiento de los metales estudiados en los ensayos de simulación y en los trabajos de campo es no conservativo, la disminución que se produce con la salinidad presenta tendencias diferentes. En el caso de la simulación en laboratorio del vertido sin depurar, las variaciones de la concentración se describen adecuadamente mediante una composición de dos funciones exponenciales del tipo:

$$C = a \cdot e^{-b \cdot S} + c \cdot e^{-d \cdot S} \quad [1]$$

Donde C es la concentración del metal (ppb), S la salinidad, y a, b, c, d son parámetros de ajuste. En el caso de los muestreos reales, las variaciones de concentración se ajustan adecuadamente a ecuaciones exponenciales simples del tipo:

$$C = a + c \cdot e^{-d \cdot S} \quad [2]$$

En la Tabla 3 se muestran los valores de los parámetros de ajuste y los coeficientes de regresión para las variaciones de las concentraciones de metales con la salinidad en el experimento SIES 1 y los obtenidos en los muestreos efectuados en el estuario del Guadalquivir.

Puede observarse cómo los parámetros de ajuste del segundo término exponencial que describe las variaciones de concentración obtenidas en el primer ensayo de simulación (expresión [1]) son relativamente parecidos a los términos exponenciales de las variaciones reales (expresión [2]). En este sentido, se observa un comportamiento parecido de las concentraciones de metales para salinidades superiores a 5 en los ensayos de simulación y variaciones reales en el estuario. Sin embargo, los elevados valores de “b” correspondientes a la primera de las expresiones exponenciales de variación de la concentración con la salinidad en los ensayos de simulación, describen la intensa disminución de las concentraciones de metales a salinidades más bajas que se ha detectado. Windom et al. (1999) describen un comportamiento similar para algunos metales en la región estuárica de Patos Lagoon (Brasil), para la zona de salinidades más bajas.

Tabla 3. Parámetros de ajuste de las concentraciones de Zn, Cd, Pb y Cu en función de la salinidad para el experimento SIES 1 y las variaciones reales encontradas en el estuario del Guadalquivir.

		a	b	c	d	r ²
Zn	Simulación	1675.1	1.3395	611.32	0.0565	0.9941
	Real	25.474	--	309.50	0.0825	0.9868
Cd	Simulación	6.0028	1.6029	2.2205	0.0456	0.9969
	Real	0.2670	--	0.6486	0.1229	0.9627
Pb	Simulación	20.637	0.8545	4.0396	0.0001	0.9944
	Real	7.4800	--	11.585	0.1460	0.9566
Cu	Simulación	6.2454	1.0234	4.2130	0.0184	0.9534
	Real	6.8137	--	3.0014	0.0920	0.9814

Estas expresiones de ajuste permiten estimar las pérdidas de metales en fase disuelta a lo largo del estuario. En este sentido, el flujo de metales [F(m)], a través de una determinada sección del estuario, se establece como:

$$F(m) = Q \cdot \left(C - S \cdot \frac{\partial C}{\partial S} \right) \quad [3]$$

donde Q es el caudal del río, que se ha fijado en 60 m³ s⁻¹. Las pérdidas en función de la salinidad se obtienen como:

$$\text{Pérdida} = \frac{\partial F}{\partial S} \quad [4]$$

y su expresión final depende de los parámetros de ajuste. En la Figura 6 se comparan las pérdidas de Zn, Cd, Pb y Cu a lo largo del estuario que se han obtenido en SIES 1 y en las variaciones reales.

Las evoluciones de estas pérdidas con la salinidad son diferentes; en el caso del ensayo de simulación, se obtiene aproximadamente el 80% de las pérdidas para salinidades en torno a 5, mientras que en las medidas realizadas en el Guadalquivir, las pérdidas se producen de forma mucho más progresiva con el aumento de la salinidad.

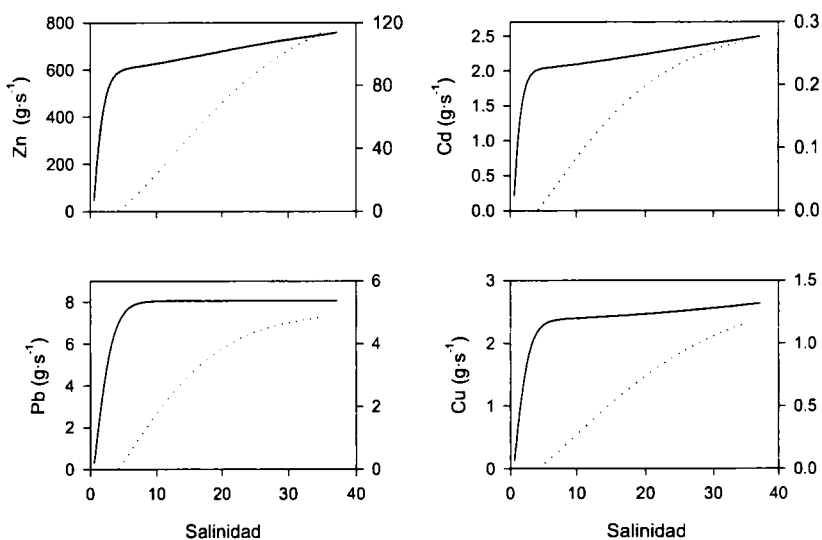


Figura 6. Pérdidas acumuladas de metales pesados en el estuario del Guadalquivir para el ensayo SIES 1 (línea continua) y para las estaciones reales del mismo (línea discontinua). En todos los casos, el eje de ordenadas izquierdo se corresponde con la pérdidas calculadas en SIES 1 y, el derecho, con las pérdidas en las estaciones reales.

Estas diferencias son explicables si se considera que en las medidas reales, el punto de vertido de la depuradora está situado en el río Guadiamar, a unos 17 Km. de distancia respecto a su confluencia con el Guadalquivir. Una parte de la reactividad que se ha encontrado en las pruebas de simulación puede deberse a reacciones que experimentan estos metales, fundamentalmente su asociación con el material particulado, en la zona de transición desde el vertido hasta el Guadalquivir. Por otra parte, las altas concentraciones de metales en las aguas sin depurar que han servido de alimentación en las pruebas de simulación pueden ser las responsables de la elevada reactividad observada a bajas salinidades.

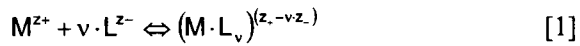
3.3. Especiación de metales

Se ha establecido la especiación de los cuatro metales estudiados en el primer experimento (SIES 1) a lo largo del gradiente de salinidad. Para ello, se ha aplicado el modelo propuesto por Turner et al. (1981) que permite calcular la especiación de 58 elementos traza para el agua de mar (pH 8.2) y para el agua de

río (pH 6 y 9). Los resultados proporcionan un resumen genérico de la especiación de elementos traza en aguas naturales en función de la reactividad de los metales.

En concreto, se ha calculado la especiación del Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} y Cu^{2+} con los aniones CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , Cl^- y OH^- , considerando las asociaciones formadas con más de una molécula de estos ligandos. A diferencia del trabajo realizado por Turner et. al. (1981), no se ha establecido la especiación de estos metales con F^- , ya que no contribuyen de forma apreciable en la especiación de estos metales.

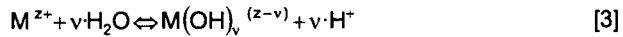
Para la formación de un complejo del tipo:



La constante de estabilidad se formula como:

$$\beta_i^* = \frac{[ML_i^{(z-vz)}]}{[M^z] \cdot [L_i]^v} \quad [2]$$

En el caso de que la formación del complejo implique una reacción de hidrólisis, la reacción se puede escribir como:



y su constante de formación vendría dada como:

$$\beta_i^* = \frac{[M \cdot (OH)^{(z-v)}] \cdot [H^+]^v}{[M^z]} \quad [4]$$

Para el cálculo de las distintas constantes de estabilidad (β^*), se han aplicado las expresiones propuestas por Turner et al (1981) y que están basadas en la ecuación de Debye-Hückel:

$$\log \beta_i^* = \log \beta_i^0 + \frac{S \cdot \Delta z^2 \cdot I^{1/2}}{(1 + B \cdot I^{1/2})} + C \cdot I + D \cdot I^2 \quad [5]$$

donde β_i^* es la constante de estabilidad para una fuerza iónica I, β_i^0 es la constante de estabilidad en agua pura, S depende de la temperatura (0.511 para

25°C), y B,C y D son parámetros de ajuste. Esta expresión es válida para todos los complejos excepto para la formación de hidróxidos, que recibe un tratamiento distinto:

$$\log \beta_i^* = \log \beta_i^0 + \frac{S \cdot \Delta Z^2 \cdot I^{1/2}}{(1 + I^{1/2})} + C \cdot I \quad [6]$$

Para la obtención de la especiación se han utilizado los ajustes exponenciales o lineales de las concentraciones con la salinidad para los metales y ligandos.

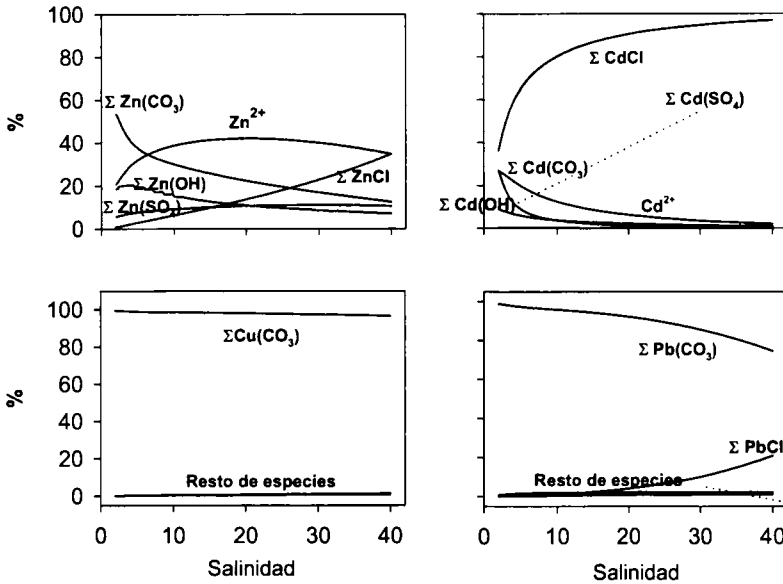


Figura 7. Especiación de Zn, Cd, Pb y Cu (%) frente a la salinidad en SIES 1. Cada curva representa la suma de las concentraciones de las distintas especies formadas por un mismo ligando.

Los resultados obtenidos se muestran en la figura 7, donde se han representado las especiaciones en porcentaje de Zn, Cd, Pb y Cu. Cada curva representa la suma de las concentraciones de las especies formadas con un mismo ligando.

La especiación del Zn en el agua de río en el ensayo de simulación difiere de la obtenida por Turner et. al. (1981). Se observa un mayor porcentaje de Zn^{2+} y un

porcentaje de $\Sigma\text{Zn}(\text{OH})$ mucho más pequeño. Por otro lado, el porcentaje de $\Sigma\text{Zn}(\text{CO}_3)$ es sensiblemente mayor. Estas diferencias se encuentran relacionadas con la distinta composición del agua de río empleada en el cálculo de las especiaciones. Turner et. al (1981) utiliza un agua de río con una concentración 10 veces menor de CO_3^{2-} que la que existe en el Guadalquivir. Además, la constante de estabilidad de ZnCO_3 es más alta que la de $\text{Zn}(\text{OH})$, por lo que se favorece la formación de ZnCO_3 . Conforme aumenta la salinidad, el porcentaje de ZnCO_3 disminuye, al igual que el de $\Sigma\text{Zn}(\text{OH})$, y las especies mayoritarias pasan a ser el Zn^{2+} y el ΣZnCl . Esta variación se debe al aumento muy acusado de la cantidad de Cl^- en el medio con lo que se favorece la formación de pares iónicos con este anión.

La especiación del Cd presenta una tendencia muy característica. A bajas salinidades, existen porcentajes apreciables (en torno al 30%) de Cd^{2+} , de $\Sigma\text{Cd}(\text{CO}_3)$ y de ΣCdCl . Como en el caso del Zn, la atípica composición del Guadalquivir provoca que estas cantidades difieran de las que presenta Turner et al. (1981) para un agua de río típica, fundamentalmente en lo que respecta a los complejos con el carbonato. Conforme aumenta la salinidad, disminuyen los porcentajes de las anteriores especies, excepto el de ΣCdCl ya que casi todo el Cd existente aparece en esta forma (97%). Además, en esta zona del estuario, donde el agua de río posee una influencia muy baja en la mezcla, se encuentra el mismo patrón de distribución para las especies del Cd, tanto en Turner et al. (1981) como en la simulación.

La especiación del Pb también presenta una clara tendencia espacial. En la zona fluvial, casi el 100% de Pb se encuentra en forma de $\Sigma\text{Pb}(\text{CO}_3)$, para disminuir progresivamente (hasta el 80%) conforme aumenta la salinidad. Empieza a aparecer entonces un porcentaje apreciable (20%) de ΣPbCl . En el caso del Pb, el patrón de especiación de la simulación es similar al descrito por Turner et al. (1981), tanto para agua de río como para agua de mar.

En la especiación de Cu, el $\Sigma\text{Cu}(\text{CO}_3)$ constituye la especie dominante con un porcentaje de 98% prácticamente invariable a lo largo de todo el estuario y sin

que se acuse un cambio apreciable con el aumento de salinidad. No obstante, Turner et al. (1981) describen un patrón de especiación similar para este metal, aunque el porcentaje inicial de $\Sigma\text{Cu}(\text{CO}_3)$ sea algo menor para salinidades bajas. Esta diferencia puede explicarse señalando la gran concentración de carbonato encontrada en el agua del Guadalquivir.

4. CONCLUSIONES

Se ha realizado una simulación del vertido de agua tóxica procedente del accidente minero sobre el estuario del Guadalquivir, en el caso hipotético de que dicho agua se hubiese vertido sin depurar. Los resultados obtenidos permiten asegurar que el vertido directo del agua embalsada en Entremuros habría originado una fuerte contaminación por Zn y Cd en el estuario. Las concentraciones alcanzadas habrían superado, respectivamente, 1300 y 7 ppb, y se habría provocado una importante acumulación de estos metales en el material en suspensión y en los sedimentos, especialmente en la zona de menor salinidad del estuario.

De manera similar a lo observado en los estudios de campo, en las condiciones de simulación ensayadas, todos los metales estudiados (Zn, Cd, Pb y Cu) presentaron un comportamiento no conservativo, aunque en este caso se ha observado un importante aumento de la reactividad en las zonas del estuario de menor salinidad. En el caso de no haberse depurado el agua tóxica, el 80% de las pérdidas de metales en la fase disuelta se habría producido a salinidades inferiores a 5, lo que podría haber aumentado el porcentaje de metales retenidos en el estuario.

Se ha establecido, además, la especiación de los cuatro metales en la fase disuelta, siguiendo el modelo propuesto por Turner et al. (1981). Aunque el comportamiento de cada metal es diferente, los iones carbonato y cloruro son los ligandos inorgánicos responsables de la mayor parte de las asociaciones iónicas.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Beer T (1983) En: *Environmental Oceanography*. Pergamon Press, Oxford. pp:226
- Benoit G, Otkay-Marshall A, Cantu A, Hood EM, Coleman CH, Corapcioglu MO, Santschi PH (1994) Partitioning of Cu, Pb, Ag, Zn, Fe, Al y Mn between filter-retained particles, colloids, and solution in six Texas estuaries. *Mar Chem* 45: 307-336
- Bilinski H, Kozar S, Plavsic M, Kwokal Z, Branica M (1991) Trace metal adsorption on inorganic solid phases under estuarine conditions. *Mar Chem* 32: 225-233
- Dai M, Martin JM, Cauwet G (1995) The significant role of colloids in the transport and transformation of organic carbon and associated trace metals (Cd, Cu and Ni) in the Rhone delta (France). *Mar Chem* 51:159-175
- Duinker JC, Nolting RF (1978) Mixing, Removal and Mobilization of Trace Metals in the Rhine Estuary. *Neth J Sea Res* 12:205-233
- Flegal AR, Smith GJ, Gill GA (1991) Dissolved trace element cycles in the San Francisco Bay estuary. *Mar Chem* 36: 329-363
- Gómez-Parra A, DelValls TA, Forja JM, Sáenz I, Riba I. (2000) Early contamination by heavy metals of the Guadalquivir estuary after the Aznalcóllar mining spill (SW Spain). *Mar Poll Bull* 40(12): 1115-1123
- Harper DJ (1991) The distribution of dissolved cadmium, lead and copper in the Bristol Channel and the outer Severn estuary. *Mar Chem* 33: 131-143
- Holliday LM, Liss PS (1976) The behaviour of dissolved iron, manganese and zinc in the Beaulieu Estuary. En: *Estuarine Chemistry*. (Burton JD and Liss PS, eds.). Academic Press, London. pp: 93-130
- Kozar S, Bilinski H, Branica M (1992) Adsorption of lead and cadmium ions on calcite in the Krka estuary. *Mar Chem* 40: 215-230

- Loring DH, Rantala RTT (1992) Manual for the Geochemical Analyses of Marine Sediments and Suspended Particulate Matter. *Earth-Science Reviews* 32: 235-283
- Mujeriego R, García J, Knobelksdorf J, Bourrouet A, Querol X, Alastuey A, Cabanes M (1998) Tratamiento físico-químico de las aguas superficiales contaminadas por las aguas residuales de la mina de Aznalcóllar. Informe técnico previo realizado a petición del Dpto. de Química Ambiental del CID-CSIC de Barcelona, 19 pp
- Paulson AJ, Feely RA, Curl HC, Tennant DA (1989). Estuarine Transport of Trace Metals in a Buoyant Riverine Plume. *Estuarine Coastal Shelf Sci* 28:231-248
- Sáenz I (1999) Transporte y reactividad de Zn, Cd, Pb y Cu en el estuario del Guadalquivir tras el accidente minero de Aznalcóllar. Tesis de Licenciatura. Universidad de Cádiz. 129 pp
- Turner DR, Whitfield M, Dickson AG (1981) The Equilibrium Speciation of Dissolved Components in Freshwater and Seawater at 25°C and 1 atm Pressure. *Geochim Cosmochim Acta* 45: 855-881
- Van Den Berg CMG (1991) Monitoring of labile copper and zinc in estuarine waters using cathodic stripping chronopotentiometry. *Mar Chem* 34: 211-223
- Windom H, Byrd J, Smith R, Hungspreugs M, Dharmvanij S, Thumtrakul W, Yeats P (1991) Trace metal-nutrient relationships in estuaries. *Mar Chem* 32: 177-194
- Windom HL, Niencheski LF, Smith RG Jr (1999) Biogeochemistry of Nutrients and Trace Metals in the Estuarine region of the Patos Lagoon (Brazil). *Estuarine Coastal Shelf Sci* 48: 113-123

Dinámica del carbono inorgánico y sales nutrientes en el estuario del río Guadalquivir

Ponce, R., Ortega, T., de la Paz, M., Gómez-Parra, A. y Forja, J.M.

Departamento de Química Física. Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales.

Campus Río San Pedro, s/n. 11510, Puerto Real, Cádiz (Spain)

1. INTRODUCCIÓN

Los sistemas estuáricos son zonas de gran interés desde el punto de vista químico, ya que se encuentran sometidos a gradientes que generan en ellos la distinta composición de las aguas de río y del mar. Además, constituyen la vía de acceso al medio marino de numerosas sustancias de origen terrestre.

Ambas circunstancias hacen que estos sistemas sean con frecuencia lugares altamente contaminados, y que en la medida en que la mezcla estuárica induce a una elevada reactividad, los estuarios regulen la entrada de muchas sustancias al medio marino. En muchos casos, también determinan su comportamiento posterior.

La cuantificación del proceso de mezcla en las distintas zonas del estuario y la descripción de la circulación estuárica se basan en los principios de la dinámica y el balance de determinadas sustancias conservativas que forman parte de las masas de agua involucradas en la mezcla. Así, se entiende por sustancia conservativa aquella cuya concentración en la fase disuelta depende exclusivamente del grado de mezcla de las distintas masas de agua que la contienen (Morris, 1984).

La actividad antropogénica es una fuente predominante de nutrientes en algunos estuarios (Carpenter et al., 1969; Ryther y Dunstan, 1971; Nixon, 1981), ya que una gran cantidad de nitrógeno y fósforo es transportado por los vertidos urbanos, agrícolas e industriales (Jaworski, 1981). El incremento de la producción de vertidos y de la utilización de fertilizantes en la agricultura ha provocado una entrada masiva de N y P inorgánicos en los estuarios durante las tres últimas décadas. Los estuarios se han considerado en muchas ocasiones exportadores de nutrientes a las zonas costeras adyacentes. Actualmente existe una gran controversia sobre si las zonas costeras actúan como fuente o como sumidero de CO₂ a la atmósfera. Esta incertidumbre se debe a la gran heterogeneidad que caracteriza a estas zonas y a que los estudios sobre CO₂ en las zonas costeras han estado limitados tanto en el espacio como en el tiempo, en comparación con las zonas oceánicas. Por esta razón, diferentes investigadores (Sarmiento y Sundquist, 1992, Borges y Frankignoulle, 1999), han sugerido que es necesario un mayor número de estudios para poder evaluar la contribución de las zonas costeras al ciclo global del carbono. De hecho en los últimos años, este tema ha sido motivo de estudio dentro de varios programas nacionales e internacionales (e.g., LOICZ, LOIS, ELOISE).

Entre las zonas costeras tienen especial interés los estuarios, en los que las aguas superficiales suelen presentar una cierta sobresaturación de CO₂ respecto a la atmósfera, con unas presiones parciales que varían entre 500 y 9500 μ atm (Frankignoulle et al., 1996). En este capítulo se resumen las principales características de la dinámica del carbono inorgánico y nutrientes en el estuario del Guadalquivir, incluyendo su distribución, reactividad e intercambio con las mareas. En el último apartado se abordará la medida de pCO₂ y carbono inorgánico en la columna de agua, así como la estimación de los flujos de CO₂ agua atmósfera en las aguas superficiales del estuario del Guadalquivir. Anteriormente no se había realizado ningún estudio similar en este estuario, a pesar de su importancia en el sur de la Península Ibérica.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Selección de estaciones y muestreos realizados

Las muestras de aguas y sedimentos proceden de una red de estaciones a lo largo del Guadalquivir y del Brazo de La Torre cuya localización se indica a continuación (tabla 1; figura 1). La elección de estas estaciones se realizó en mayo de 1998 procurando obtener con ellas una visión homogénea del tramo final del estuario y se hicieron coincidir con lugares singulares del territorio que fueran fácilmente localizables.

Tabla 1. Localización de las estaciones muestreadas en el Guadalquivir y en el Brazo de La Torre.

Estación	Coordenada X (huso 30)	Coordenada Y (huso 30)
BT6	208536	4102102
BT5	208155	4100711
BT4	207679	4099112
BT3	207118	4096176
BT2	207543	4095295
BT1	209072	4092973
GL8	216851	4094656
GL7	212487	4088709
GL6	208355	4090264
GL5	203862	4089441
GL4	201980	4088220
GL3	201064	4084257
GL2	202090	4078562
GL1	194575	4074942

Los muestreos han tenido al menos un carácter estacional. Las fechas y las finalidades de los mismos se indican en la tabla 2. La temporalidad de los muestreos ha estado determinada por la evolución de determinadas variables ambientales (régimen de lluvias, caudal del Guadalquivir, temperatura, amplitud

de las mareas, entre otras) que tenían una marcada influencia en los procesos a estudiar. No obstante, con carácter general, se ha realizado al menos un muestreo por estación climática, con objeto de obtener una base de datos que permita su análisis como una serie temporal. Es de señalar, también, que la elección exacta de las fechas de muestreo ha estado sesgada, en cierta medida, por la disponibilidad de embarcaciones adecuadas al tipo de estudio a realizar.

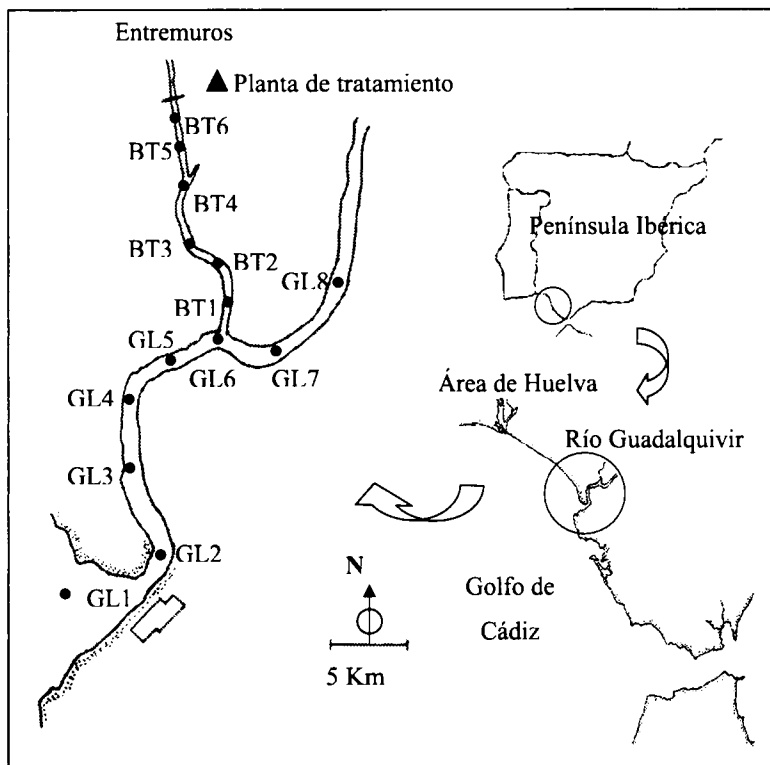


Figura 1. Localización de las estaciones de muestreo en el estuario del Guadalquivir y el Brazo de La Torre.

Se realizaron distintos muestreos con objeto de caracterizar el tipo de comportamiento (conservativo ó no conservativo) de los distintos elementos a lo largo de un gradiente de salinidad. En el caso del muestreo D1, se realizaron 2 transectos en el estuario del Guadalquivir, uno en pleamar y el otro en bajamar.

El resto de los muestreos de gradiente longitudinal en el estuario del río Guadalquivir, a excepción de D6, se realizaron en periodos de bajamar.

Estos muestreos en el estuario se realizaron utilizando pequeñas embarcaciones de la UCA, del CSIC y de la Consejería de Medio Ambiente (AMA V y AMA VI). Las campañas para el fondeo de los aparatos (correntímetros, mareógrafos y perfiladores Doppler), la obtención de perfiles de CTD y el establecimiento del intercambio de carbono y nutrientes con las mareas, se hicieron a bordo del B/O *Mytilus*.

Tabla 2. Relación de los muestreos realizados para la caracterización del estuario del río Guadalquivir y del Brazo de la Torre. Se incluye la fecha de realización, el número de estaciones seleccionadas y la finalidad de cada uno de los muestreos.

Código	Fecha	nº de estaciones	Finalidad
D1	20/05/1998	8	Gradientes longitudinales
D2	28/07/1998	14	Gradientes longitudinales
D3	21/08/1998	14	Gradientes longitudinales
D4	21/09/1998	6	Gradientes longitudinales
D5	22/10/1998	14	Gradientes longitudinales
D6	16/12/1998	14	Gradientes longitudinales
D7	26-27/01/1999	2	Intercambio con las mareas
D8	12-15/06/2000	4	Intercambio con las mareas
D9	19/12/2000	8	Gradientes longitudinales
D10	8/06/2002	2	Intercambio con las mareas

2.2. Toma de muestras

Las muestras de agua del estuario se tomaron con botellas Ruttner (Hidrobios, Kiel) recubiertas de teflón. Dado que el muestreo es una de las etapas cruciales a la hora de obtener resultados fiables, se tomó la máxima precaución para evitar la contaminación.

2.3. Métodos analíticos

La salinidad se midió con un salinómetro de inducción BECKMAN, modelo RS-10, con control automático de temperatura. Una vez calibrado con agua de mar estándar (IAPSO, bath P93), se obtiene la conductividad relativa de las muestras que, permite calcular la salinidad. La precisión del equipo para la medida de la salinidad es de ± 0.001 .

El oxígeno disuelto de las muestras se determinó mediante la utilización de una adaptación de Strickland y Parsons (1972) al método iodométrico tradicional de Winkler (Grasshoff et al., 1983). Este procedimiento posee una precisión de $\pm 0.003 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, y detecta concentraciones de hasta $0.005 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. La fijación del oxígeno disuelto contenido en las muestras se realizó inmediatamente después de su obtención.

La determinación de la alcalinidad se realizó por medio de una valoración potenciométrica con HCl (0.1M), utilizando para ello un valorador automático (Metrohm 716 DMS Titrimo) provisto de un electrodo combinado de vidrio Ag/AgCl (Metrohm 6.0210.100).

La valoración potenciométrica se realizó siguiendo el procedimiento indicado por DOE (1994), en una celda termostatzada y cerrada que asegura que no se produzcan pérdidas del carbono inorgánico durante la valoración. El volumen de muestra empleado fue de 50 mL. El algoritmo de cálculo es complejo y combina funciones de Gran para la estimación del potencial estándar del electrodo y la alcalinidad total, con programas de ajuste no lineales capaces de optimizar simultáneamente el valor de la alcalinidad total, la concentración de carbono inorgánico y el potencial estándar del electrodo. También se considera la influencia de los principales sistemas ácido-base presentes en aguas estuáricas. Como resultado final se obtienen valores precisos del pH (NBS) inicial de la muestra (± 0.002) y de la alcalinidad total ($\pm 1 \mu\text{M}$) (Ortega, 1996).

A partir de la alcalinidad total y el pH (NBS) se ha determinado la especiación del carbono inorgánico. Para ello se ha utilizado las constantes de disociación propuestas por Mehrbach et al. (1973) para la primera y segunda constante de disociación del carbónico y para la solubilidad, K_0 , se utilizó la expresión propuesta por Weiss (1974). El principio para la medida de pCO_2 se basa en equilibrar una fase gaseosa con el agua de mar, y la posterior determinación de la fracción molar en la fase gaseosa. Como el equilibrio aire-mar del dióxido de carbono, depende de la temperatura y la presión a la que se realiza, es necesario conocer el valor de estas variables en el proceso de equilibrado. El diseño del equipo utilizado es un equilibrador que sigue el sistema de tipo “burbuja” y “flujo laminar” simultáneamente igual al utilizado por Körtzinger et al., 1996 (figura 2). Este sistema consta de una serie de electroválvulas controladas con un PC que selecciona la entrada al canal de medida de un LI-COR 6262 del aire procedente del equilibrador o del aire atmosférico. De esta manera se consigue un registro en continuo de la presión parcial del CO_2 en la superficie del agua.

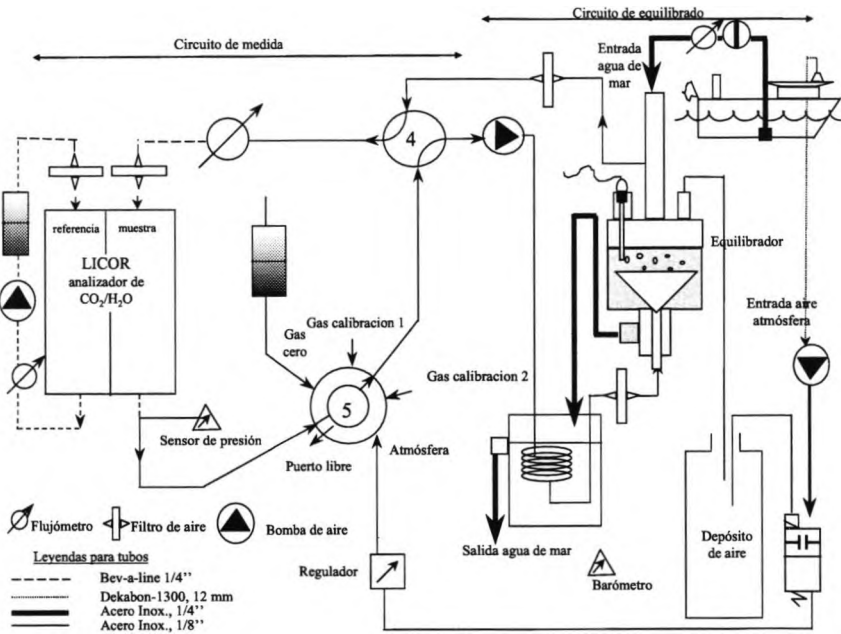


Figura 2. Esquema del equipo de medida de pCO_2 en agua de mar (Gago, 2000)

La determinación de la concentración de nutrientes se ha realizado empleando un autoanalizador de flujo segmentado (TRAACS 800, Bram Luebbe). Todas las determinaciones de nutrientes se basan en medidas espectrofotométricas clásicas (Grasshoff et al., 1983).

Para la determinación del transporte de los elementos con las mareas, se requirió medir la velocidad de corriente, para lo cual se utilizó un correntímetro (Oceanoscope Ltd. Modelo DNC-3^a), previamente calibrado.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Comportamiento del CID y de los nutrientes en el Brazo de la Torre

En la tabla 3 se presentan los valores medios de la concentración carbono inorgánico disuelto (CID) y de nutrientes para todas las estaciones en los diferentes muestreos realizados en el tramo final del río Guadiamar, llamado el "Brazo de la Torre".

Uno de los principales afluentes del Guadalquivir es el río Guadiamar, cuya confluencia está próxima a la estación GL6 (figura 1). Éste está altamente contaminado, especialmente debido al vertido de residuos tóxicos procedentes de la empresa minera Boliden. Dicho río presenta unos valores de pH y CID muy elevados (tabla 3), que varían poco con el tiempo y que pueden ejercer una importante influencia en la parte final del río.

Se ha observado un aumento paulatino de las concentraciones de CID, de nitrato y de nitrito a lo largo del periodo muestreado, y del fosfato en los dos últimos muestreos efectuados. Sin embargo, en el caso del silicato se aprecia la tendencia contraria, una disminución de sus valores medios a medida que ha transcurrido el tiempo desde el accidente de Aznalcóllar. Las concentraciones de silicato en el río Guadiamar son superiores en todos los casos a las del río Guadalquivir en la confluencia entre ambos, aunque este comportamiento no se ha observado para otras variables como el fosfato, el amonio o el pH.

Tabla 3. Valores medios de las concentraciones de carbono inorgánico disuelto y sus diferentes especies (mM), y de los nutrientes (μM), pH y salinidad en el Brazo de la Torre en los muestreos realizados en 1998 y 1999.

	D2	D3	D5	D6	D7
Muestreo	(28/07/1998)	(21/08/1998)	(22/09/1998)	(16/12/1998)	(27/01/1999)
CID	5.56±0.14	5.84±0.39	6.09±0.21	6.01±0.07	3.99±0.49
HCO ₃ ⁻	5.31±0.14	5.57±0.37	5.88±0.21	5.69±0.86	3.77±0.49
CO ₃ ²⁻	0.84±0.91	0.20±0.03	0.15±0.02	0.24±0.09	0.15±0.05
CO ₂	0.07±0.05	0.07±0.01	0.09±0.01	0.06±0.02	0.04±0.03
NO ₃ ⁻	0.19±0.21	0.77±0.49	1.06±0.31	136.1±141.	38.4±45.8
NO ₂ ⁻	0.31±0.11	0.55±0.23	0.74±0.18	0.73±0.30	2.82±1.61
NH ₄ ⁺	4.10±1.67	2.93±0.81	7.82±1.21	6.74±1.94	4.63±1.54
HPO ₄ ²⁻	1.13±0.18	1.33±0.24	1.15±0.19	3.40±1.92	6.00±2.74
Si(OH) ₄	353±69	227±40	261±32	123±11	79±10
pH	7.94±0.04	7.92±0.07	7.85±0.04	8.04±0.07	8.09±0.17
Salinidad	1.55±0.10	2.30±0.64	5.16±0.74	5.54±0.46	3.32±0.98

3.2. Dinámica del carbono inorgánico disuelto y de nutrientes en el estuario

El río Guadalquivir se caracteriza por poseer concentraciones de carbono inorgánico disuelto muy elevadas, que llegan a ser incluso superiores a 6 mM a salinidades bajas (<3). Estos valores, superiores a la concentración media de carbono inorgánico disuelto en el mar ~ 2.3 mM, se han encontrado en otros estuarios afectados por una fuerte actividad humana, como el de San Antonio (Benoit et al., 1994), el del Sena (Roy et al., 1999) y el Scheldt (Abril et al., 2000).

En la figura 3 se muestra la evolución del oxígeno disuelto, pH y carbono inorgánico a lo largo del estuario del Guadalquivir en dos situaciones de marea

distintas (decreciente y creciente) en un muestreo realizado el 20/05/98 (D1). Se observa, que la concentración de CID disminuye a lo largo del gradiente de salinidad de forma lineal durante el muestreo realizado en pleamar. El pH, por el contrario, aumenta hacia el mar y presenta valores comprendidos entre 7.7 y 8.2.

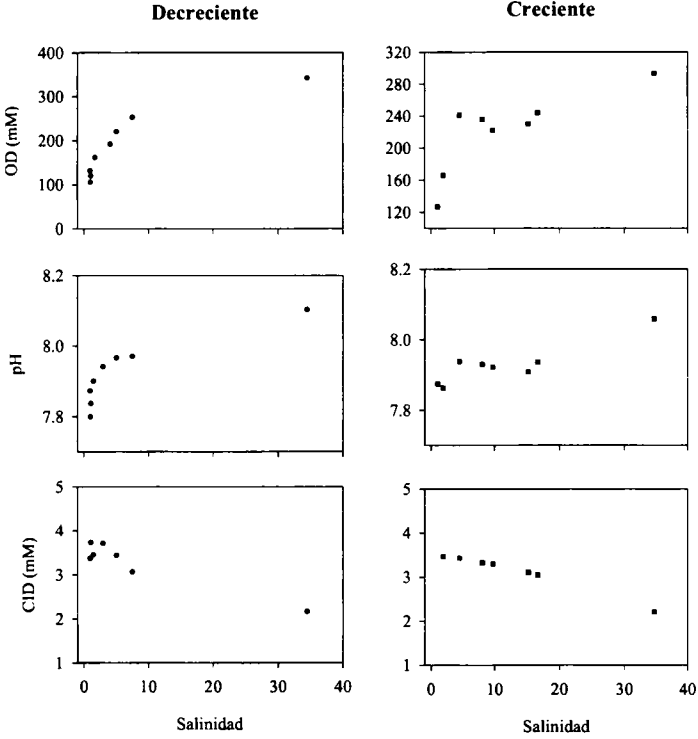


Figura 3. Evolución del oxígeno disuelto, pH y carbono inorgánico disuelto a lo largo del gradiente de salinidad en el estuario del Guadalquivir en dos situaciones de marea distintas, en decreciente (●) y en creciente (■). Los datos corresponden al muestreo D1.

Debido al aporte de agua del Brazo de la Torre, que presenta una concentración de carbono inorgánico sustancialmente distinta a la del Guadalquivir, el método reactante sólo se puede aplicar en éste último río entre las estaciones GL1 y GL6. En los distintos muestreos realizados se ha comprobado que el CID presenta un comportamiento prácticamente conservativo (figura 4).

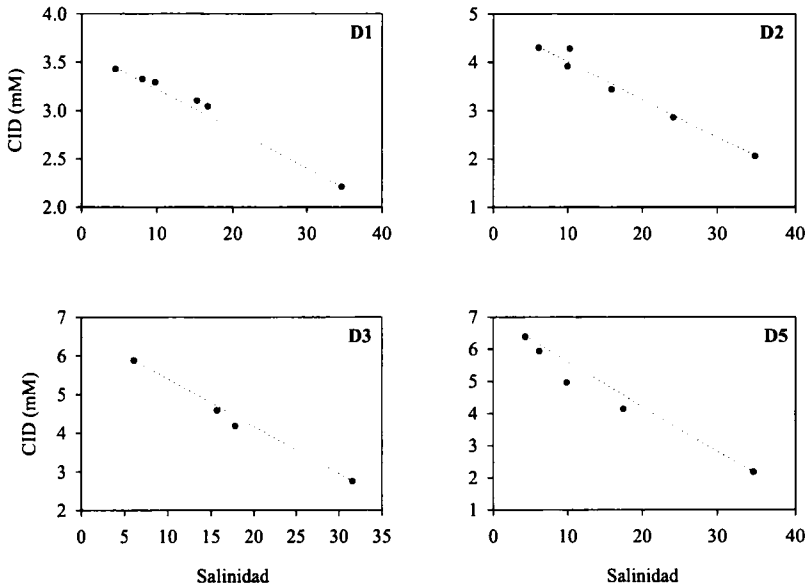


Figura 4. Variación de la concentración del carbono inorgánico disuelto a lo largo del gradiente de salinidad en diferentes muestreos. La línea discontinua representa la línea de dilución teórica.

Aunque el carbono inorgánico presente un comportamiento conservativo, se aprecia una interconversión entre las distintas especies motivada por la evolución del pH (figura 5), de manera que su incremento al aproximarse al mar, provoca un aumento de la concentración de carbonato, paralelo a una disminución de la concentración de bicarbonato y dióxido de carbono.

En cuanto a la variación de la concentración de nutrientes a lo largo del estuario del río Guadalquivir, se ha encontrado que no existen diferencias significativas con la profundidad. Estos resultados apoyan la hipótesis de que se trata de un estuario verticalmente homogéneo. En las figuras 6 a 11 se ha representado la variación la concentración de los diferentes nutrientes a lo largo del gradiente de salinidad.

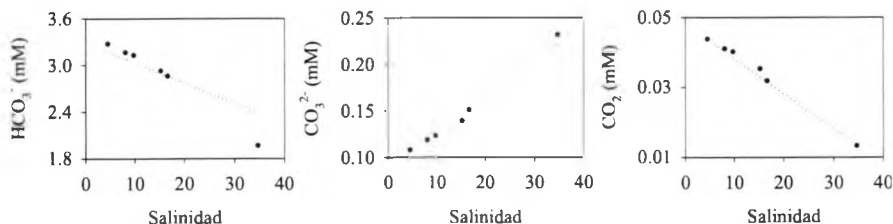


Figura 5. Variación de la concentración de bicarbonato, carbonato y dióxido de carbono con el gradiente de salinidad en el muestreo realizado el 20/05/98. La línea discontinua representa la línea de dilución teórica.

En el caso del estuario del río Guadalquivir, la especie de nitrógeno inorgánico mayoritario es el nitrato. Este predominio del nitrato suele ser habitual en muchos sistemas estuáricos. Además, se han encontrado importantes diferencias entre los distintos muestreos. Mientras que en D1, D3 y D4 el nitrato parece tener un comportamiento relativamente conservativo, y sin embargo, en D2 y D6 aparecen ganancias a salinidad entre 10 y 20, y pérdidas en D5 a salinidades inferiores a 10. A este respecto, hay que destacar que el estuario del río Guadalquivir tiene el Brazo de la Torre como tributario dentro de la zona estudiada, y por tanto, el concepto de comportamiento conservativo, así como el de pérdidas y ganancias, no pueden ser aplicadas de una forma estricta.

Cabe destacar los altos valores de nitrato encontrados en el muestreo D1, superando incluso los 100 μM en la zona más fluvial, y que no se volvieron a encontrar en los sucesivos muestreos realizados en este estuario.

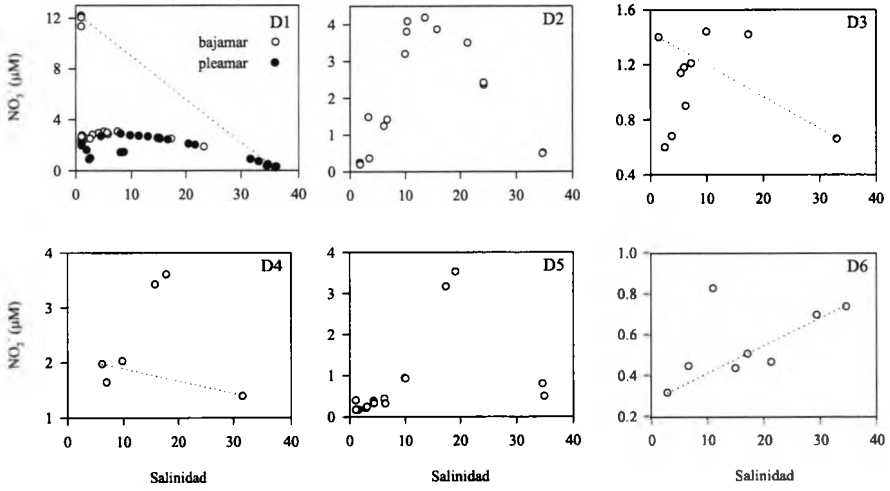


Figura 6. Variación de la concentración de nitrato con la salinidad en los diferentes muestreos.

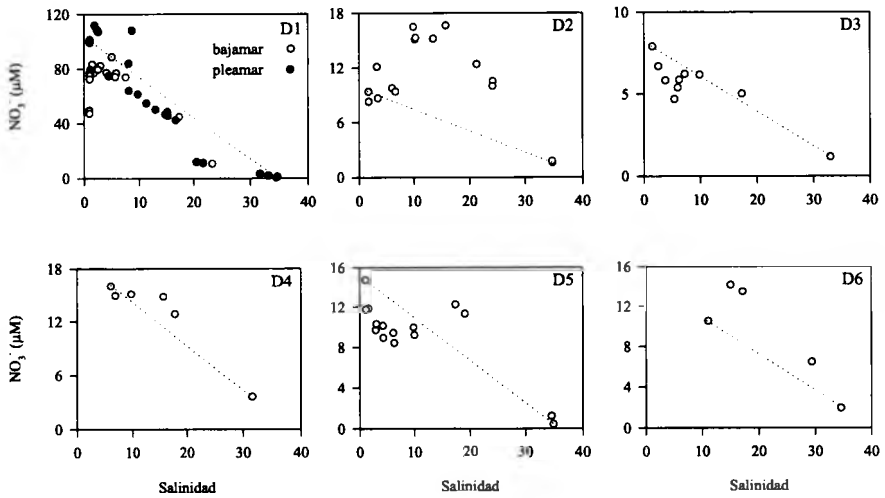


Figura 7. Variación de la concentración de nitrito con la salinidad en los diferentes muestreos

La concentración del nitrito (figura 7) en los muestreos realizados en el estuario del río Guadalquivir es relativamente baja, como en la mayoría de los sistemas litorales. Su comportamiento es poco modelable, y presenta importantes variaciones a lo largo del tiempo.

El comportamiento del amonio en los distintos sistemas estuáricos es muy variable, la concentración de amonio es mayor en la parte más salina, aunque estas variaciones suelen ser muy irregulares. En cualquiera de los casos, podría considerarse que el amonio tiene un comportamiento no conservativo en estos sistemas estuáricos. Es frecuente encontrar este comportamiento en estuarios, donde la regeneración bentónica puede actuar como fuente de amonio en la zona más salina

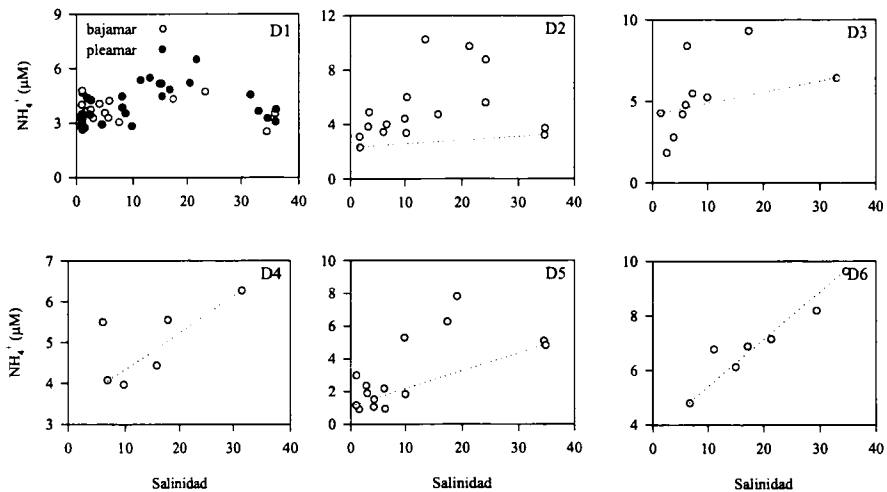


Figura 8. Variación de la concentración de amonio con la salinidad en los diferentes muestreos.

Para comprobar si la variación en la concentración de las diferentes especies de nitrógeno inorgánico disuelto (NID) a lo largo de los estuarios corresponde a

reacciones de interconversión entre ellas, se ha representado la variación de la suma de estas especies con la salinidad (figura 9).

El comportamiento del nitrógeno inorgánico disuelto en los diferentes estuarios está muy condicionado por el comportamiento de la especie mayoritaria en cada uno de ellos, y en ningún caso parece que sea conservativo si la especie mayoritaria no lo era en ese sistema. Este comportamiento no conservativo del nitrógeno inorgánico disuelto puede estar causado por numerosos procesos, como la existencia de ríos tributarios, los aportes de diferentes vertidos que se realizan a lo largo de sus cauces, así como por la producción bentónica o consumo por el fitoplancton.

En la figura 9 se aprecia que no se encontraron diferencias significativas en la concentración de nitrógeno inorgánico disuelto en los dos periodos de mareas analizadas en el estuario del Guadalquivir (D1), de la misma forma que no se encontraron para las distintas especies por separado.

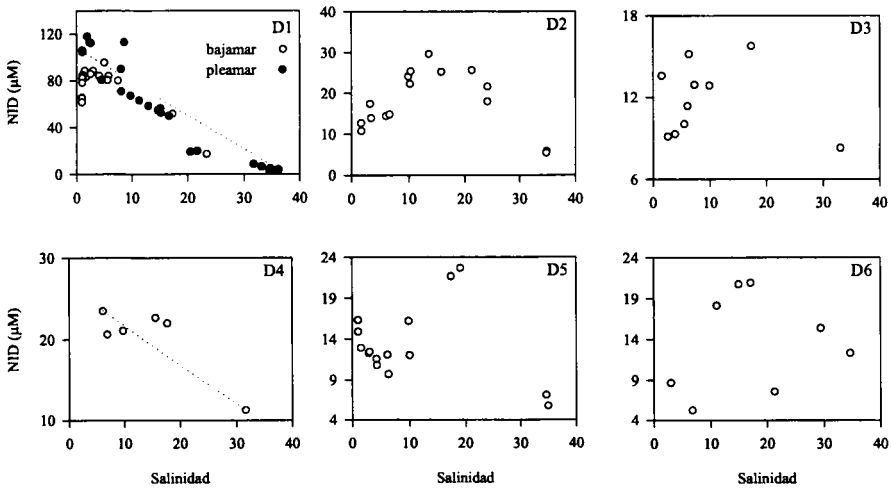


Figura 9. Variación de la concentración de nitrógeno inorgánico disuelto con la salinidad

El fosfato únicamente presenta un comportamiento conservativo en los muestreos D4 y D6 (figura 10).

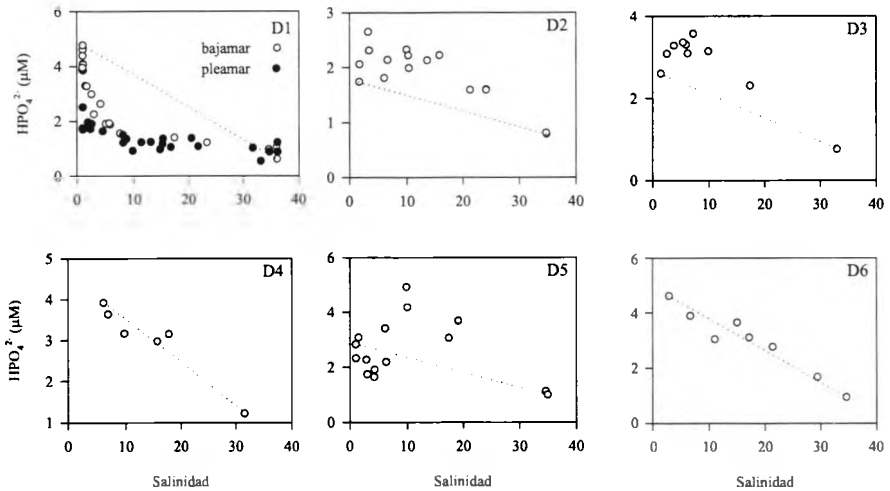


Figura 10. Variación de la concentración de fosfato con la salinidad en los diferentes muestreos

Se ha observado la existencia de pérdidas a bajas salinidades en D1 y D5, aunque en este último muestreo también se aprecian ganancias a salinidades entre 10 y 20. En el caso del muestreo D1 del Guadalquivir, las concentraciones en bajamar son muy superiores a las de pleamar en la zona más fluvial, y su evolución es similar a la de los sólidos en suspensión, poniéndose de manifiesto la fuerte asociación entre el material particulado y el fosfato en los sistemas estuáricos.

Sólo en el muestreo D3 del Guadalquivir se observa la aparición de ganancias. En el primer caso se producen a altas salinidades, aunque este estuario sólo se muestreó en la zona media y final del mismo. Por el contrario, en D3 las ganancias se han observado a bajas salinidades. Por último, las variaciones de la

concentración de fosfato en el muestreo D2 del Guadalquivir son dispersas, sin presentar ninguna tendencia bien definida

Como es habitual en la mayor parte de los sistemas estuáricos las concentraciones de silicato presentan variaciones próximas a un comportamiento conservativo, existiendo una disminución lineal con la salinidad (figura 11).

En el primer muestreo realizado en el río Guadalquivir (D1) se han encontrado un comportamiento no conservativo de este nutriente. En este caso, se aprecia una retirada de silicato a salinidades bajas, menor a 5.

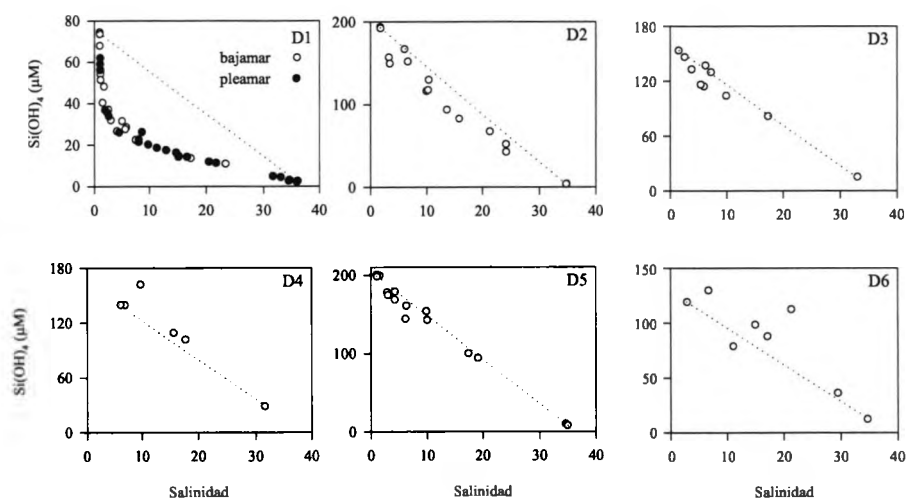


Figura 11. Variación de la concentración de silicato con la salinidad en los diferentes muestreos

En el caso del muestreo D1, no se aprecian diferencias significativas en la concentración de silicato en los periodos de marea analizados. Por otra parte, la distribución de este nutriente en el estuario es muy similar a la de los sólidos en suspensión, y el comportamiento no conservativo podría estar provocado por una fuerte retirada de silicato asociado al material particulado que esté sedimentando en zonas menos salinas del estuario.

3.3. Intercambio de CID y nutrientes con las mareas en sistemas litorales

Con el fin de cuantificar la cantidad de C, N, P y Si que se intercambian con las mareas en algunos sistemas, se realizaron dos estudios (D7 y D8) en la parte final del estuario del río Guadalquivir. Ambos muestreos se realizaron durante periodos de tiempo que fuesen lo suficientemente representativos de un ciclo de marea, que fuesen realizados en estaciones distintas y a profundidades diferentes (superficie, media y fondo).

El primero de los estudios (D7), se realizó en dos estaciones. La primera estación está relativamente cercana a la desembocadura (GL2; 26/01/99), a la altura de Bonanza, y la otra está situada en una parte más alta del estuario (GL6; 27/01/99), en la confluencia con el Brazo de la Torre.

En cada una de las estaciones se han realizado muestreos cada 30 minutos a tres profundidades (superficie, media y fondo), en los que se hicieron medidas de velocidad de corriente, salinidad, temperatura, pH y concentración de CID y nutrientes.

Además se realizaron ciclos en cuatro estaciones distintas del estuario en Junio del 2000 (D8), aunque en esta ocasión sólo se tomaron muestras a dos profundidades (superficie y fondo). En este muestreo, además del transporte de carbono inorgánico a lo largo del estuario, se estudió la variación circadiana de CID y el pH en un punto determinado del estuario, realizando una serie de muestreos que consistían en la toma de muestras durante un semiciclo de marea en las cuatro estaciones mencionadas anteriormente. En la figura 12, se muestra la variación de carbono inorgánico a lo largo del tiempo, para una misma estación en el estudio D8.

El orden de salinidad de las estaciones de más marinas a más fluviales es el siguiente: Boya 1, Bonanza, El Puntalete y El Yeso. En la figura 12 se muestra la variación de CID en el fondo y la superficie, no apreciándose apenas diferencias

entre las concentraciones, debido a que la mezcla es casi completa en la columna de agua.

La evolución de la concentración de CID implica que es el proceso de mezcla entre el agua de mar y el río la que explica la mayor parte de la variabilidad temporal. De esta forma en la Boya 1, que es una estación fuera del estuario (aunque bajo la influencia de la pluma del Guadalquivir) las concentraciones de CID además de ser menores, son bastante mas homogéneas a lo largo del ciclo de marea. Este comportamiento no se corresponde con el resto de las estaciones, en las que puede oscilar incluso 5 mM a lo largo del día en la misma estación.

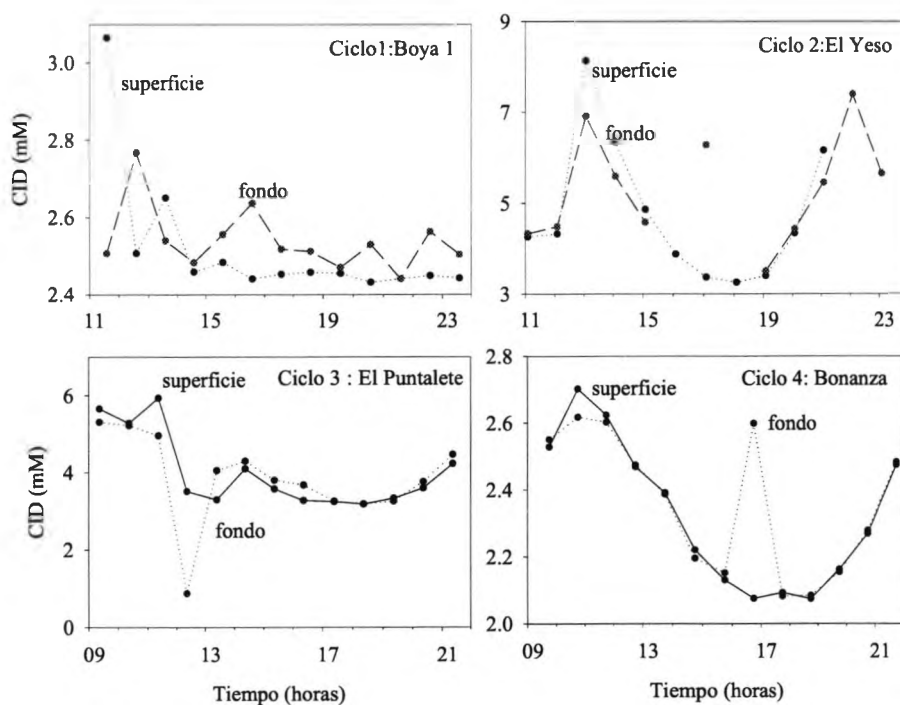


Figura 12. Evolución temporal de la concentración de CID (mM) en cuatro ciclos realizados en el estuario del río Guadalquivir en Junio del 2000 (D8).

Para obtener el intercambio con las mareas a través de una sección definida de estos sistemas, se dividió su superficie total en distintas subsecciones, que se utilizaron de forma conjunta con las velocidades de la corriente y las concentraciones de los nutrientes y de carbono inorgánico de las distintas profundidades muestreadas. De esta forma, la velocidad de transferencia a través de una subsección cualquiera se calculó como:

$$V_i = S \cdot v \cdot C_i$$

donde V_i es la velocidad de transferencia para el constituyente "i" ($\text{mmol} \cdot \text{s}^{-1}$), S la subsección (m^2), v velocidad de corriente ($\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$) y C_i la concentración del constituyente estudiado ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), todos a la profundidad considerada.

La velocidad de la corriente se midió en la zona central del estuario, y su módulo puede estar ligeramente sobrestimado, debido a la disminución de la corriente que se produce a medida que se aproxima a las márgenes.

En el primer estudio de intercambio en el estuario del río Guadalquivir, se ha considerado tres subsecciones que varían con la altura de marea. De estas subsecciones, sólo la superior se encuentra afectada por el aumento del área debido a las zonas intermareales adyacentes.

De esta forma, los valores de las subsecciones ($S_{s,m,f}$) han sido calculados a partir de las expresiones:

$$\text{Subsección superficie} \quad S_s = (S_0 + h \cdot l) / 3 + h \cdot (l_{01} / 2 + l_{02} / 2)$$

$$\text{Subsecciones media y fondo:} \quad S_{m,f} = (S_0 + h \cdot l) / 3$$

donde S_0 es la sección total en bajamar escorada (m^2), h es la altura de marea (m), l es la anchura del cauce del río o del caño, e $l_{01,02}$ son los anchos de los márgenes inundables (m), los cuales sólo se tienen en consideración para la sección superficial.

De forma análoga, en el segundo estudio realizado en este sistema y ya que sólo se consideraron dos profundidades, la variación de las subsecciones siguen la expresión:

$$\text{Subsección superficial} \quad S = S_0 / 2 + 1 (y_0 + a (\text{sen} (b \cdot t + c)))$$

$$\text{Subsección de fondo} \quad S = S_0 / 2$$

En la tabla 4 se muestran los valores de S_0 , I e $I_{01,02}$ que se han utilizado, y que fueron calculados a partir de la batimetría recogida en la cartografía de las zonas.

Tabla 4. Valores de la sección en bajamar escorada (S_0), anchura del cauce (I) y de los márgenes inundables ($I_{01,02}$) del estuario del río Guadalquivir.

Estación	S_0 (m ²)	I (m)	I_{01} (m)	I_{02} (m)
GL2	3781	812.5	200	--
GL6	1474.1	462.5	62.5	87.5
Bonanza	2721	950		
El Puntalete	1535	725		
El Yeso	786.6	650		

Las variaciones de las secciones y de la velocidad de corriente con el instante de marea a distintas profundidades se ajustaron a funciones sinusoidales, cuyos resultados se muestran en las tablas 5 y 6. En el caso del segundo estudio, se han utilizado los valores de velocidades de corrientes instantáneos, con lo que no fue necesario el ajuste a funciones sinusoidales.

Tabla 5. Ajustes sinusoidales de la velocidad de la corriente ($m \cdot s^{-1}$) y de las áreas (m^2) de las subsecciones consideradas en las estaciones del estuario del río Guadalquivir. Se incluyen los coeficientes de correlación (r^2).

Estación	Profundidad		r^2
GL2	Superficie	$v = 0.188 - 1.176 \text{ sen } (0.500 t + 2.9411)$	0.985
		$S = 1866 + 310 \cdot \text{sen } (0.5203 \cdot t + 1.328)$	0.999
	Medio	$v = 0.044 - 0.646 \text{ sen } (0.492 t + 3.359)$	0.965
		$S = 1700 + 230.2 \cdot \text{sen } (0.5290 \cdot t + 1.197)$	0.999
	Fondo	$v = 0.011 - 0.395 \text{ sen } (0.486 t + 3.352)$	0.944
		$S = 1700 + 230.2 \cdot \text{sen } (0.5290 \cdot t + 1.197)$	0.999
GL6	Superficie	$v = 0.123 + 1.187 \text{ sen } (0.499 t - 0.944)$	0.986
		$S = 869.2 + 220 \cdot \text{sen } (0.5149 \cdot t - 0.03435)$	0.999
	Medio	$v = 0.009 - 0.851 \text{ sen } (0.500 - 52.47)$	0.980
		$S = 745.9 + 150 \cdot \text{sen } (0.5135 \cdot t - 0.04426)$	0.999
	Fondo	$v = -0.009 - 0.563 \text{ sen } (0.495 - 7.154)$	0.964
		$S = 745.9 + 150 \cdot \text{sen } (0.5135 \cdot t - 0.04426)$	0.999

Tabla 6. Parámetros de ajuste a una función seno para los cálculos de la subsección superficial en las estaciones del estuario del Guadalquivir. Se incluyen los valores de los coeficientes de correlación (r^2).

Estación	y_0	a	b	c	r^2
Bonanza	1.70	1.1	0.5028	-0.300	0.9986
El Puntalete	1.70	1.1	0.5028	-0.300	0.9992
El Yeso	1.62	1.0	0.5095	0.550	0.9988

En la figura 13 se ha representado los valores de la velocidad de corriente y se ha superpuesto los ajustes realizados en las dos estaciones del estuario del Guadalquivir en el primero de los estudios de transferencia realizados en él. Se puede observar que para realizar los ajustes se incluyeron los puntos de velocidad

cero que corresponden a la bajamar y pleamar anterior y posterior a los periodos de muestreo respectivamente, obtenidos a partir del anuario de marea para el puerto de Bonanza y teniendo en cuenta el desfase correspondiente en GL6.

Los valores positivos indican que el sentido de la corriente es hacia la desembocadura del estuario, y viceversa. En las dos estaciones se encontró una disminución progresiva de la velocidad de la corriente desde la superficie hasta el fondo.

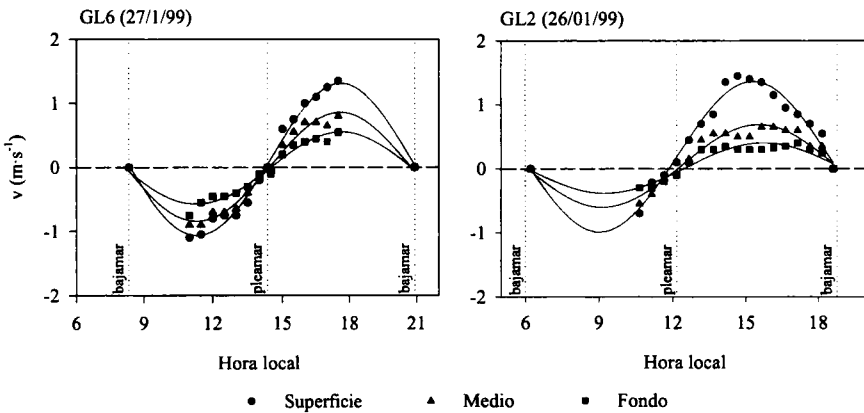


Figura 13. Variación de la velocidad de corriente durante el periodo de muestreo para las tres profundidades consideradas en GL6 y en GL2 (D7).

Aunque la velocidad de corriente es del mismo orden de magnitud en las dos estaciones, la sección total considerada en la estación GL2, cercana a la desembocadura del río, representa prácticamente el doble de la calculada en la estación GL6. La diferencia de caudal entre ambas secciones es consecuencia de la existencia de zonas intermareales en la parte final del estuario.

A partir de los valores de concentración del CID y de los diferentes nutrientes se calcularon sus velocidades de transferencia. En el caso del nitrógeno, se calculó la velocidad de transferencia del nitrógeno inorgánico disuelto (NID) a partir de la suma de las concentraciones de nitrito, nitrato y amonio. A modo de ejemplo,

en la figura 14 se muestra la evolución de estas velocidades de transferencia con el tiempo en la estación GL6.

Al igual que en el caso de la corriente, los valores positivos de la velocidad de transferencia indican que el sentido del transporte es hacia la desembocadura del estuario.

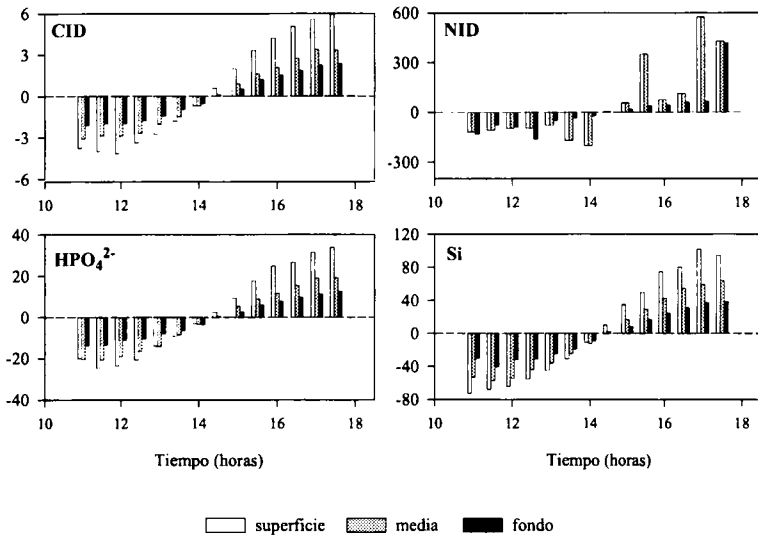


Figura 14. Evolución temporal de la velocidad de transferencia de los diferentes constituyentes a lo largo de un ciclo de marea a través de tres subsecciones (superficie, media y fondo) en la estación GL6 (D7). (CID en $10^3 \text{ mol}\cdot\text{s}^{-1}$; NID, P y Si en $\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}$)

En la figura, se observa cómo las velocidades superficiales son muy superiores a los de las otras subsecciones inferiores, especialmente en marea creciente, lo cual se ha encontrado también en la estación GL2. Prácticamente en todos los casos, las velocidades de salida son mayores que las de entrada, salvo en la subsección media de GL6, debido a que en esta profundidad es donde hay mayores concentraciones de carbono inorgánico durante la marea creciente.

Cabe destacar algunos valores especialmente altos de la velocidad de transferencia del NID encontrados en la superficie de la estación GL6 (1026 y

3631 mol·s⁻¹), que son el resultado de concentraciones de hasta 400 μM de nitrato y 200 μM de nitrito.

En todos los casos, las velocidades de transferencias son muy superiores en la estación GL6 que en la GL2, debido fundamentalmente a la mayor concentración de los nutrientes en la parte más fluvial del estuario.

A partir de la integración de la velocidad de transferencia entre una pleamar y una bajamar consecutivas dividido entre el periodo de marea, se han obtenido las entradas y salidas de los diferentes constituyentes por las diferentes subsecciones en las dos estaciones de estudio.

En todos los casos, el transporte a través de la subsección superficial es superior a las otras dos profundidades, y se encuentra dirigido hacia el mar. Sin embargo, en las subsecciones medio y fondo, además de poseer valores inferiores a la superior, en el caso del N y el P incluso cambia el sentido del transporte, produciéndose pequeñas entradas desde el mar hacia el estuario.

El balance global del transporte para el muestreo D7 se muestra en la tabla 7. En el balance neto en GL6 salen hacia la desembocadura 1300 mol C s⁻¹ y a través de GL2 se exporta CID hacia las zonas costeras próximas con un flujo medio de 1369 mol s⁻¹. De estos datos se deduce que a lo largo de este tramo del río hay un importante aporte de CID a la columna de agua, que en su mayoría puede deberse a los procesos de regeneración del carbono orgánico, tanto en el río como en las zonas de marismas colindantes.

También se aprecia en esta tabla que el río Guadalquivir además de exportar C, también existe un aporte Si y P a las áreas costeras adyacentes. Este comportamiento es típico de muchos estuarios, que generalmente exportan grandes cantidades de sustancias naturales y antropogénicas hacia áreas costeras cercanas .

El transporte de P y Si es mayor en GL6 que en GL2, por lo que existe una retirada de esos elementos dentro del estuario. El mecanismo de retirada de P es

probablemente debido a procesos de adsorción y precipitación que tienen lugar en zonas de bajas salinidades. En el caso del Si, es difícil explicar el menor transporte encontrado en GL2 comparado con GL6, que podría deberse a procesos asociados a la sedimentación del material particulado.

Tabla 7. Balance global del transporte de CID y nutrientes ($\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}$) a través de las secciones GL6 y GL2 del estuario del Guadalquivir.

	GL6	GL2
CID	1300	1369
NID	421.3	-0.32
P	3.690	0.873
Si	114.1	35.05

Sin embargo, se producen pequeñas entradas de N inorgánico al estuario, que tienen una explicación compleja, ya que hay varias especies envueltas en multitud de reacciones químicas y biológicas, además de las entradas de origen antropogénico que dificultan esa explicación. Una mejor interpretación del comportamiento del N en esta zona requeriría cuantificar el transporte con las mareas del N orgánico disuelto y particulado, así como su intercambio con el sedimento y su consumo biológico en la columna de agua.

Por tanto, el estuario del Guadalquivir retiene en su último tramo hasta un 76% del P y el 69% de Si, e incluso podría decirse que el 100% del N, en el periodo de muestreo considerado.

En el segundo de los estudios realizado en este sistema, los valores encontrados de transporte de CID fueron sensiblemente superiores, siendo aproximadamente el doble de los encontrados en las estaciones GL2 y GL6 en 1999. Este hecho, se debe fundamentalmente a los altos valores de la concentración CID encontrados en Enero de 2000, así como a las mayores velocidades de corrientes determinadas respecto al año anterior. Esto indica la importante variabilidad que tiene este sistema estuárico.

3.4. Variaciones de pCO₂ en aguas superficiales del estuario del río Guadalquivir

3.4.1. Variaciones espaciales

En todos los muestreos realizados a lo largo del gradiente de salinidad en el estuario del Guadalquivir, las aguas superficiales están sobresaturadas de CO₂ respecto a la atmósfera. Se aprecia como los valores de pCO₂ disminuyen con la salinidad (figura 15), detectándose incluso una reducción superior al 60 % en la estación más marina (GL1) respecto a la más fluvial (GL8).

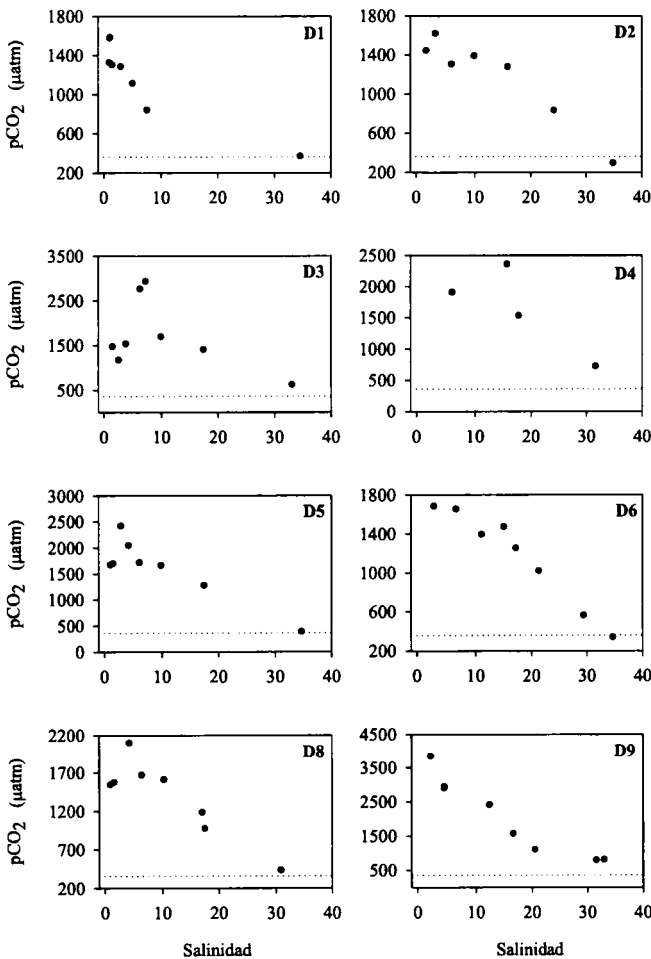


Figura 15. Evolución del pCO₂ con la salinidad en los distintos muestreos realizados en el Guadalquivir desde Mayo del 1998 hasta Diciembre del 2000.

En el estuario se pueden distinguir dos partes bien diferenciadas: una más fluvial sobresaturada de CO_2 respecto a la atmósfera y otra más salina donde pCO_2 es bastante inferior, y puede llegar incluso en algunos muestreos a alcanzar valores más bajos que la media atmosférica, como ocurre en los muestreos del D2 y del D6. Este comportamiento se ha observado en diferentes estuarios europeos (Elbe, Ems, Rin, Scheldt, Tamar, Thames, Gironde, Douro, Sado) por distintos autores

3.4.2. Variaciones temporales

En la figura 16 se muestra la evolución del pH, pCO_2 y de la concentración CID a lo largo de los muestreos realizados en 1998 en las estaciones GL2 y GL6. Se aprecia cómo en todos los muestreos la concentración de carbono inorgánico es superior en la estación más fluvial (GL6). El pH y la concentración de pCO_2 también presentan esta tendencia, salvo en el muestreo del 21/08/1998 en el que un descenso de pH da lugar a un incremento de la pCO_2 en la estación GL2. Se observa en la figura un aumento paulatino de la concentración de CID y de pCO_2 en los meses de mayor insolación, en los que las altas temperaturas ambientales (próximas a $35\text{ }^\circ\text{C}$) pueden dar lugar a una intensa degradación de la materia orgánica, que también conlleva una pequeña acidificación de las aguas.

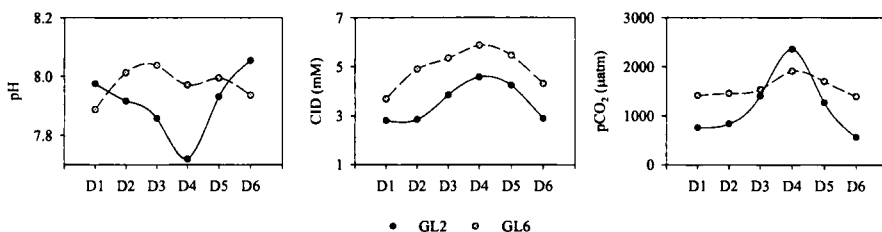


Figura 16. Variación del pH, CID y pCO_2 con el tiempo en GL2 y GL6 durante los diferentes muestreos realizados durante el año 1998 en el estuario del río Guadalquivir.

Existen pocos trabajos que describan variaciones estacionales de pCO_2 en sistemas estuáricos. Entre ellos se puede destacar un estudio realizado durante 18 meses en la parte más externa del estuario del Scheldt, donde se ha detectado que

la subsaturación sólo se produce durante unas semanas que corresponden al bloom fitoplanctónico de primavera. Sin embargo, debido a la baja productividad primaria que existe en el estuario del Guadalquivir, las variaciones estacionales de la $p\text{CO}_2$ en el agua superficial podrían estar más relacionadas con cambios en la descarga del río y con la temperatura del agua que controla la solubilidad del CO_2 .

3.4.3. Variaciones del flujo de CO_2 con las mareas

Las variaciones diarias de los parámetros químicos deben discutirse basándose en los procesos físicos (mareas y viento) y/o biológicos (ciclo biológico diario) que actúan en la misma escala temporal. En los muestreos realizados el verano del 2000 se registró en continuo la salinidad y la temperatura para las estaciones GL2 y GL6 (figura 17), a lo largo de un ciclo de marea. Se aprecia como la evolución de ambas variables sigue el patrón que les marca el fenómeno de mezcla de agua por la onda de marea y por ello se eligieron las estaciones GL2 y GL6 por estudiar el intercambio de $p\text{CO}_2$ en 2 estaciones afectadas por 2 rangos distintos de salinidad de 10-20 y 20-30 aproximadamente. La temperatura permanece prácticamente constante a lo largo del día en ambas estaciones, aunque también muestra una leve variación mareal, no encontrándose apenas diferencia de temperatura entre mar y río.

La variación temporal a lo largo de un ciclo de marea de la $p\text{CO}_2$ en el agua para las estaciones GL6 y GL2 se muestran en las figuras 18 y 19. Asimismo, en la figura 19 también se presentan los valores de $p\text{CO}_2$ medidos en la atmósfera directamente. Se aprecia como el Estuario del Guadalquivir se encuentra sobresaturado a lo largo de todo el ciclo de marea tanto en la estación más fluvial como en la más marina. El valor de $p\text{CO}_2$ atmosférico permanece prácticamente constante y en torno a $370 \mu\text{atm}$, por lo que se puede presuponer que no se cometa prácticamente error en las estimaciones de los flujos agua-atmósfera para los muestreos en los que se poseen datos de CO_2 en el aire. La forma de la curva es prácticamente inversa a la de la variación de la salinidad

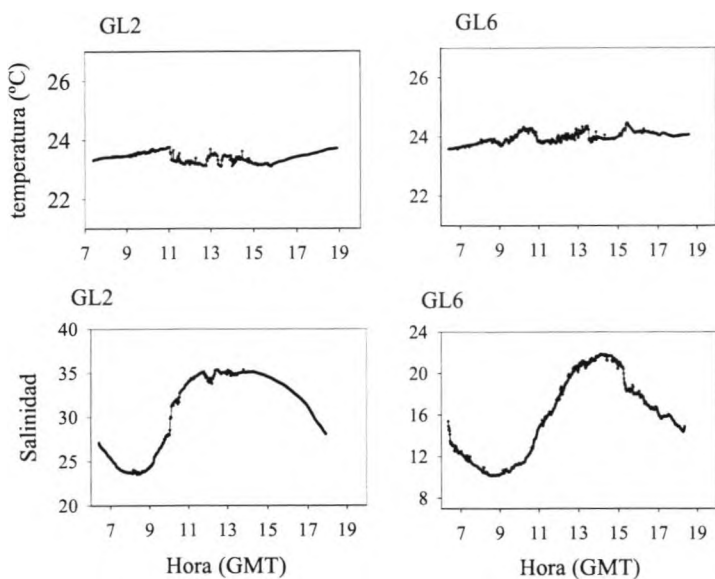


Figura 17. Variación temporal de la temperatura y de la salinidad en las estaciones GL2 (15/06/2000) y GL6 (14/06/2000) en el muestreo D8.

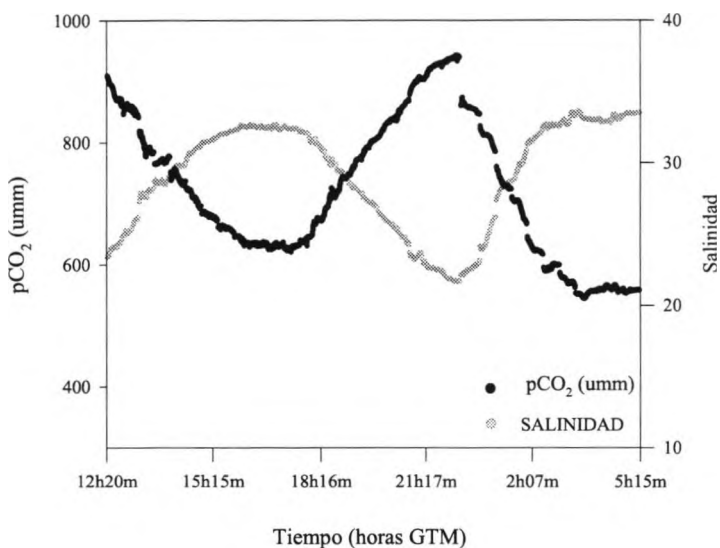


Figura 18. Variación temporal de la salinidad y la presión parcial de CO₂ en el agua con medidas directas en la estación GL2 el 8 de Junio de 2002.

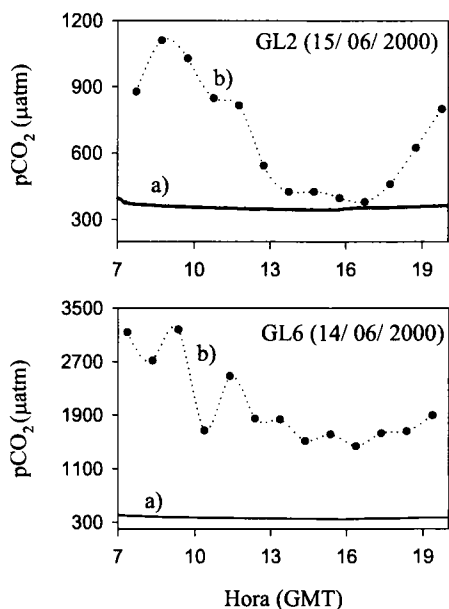


Figura 19. Variación temporal de la pCO₂ en el agua (a) y en la atmósfera (b) en GL2 y GL6.

Las velocidades de viento empleadas para la estimación del flujo de CO₂ fueron datos medios mensuales, salvo en el muestreo realizado en Junio del 2000, en el que se disponía de los datos de la estación meteorológica del B/O Mytilus.

A partir de la base de datos de concentración de CO₂ en aguas superficiales, puede realizarse una estimación de los flujos de CO₂ agua-atmósfera en los distintos muestreos realizados. La expresión para el cálculo de los flujos es:

$$F = K_g \alpha \Delta pCO_2$$

Donde K_g es el coeficiente de transferencia del CO₂ (cm h⁻¹), α es la solubilidad del CO₂ (mol L⁻¹ atm⁻¹) y ΔpCO_2 (atm) es la diferencia de presiones parciales entre el agua superficial y la atmósfera.

En este estudio, para el cálculo del coeficiente de transferencia (K_g), se han utilizado las expresiones propuestas por Wanninkhof (1992) para velocidades medias de viento medidas a medio o corto plazo (semanas o meses) en aquellos muestreos en los que no se realizaron medidas simultáneas de la velocidad del

viento en la atmósfera (K_{g1}) y la propuesta para este mismo autor para velocidades de viento puntuales, cuando se disponían de datos de la pCO_2 en la atmósfera (K_{g2}):

$$K_{g1} = 0.39 U_{av}^2 (Sc / 660)^{-0.5}$$

$$K_{g2} = 0.31 U^2 (Sc/660)^{-0.5}$$

U_{av} es la velocidad del viento mensual expresada en $m s^{-1}$ y U simboliza la velocidad media diaria de viento en la estación meteorológica de la embarcación utilizada. Sc es el número de Schmidt, y para su estimación se utilizó la expresión propuesta por Wanninkhof (1992).

El gradiente de pCO_2 en la interfase agua-atmósfera se ha obtenido como diferencia del valor en cada muestra de agua superficial y el valor medio mundial en la atmósfera ($370 \mu atm$) en aquellos muestreos en los que no se disponía de datos de pCO_2 en la atmósfera. Otros autores han realizado también aproximaciones de este tipo. De esta forma, un flujo positivo indica una transferencia de CO_2 desde la superficie del agua a la atmósfera y negativo del aire al agua.

En las figura 20 se muestra la dependencia de los flujos de CO_2 con la salinidad en las estaciones GL2 y GL6, donde se han realizado estudios de intercambio con las mareas en enero de 1999 y julio 2000. Se aprecia como existe una mayor dependencia de pCO_2 con la salinidad ($r^2= 0.96$ en 2000, $r^2=0.68$ en 1999) en la estación GL2 que en la GL6 ($r^2=0.57$ en 2000, $r^2=0.34$ en 1999) en los dos muestreos realizados. Esta dispersión de un teórico comportamiento conservativo de la pCO_2 , podría deberse a los aportes del Brazo de la Torre, que es un afluente de agua con un mayor valor de alcalinidad que el Guadalquivir y situado unos 400 m aguas arriba de la estación GL6. Estos aportes de agua de otra naturaleza con un contenido en alcalinidad total mayor son mas patentes en bajamar, cuando la importancia de la onda de marea es menor. Por otro lado, la mezcla entre los aportes de aguas del Brazo de la Torre y las del Guadalquivir no es completamente homogénea en la estación GL6, lo cual también hace que la

dispersión sea mayor en bajamar y por tanto los valores de los coeficientes de correlación sean menores que en GL2.

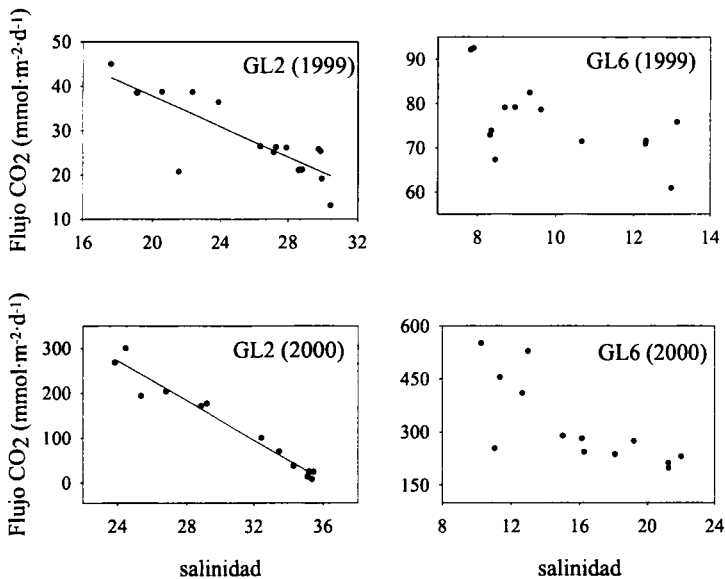


Figura 20. Variación de los flujos de CO₂ con la salinidad en los muestreos realizados en Enero de 1999 y en Junio de 2000 para las estaciones GL2 y GL6.

En la tabla 8. se presenta el intervalo de variación de la salinidad, pCO₂ y de los flujos de CO₂ a lo largo de un ciclo de marea en las estaciones GL2 y GL6, así como la velocidad del viento y el flujo medio de CO₂ en los cuatro muestreos realizados. Se observa como los flujos de pCO₂ mas altos se dan en la estación más fluvial (GL6). En esta misma tabla se aprecian las variaciones estacionales de los flujos de CO₂, con unos valores bastante superiores en los meses de verano, en los que las altas temperaturas ambientales (próximas a 35 °C) pueden dar lugar a un aumento de la presión parcial de pCO₂ teniendo en cuenta que no estamos en la situación de equilibrio entre aire y agua. Por otro lado, las diferencias en los flujos se ven influenciada en la descarga del río, que es mayor en invierno que en verano (se aprecian en el eje de salinidad). Además se aprecia

como existe una diferencia entre los valores de viento, y por tanto el coeficiente de transferencia, entre los muestreos realizados el año 1999 y en el 2000. Esto puede provocar que los valores medios de los flujos de CO₂ calculados para junio de 2000 sean del orden de 4 veces mayor que los obtenidos para el enero del 1999, mientras que las variaciones de pCO₂ no presentan esta diferencia tan marcada.

Tabla 8. Velocidades de viento e intervalos de variación de la salinidad, pCO₂ y flujos de CO₂ agua-atmósfera a lo largo de los ciclos de marea en las estaciones GL2 y GL6 del estuario del Guadalquivir. Se incluye el flujo medio de CO₂ para cada muestreo.

Estación	GL2	GL6	GL2	GL6
Fecha	26/01/1999	27/01/1999	15/06/2000	14/06/2000
Viento (m·s⁻¹)	4.2	4.2	11.1	8.3
Salinidad	17.6-30.4	7.8-13.1	23.8-35.4	10.3-22.0
pCO₂ (μ atm)	589.0-1086.5	1314.2-1761.0	380.3-1111.0	1433.9-3181.3
Flujo CO₂ (mmol·m ⁻² ·d ⁻¹)	13.1 - 45.0	60.9 - 92.5	198.2 - 550.9	7.62 - 300.3
Flujo medio CO₂ (mmol·m ⁻² ·d ⁻¹)	28.0 ± 2.2	76.4 ± 2.3	122.6 ± 101.9	320.6 ± 122.0

En conclusión, el estuario del Guadalquivir constituye una fuente de CO₂ a la atmósfera, cuya magnitud varía tanto en el espacio como en el tiempo en función del gradiente de salinidad que define al estuario. La salinidad y la presión parcial de pCO₂, al igual que muchos otros parámetros en el Guadalquivir, evolucionan de una manera cíclica que claramente sigue el ciclo mareal. El mínimo de salinidad y pCO₂ corresponde a la marea baja. Asimismo, la evolución diaria de los flujos de CO₂ sigue el mismo patrón que le marca la variación diaria de pCO₂, alcanzándose flujos de hasta 320.6 mmol m⁻² d⁻¹ en GL6 que tiene una mayor influencia fluvial. Por otro lado, los datos de las series temporales de flujos de

CO₂ disponibles presentan diferencia entre un año y otro que pueden en parte deberse a la velocidad del viento, que es bastante mayor en el año 2000 y que estos muestreos se realizaron en estaciones distintas, que implica distintas temperatura del agua y de la descarga del río.

4. BIBLIOGRAFÍA

Abril G, Etcheber H, Borges AV, Frankignoulle M (2000). Excess atmospheric carbon dioxide transported by rivers into the Scheldt estuary. *Earth Planet Sc Lett*, 330: 761-768

Benoit G, Otkay-Marshall A, Cantu A, Hood EM, Coleman CH, Corapcioglu MO, Santshi PH (1994). Partitioning of Cu, Pb, Ag, Zn, Fe, Al y Mn between filter-retained particles, colloids, and solution in six Texas estuaries. *Mar Chem*, 45: 307-336

Borges AV, Frankignoulle M. (1999). Daily and seasonal variations of the partial pressure of CO₂ in surface seawater along Belgian and Dutch coastal areas. *J Mar Sys*, 19: 251-266

Carpenter JH, Pritchard DW , Whaley RC (1969). Observations of eutrophication and nutrient cycles in some coastal plain estuaries. En: *Eutrophication: Causes, Consequences and Correctives*. National Academy of Sciences, Washington D.C., 210 pp

DOE (1994). Handbook of methods for the analysis of the various parameters of the carbon dioxide system in sea water; version 2, (AG Dickson y C Goyet, Eds.). ORNL/CDIAC-74

Frankignoulle M, Abril G, Borges A, Bourge I, Canon C, Delille B, Libert E, Théate J-M (1998). Carbon Dioxide Emissions from European Estuaries *Science*, 282: 434-436

Frankignoulle M, Bourge I, Wollast R (1996). Atmospheric CO₂ fluxes in a highly polluted estuary (the Scheldt). *Limnol. Oceanogr*, 41: 365-369

- Gago J (2000). Transformaciones biogeoquímicas y flujos de carbono en la Ría de Vigo. Estudio de la variación estacional y de corta escala. Tesis Doctoral. Vigo.
- Grasshoff K, Ehrhardt M, Kremling K (1983). Methods of seawater analysis, 2nd, rev. and extended ed. Verlag-Chemie, Weinheim. Germany. 419 pp
- Jaworski NA (1981). Sources of nutrients and the scale of eutrophication problems in estuaries. En: Estuaries and Nutrients. (BJ Neilson y LE Cronin, eds.) Humana Press, Clifton, N.J. pp 83
- Mehrbach C, Culbertson CH, Hawley JE, Pytkowicz RM (1973). Measurement of the apparent dissociation constant of carbonic acid in seawater at atmospheric pressure. *Limnol Oceanogr*, 18: 897-907
- Morris AW (1985). Estuarine chemistry and general survey strategy. En: Practical Estuarine Chemistry. (PC Head, Ed.). Cambridge University Press, Cambridge. pp:1-60
- Nixon SW (1981). Remineralization and nutrient cycling in coastal marine ecosystems. En: Estuaries and Nutrients. (BJ Neilson y LE Cronin, eds.). Humana Press, Clifton, N.J., 111 pp
- Ortega T (1996). Caracterización de la reactividad de especies químicas en estuarios mediante técnicas de simulación. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad de Cádiz, 149 pp
- Roy S, Gaillardet J, Allégre CJ (1999). Geochemistry of dissolved and suspended loads of the Seine river, France: Anthropogenic impact, carbonate and silicate weathering. *Geochim Cosmochim Acta*, 63: 1277-1292
- Ryther JH, Dunstan WM (1971). Nitrogen, phosphorus and eutrophication in the coastal marine environment. *Science*, 171: 1008

- Sarmiento JL, Sundquist ET (1992). Revised budget for the oceanic uptake of antropogenic carbon dioxide. *Nature*, 356: 589-593
- Strickland JDH, Parsons TR (1972). A practical handbook of sea water analysis. Bulletin 167, Fish Res Board Can, 310 pp
- Wanninkhof R (1992). Relationship Between Wind Speed and Gas Exchange Over the Ocean *J Geophys Res*, 97: 7373-7382
- Weiss RF (1974). Carbon dioxide in water and seawater: the solubility of a non-ideal gas. *Mar Chem* 2:203-215

Efecto del accidente minero sobre los organismos residentes en el estuario del Guadalquivir y en las zonas de la plataforma próxima a su desembocadura

Blasco, J., Sáenz, V., Arias, A.M., González-Pascual, R., Campana, O., Ransome, T., Moreno-Garrido, I. y Hampel, M.

Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (C.S.I.C.). Campus Río San Pedro.
11510 Puerto Real (Cádiz). Spain.

1. INTRODUCCIÓN

La entrada de contaminantes en el medio acuático, ya sea de naturaleza crónica o puntual, como el caso del accidente minero de Aznalcóllar, implica un descenso en la calidad del agua y los sedimentos, y puede generar en la viabilidad de las especies presentes y en consecuencia un descenso en los recursos naturales.

Dada la dificultad que en muchos casos representa el análisis de contaminantes en el medio marino y que de éste se pueda inferir directamente su efecto sobre los organismos, se desarrolló en los años 60 y 70 del pasado siglo una estrategia para la evaluación de la contaminación, que consiste en la monitorización de los contaminantes mediante el empleo de organismos indicadores. Goldberg propuso en el año 1975, el programa denominado Mussel Watch, en donde se emplearon mejillones y ostras como especies centinelas de la contaminación de los Estados Unidos. Este se llevó a cabo en 100 estaciones con una duración de tres años, y fue llevado a cabo por la Agencia de Protección Ambiental de USA (EPA). Actualmente, este programa está incluido en el "Monitoring of Temporal Trenches in Chemical Contamination" del NOAA (National Oceanic Atmospheric Administration) con una malla muestral de 255 estaciones, en las que se analizan alrededor de 60 compuestos orgánicos y 16 metales (O'Connor et al.,

1995; O'Connor & Beliaeff, 1995). Programas de monitorización de la contaminación se han desarrollado en otras áreas del mundo, como los que se llevan a cabo en las costas europeas, coordinados por el ICES y el MAFF, el Mussel Watch francés, dependiente del RNO (Réseau National of Observation) y MEDPOL. La extensión de esta metodología a otras zonas del mundo llevó a la ONU en el año 1986 a la aprobación del Internacional Mussel Watch, que ampliaba el estudio a zonas de Caribe, América Central y Sudamérica. Por otro lado, la concentración de metales en la biota, es mejor indicador del impacto biológico, que el que se puede inferir a partir de la medida de las concentraciones en otros compartimentos ambientales (agua y sedimento) ya que la biodisponibilidad se tiene automáticamente en cuenta.

Por tanto, y con el fin de evaluar, si la entrada de metales en el estuario del río Guadalquivir, tras el accidente minero de Aznalcóllar, se encontraba en forma biodisponible y éstos habían entrado en la cadena trófica, y también para determinar el peligro que el consumo de determinadas especies podía representar para la salud humana, se estableció un programa de biomonitorización de la contaminación.

En este Capítulo se recogen los resultados de éste programa, que se diseñó en dos etapas, una inicial, correspondiente al periodo inmediatamente posterior al accidente minero, que abarca el periodo comprendido entre abril y septiembre de 1998, y una posterior que corresponde al estudio de la evolución temporal en el periodo 1998-2002 para las especies recolectadas en el estuario del Guadalquivir. Otro aspecto que se abordó fue el análisis de las concentraciones de metales en especies recolectadas en el Caladero del Golfo de Cádiz, con énfasis especial en la galera, *Squilla mantis*, y la acedía, *Dicologoglosa cuneata*.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Organismos del estuario del Guadalquivir y la desembocadura

Los organismos muestreados en el estuario del Guadalquivir fueron seleccionados teniendo en cuenta sus diferentes hábitos de vida y alimentarios, así como su distribución a lo largo del estuario. Se recogieron muestras de moluscos, *Crassostrea angulata*, *Scrobicularia plana*; poliquetos, *Nereis diversicolor*; crustáceos, *Palaemon longirostris*, *Melicertus kerathurus* y *Uca tangeri*; peces, *Liza ramada* y *Pomatoschistus sp.*

Las estaciones seleccionadas en el estuario del Guadalquivir y las especies recolectadas en cada una de ellas se muestran en la figura 1. Las muestras una vez recolectadas fueron trasladadas inmediatamente al laboratorio. Los especímenes de ostión, *Crassostrea angulata*, coquina de fango, *Scrobicularia plana*, fueron depurados durante 48 horas con el fin de limpiar de partículas el tracto digestivo, ya que la presencia de este tipo de material puede dar lugar a errores importantes en la determinación de la concentración de metales. El poliqueto, *Nereis diversicolor* fue depurado durante siete días. Los organismos fueron lavados exteriormente, secados y diseccionados. Los ejemplares de ostión (*Crassostrea angulata*) y coquina de fango (*Scrobicularia plana*) fueron abiertos y el cuerpo separado cuidadosamente de las valvas. En el caso de las gusanas, (*Nereis diversicolor*), el camarón de río (*Palaemon longirostris*) y el pez *Pomatoschistus minutus*, las muestras corresponden al cuerpo total. En la especie *Liza ramada* (albur), las muestras corresponden al músculo y al hígado. En el langostino, *Melicertus kerathurus*, se tomaron muestras del músculo (parte comestible), cutícula, branquias y del hepatopáncreas y de las gónadas en las hembras.

2.2. Organismos del Caladero del Golfo de Cádiz

Dentro de las especies muestreadas en el Caladero del Golfo de Cádiz, especial hincapié se llevó a cabo en el estudio de la galera, *Squilla* mantis y de la acedía, *Dicologoglossa cuneata*. En el primer caso, se realizó un estudio de la concentración metálica en muestras recogidas en catorce estaciones, las cuales se

subdividieron en cuatro zonas. La localización de las estaciones de muestreos y las zonas que se establecieron se muestran en la figura 2. Los ejemplares se diseccionaron y se tomaron muestras de la cutícula y tejido comestible. En el caso de la acedía, *D. cuneata*, se han tomado diferentes muestras a lo largo del tiempo de la zona próxima a la estación A (Fig. 1) En este caso se procedió a la disección del animal y se tomaron muestras de músculo e hígado.

En el año 1999 y en el año 2001 se realizaron una serie de muestreos en el Caladero del Golfo de Cádiz, con el fin de obtener información sobre los niveles de metales en diversas especies, algunas de ellas son explotadas comercialmente, mientras que otras no. Los datos que se presentan son en muchos casos los primeros que se disponen sobre los niveles de metales en esas especies del Golfo de Cádiz.

Tabla 1. Relación de especies capturadas en el Golfo de Cádiz durante los muestreos efectuados en 1999 y 2001

<i>Nombre científico</i>	
<i>Alloteuthis media</i>	<i>Melicertus kerathurus</i>
<i>Alloteuthis subulata</i>	<i>Merluccius merluccius</i>
<i>Aphia minuta</i>	<i>Octopus vulgaris</i>
<i>Argyrosomus regius</i>	<i>Pagellus acarne</i>
<i>Arnoglossus laterna</i>	<i>Pagellus coupei</i>
<i>Astropecten spp.</i>	<i>Parapenaeus longirostris</i>
<i>Boops boops</i>	<i>Pecten maximus</i>
<i>Bufossidium luteum</i>	<i>Pinna squamosa</i>
<i>Citharus linguatula</i>	<i>Pomadasyss incisus</i>
<i>Conger conger</i>	<i>Pomadasyss incisus</i>
<i>Cymbium olla</i>	<i>Pteroeides</i>
<i>Dardanus arrosus</i>	<i>Pteroeides spinosum</i>
<i>Decapterus ronchus</i>	<i>Raja asterias</i>
<i>Deltentosteus quadriimaculatus</i>	<i>Sardina pilchardus</i>
<i>Dicentrachus punctatus</i>	<i>Scomber japonicus</i>
<i>Dicologlossa cuneata</i>	<i>Scomber scombrus</i>
<i>Diogenes pugilator</i>	<i>Squilla mantis</i>
<i>Diplodus bellotii</i>	<i>Torpedo mamorata</i>
<i>Eledone moscata</i>	<i>Trachinus draco</i>
<i>Engraulis encrasicolus</i>	<i>Trachurus trachurus</i>
<i>Goneplax rhomboides</i>	<i>Trigla lucerna</i>
<i>Halobatrachus didactilus</i>)	<i>Umbria canariensis</i>

Lepidotrigla dieuzeidei
Lesuedrigobius sanzoi
Ligthonathus mormyrus

Venus pullastra
Venus verrucosa

Los muestreos efectuados en el año 2001 (febrero-marzo y abril), fueron realizados por el Instituto Español de Oceanografía, que nos facilitó las muestras para su análisis. La relación de las especies muestreadas se indican en la Tabla 1 (muestreo año 1999 y muestreos de febrero-marzo y abril de 2001).

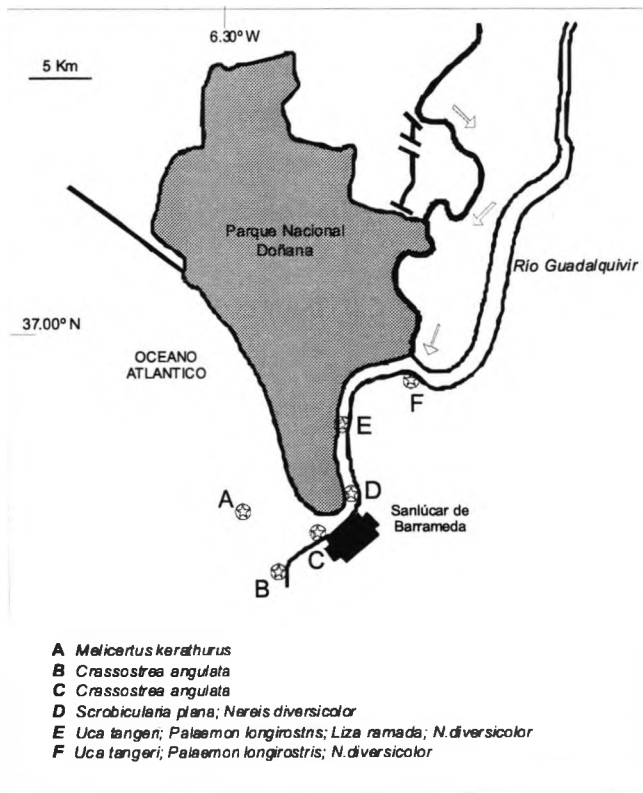


Figura 1. Mapa del estuario del Guadalquivir con las estaciones de muestreo.

2.3. Tratamiento y análisis de las muestras

Los organismos se dividieron en tres grupos de 10-15 ejemplares, los cuales se liofilizaron en un liofilizador VIRTIS, y posteriormente estas muestras se

molturaron con bolas de ágata, hasta un polvo fino, en un molino de bolas (Pulverisette 6, Fristch). La digestión de las muestras se ha realizado mediante el empleo del procedimiento de (Amiard et al., 1987) o mediante el uso de un digestor de microondas (CEM, Mars 5) con bombas de teflón. La concentración de los metales fue analizada por espectrofotometría de absorción atómica de llama (Fe, Mn, Cu y Zn) (Perkin Elmer, mod. 3110) y por horno de grafito (Perkin Elmer, mod 4100 ZL) con corrección de fondo por efecto Zeeman para el Pb y el Cd. La determinación de As se ha realizado mediante un equipo FIAS-MHS conectado a un equipo PE 4100 ZL. Los resultados se han expresado como $\mu\text{g metal}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco o peso húmedo. Los resultados se han verificado mediante el empleo de material de referencia (DORM1, DORM2, TORT1 del NRC Canada), mostrando en general para los metales analizados buena concordancia con los valores certificados.

3. RESULTADOS EN ORGANISMOS DEL ESTUARIO DEL GUADALQUIVIR

3.1. Impacto inicial del vertido de Aznalcóllar

Una de los problemas que surgieron al intentar analizar el impacto del vertido, derivó del hecho de que prácticamente no existía información previa sobre los niveles de metales pesados en organismos del estuario del Guadalquivir, a excepción de los trabajos realizados por Establier & Pascual (1974) y Cordón & Cabrera (1987). De tal manera, que sólo en el caso del ostión, *C. angulata* se pudo realizar una comparación de los niveles de metales anteriores al vertido. Se compararon la concentración de los metales en la estación B (Punta Montijo) del año 1968, con los resultados del mismo periodo (mayo-septiembre) del año 1998, justo después del vertido. Los resultados para el cobre y el zinc se muestran en la figura 3.

En el caso del Zn, las concentraciones fueron significativamente superiores ($P \leq 0.1$) en el año 1998, no así en el caso del cobre. Lo que puso de manifiesto que la entrada de Zn

como consecuencia del vertido había sido en forma biodisponible y que se había producido la incorporación en la cadena trófica. En el caso del cobre, los niveles no eran significativamente distintos de los registrados hacía treinta años, lo que indicó, que aunque la concentración de cobre en la zona comprendida entre el Brazo de la Torre y la desembocadura variaba entre 10 y $5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para la fracción disuelta y entre 11 y $2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para la fracción particulada (Gómez-Parra *et al.*, 2000) ésta no debía ser muy diferente de las concentraciones usualmente presentes en el estuario; es conocido tradicionalmente la presencia de ostiones de color verde en Sanlúcar de Barrameda, y que se debe a la acumulación de cobre en los hemocitos que se distribuyen por todo el organismo a través de la hemolinfa. El análisis de la distribución histoquímica de cobre y zinc en ostiones muestra la presencia de gránulos de este metal en las células de la hemolinfa (Sarasquete *et al.*, 1997).

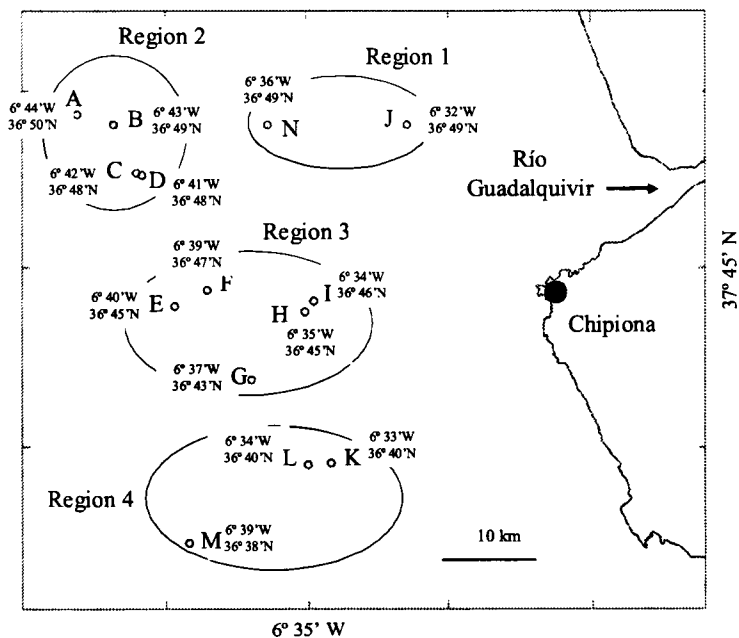


Figura 2. Mapa de las estaciones de muestreo y regiones delimitadas en la zona de las pesquerías de *Squilla mantis* en el Golfo de Cádiz.

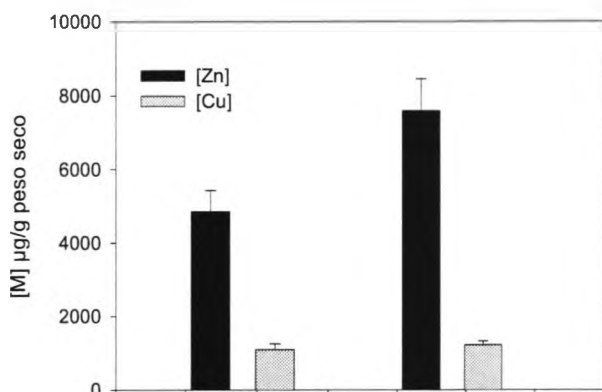


Figura 3. Concentraciones de Cu y Zn en ejemplares de *Crassostrea angulata* recolectados en el estuario del Guadalquivir en 1968 y 1998 (mayo-septiembre).

La media y el intervalo de concentración para los metales Fe, Mn, Cu, Zn, Cd, Pb y Ni en las distintas especies y tejidos muestreados en el estuario del Guadalquivir en el periodo comprendido entre mayo y septiembre de 1998 se muestra en la Tabla 2. Las concentraciones más elevadas la mostraron, en general, las especies que viven en el bentos, ya que los metales debido a procesos de floculación, precipitación y adsorción tienden acumularse en éstos. No obstante, los valores más elevados se encontraron en *C. angulata*, una especie que vive sobre las rocas y con hábitos filtradores, concentraciones medias para Zn, Cu y Cd de 2000, 200 y 1.3 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso húmedo en la parte comestible. Estos valores son al menos 10 veces superiores a los que se encuentran en las especies bentónicas *S. plana* y *U. tangeri*, que habitan en zonas con mayor concentración metálica.

En la especie, *S. plana*, las concentraciones de Cd y Pb en los ejemplares recolectados en el estuario del Guadalquivir, fueron superiores a los de la bahía de Cádiz. Las concentraciones, correspondientes a muestreos realizados quincenalmente, justo después del vertido se muestran en la figura 5. No se observa en general una evolución definida durante ese periodo (junio-

septiembre). En la especie, *P. longirostris*, las muestras recogidas después del vertido (mayo de 1998) mostraron unos valores elevados en la concentración de Zn. Con respecto, a la especie *U. tangeri*, no se observaron diferencias entre sexos, y los resultados de los niveles de Zn, Cd y Pb, fueron superiores en el estuario, en comparación con una zona de referencia como la bahía de Cádiz.

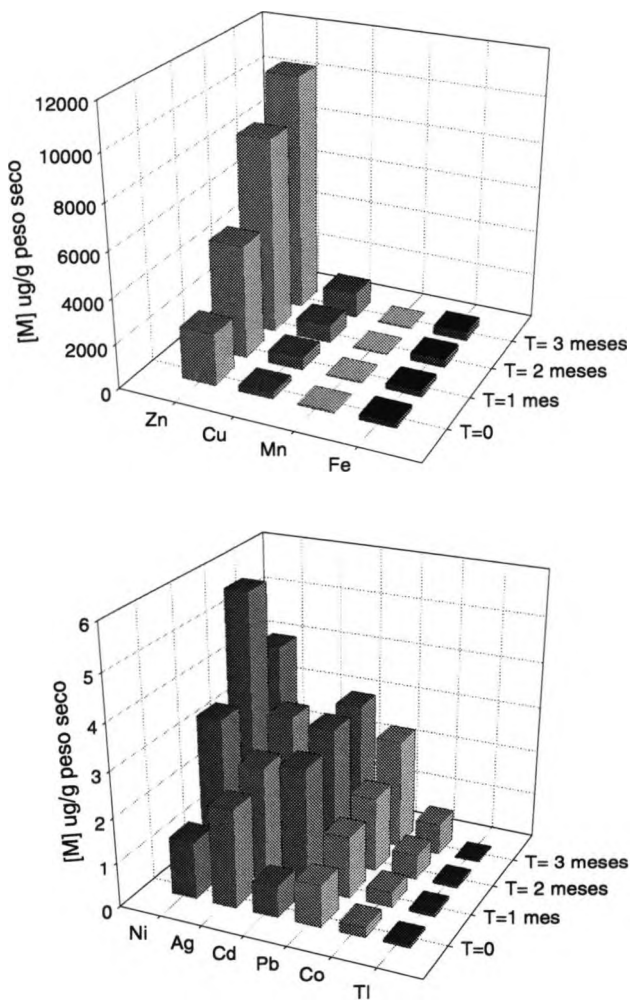


Figura 4. Concentración de metales analizados en cuerpo total de ejemplares de *Crassostrea angulata*, sometidos a un experimento de trasplante durante tres meses en la desembocadura del río Guadalquivir. Los resultados se expresan en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco.

TABLA 2. Concentraciones de metales en los sedimentos recolectados en el estuario del Guadaluquivir, durante la fase inicial (Abril-Septiembre de 1999) tras el accidente minero de Aznalcóllar. Los resultados se expresan en mg g^{-1} pes o húmedo. (* no detectado)

<i>M. kerathurus</i>	A	Junio-Sept	musculo	0.003±0.007	*	6.7-11.0	2.24-5.08	2.1-3.9	0.09±0.36	0.05±0.09	16.0-17.2
						8.1±1.9	3.33±1.23	3.1±0.7	0.19±0.12	0.07±0.02	17.0±0.7
<i>C. angulata</i>	B	Abril-Sept	cuerpo	0.62-2.44	0.07-0.10	156-384	26.9-88.0	6.4-15.1	0.32-0.82	0.20-0.46	710-3134
				1.22±0.41	0.14±0.05	279±79	50.9±19.6	11.2±3.0	0.55±0.14	0.34±0.08	1781±773
	C	Abril-Sept	cuerpo	0.97-1.85	0.08-0.26	136-270	46.4-137.4	9.7-16.2	0.32-0.98	0.23-0.55	1523-5817
				1.4±0.40	0.19±0.10	193±51	83.1±33.7	13.5±2.3	0.63±0.24	0.40±0.11	2785±1382
<i>S. pluma</i>	D	Junio-Sept	cuerpo	0.18-0.39	2.06-2.66	2.9-4.4	159.0-458.3	8.2-17.6	0.68-1.19	1.82-3.12	179.7-332.5
				0.24±0.07	2.52±0.46	4.0±0.5	295.7±117.9	12.2±3.5	0.98±0.20	2.28±0.45	222.7±57.2
<i>L. ramada</i>	D	Junio-Sept	musculo	0-0.003	0.003±0.005	0.1-1.0	5.6-15.1	0-0.97	0.07-0.26	0.03-0.06	4.4-21.5
				0.001±0.001	0.003±0.005	0.5±0.3	9.1±3.1	0.3±0.3	0.15±0.09	0.04±0.01	8.5±5.9
<i>T. tangeri</i>	E	Junio-Sept	Cuerpo total sin quelipedo	0.02-0.23	0.08-0.25	29.8-48.8	37.5-421.2	24.0-77.0	0.33-0.89	0.40-76	25.5-53.5
				0.13±0.06	0.19±0.10	40.4±6.4	181.5±133.5	52.1±18.7	0.57±0.20	0.32±0.32	37.1±8.2
	F	Junio-Sept	Cuerpo total sin quelipedo	0.08-0.28	0.09-0.19	35.2-53.7	90.9-114.0	14.6-81.9	0.31-0.61	0.40-64	32.0-47.5
				0.15±0.05	0.15±0.05	48.8±1.7	167.0±138.4	47.4±7.3	0.48±0.11	0.25±0.25	35.5±2.9
<i>P. longirostris</i>	E	May-Sept	Cuerpo total	0.02-0.05	0-0.05	19.2-27.2	9.0-31.0	1.5-6.0	0.11-0.69	0.02-0.09	18.2-30.8
				0.03±0.01	0.02±0.01	22.4±3.4	20.3±8.1	2.9±2.1	0.38±0.24	0.04±0.03	23.6±5.3
	F	May-Sept	Cuerpo total	0.02-0.05	0-0.05	21.2-25.2	11.3-28.1	1.5-3.9	0.12-0.85	0.03-0.08	18.73-27.6
				0.03±0.01	0.005±0.005	25.0±2.5	24.9±3.4	3.1±0.9	0.43±0.31	0.05±0.02	26.6±3.7

La especie, *M. kerathurus*, mostró concentraciones de metales similares a las muestras recogidas en una zona de referencia (Vinaroz, Castellón de la Plana). No se observó ninguna tendencia definida durante el periodo inicial de evaluación (Fig 6). En el pez, *L. ramada*, tampoco se observó ninguna tendencia en la evolución de los metales durante la fase inicial de biomonitorización (Fig. 7).

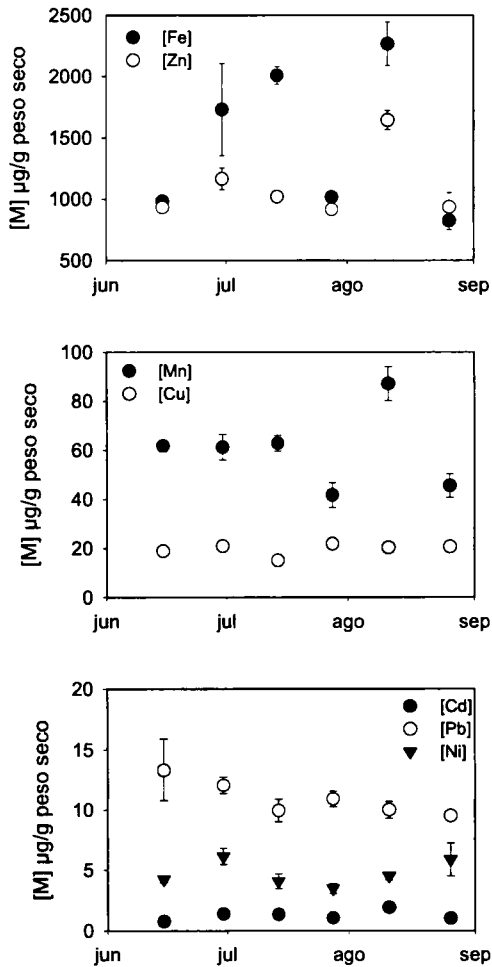


Figura 5. Concentraciones de metales en *S. plana*, recolectados en el estuario del Guadalquivir en el periodo junio-septiembre de 1998.

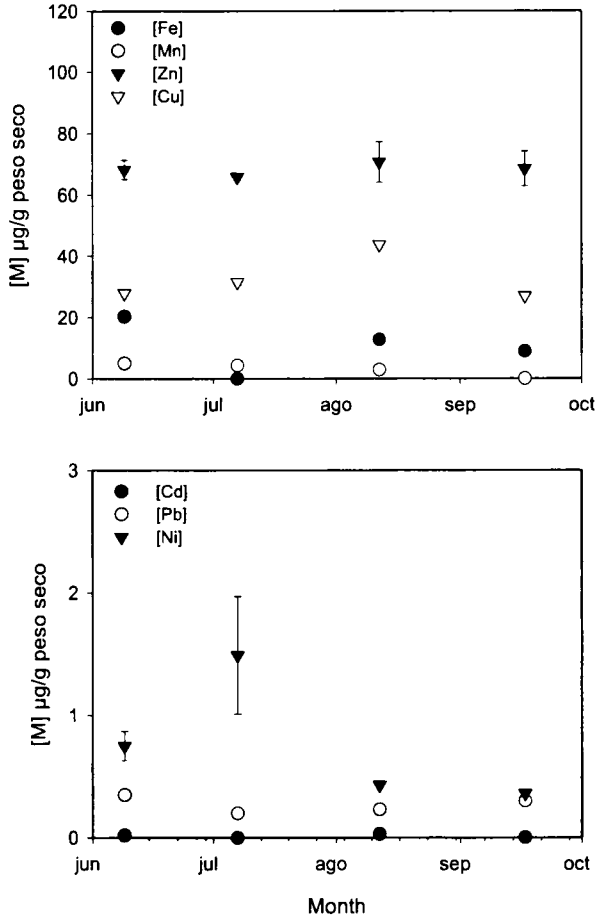


Fig. 6. Concentraciones de metales pesados en el periodo de junio a septiembre de 1998, en el músculo de la especie, *Melicertus kerathurus*. Las barras de error indican la desviación estándar

Con el fin de examinar la biodisponibilidad de los contaminantes, se llevó a cabo también un experimento de trasplante, realizado entre julio y octubre de 1998, con especímenes de *C. angulata*, procedentes de la bahía de Cádiz. Aunque en algunas zonas del estuario, los organismos están sometidos al régimen mareal, en este caso se situaron en una zona submareal, a fin de asegurar que siempre estuvieran expuestos a los metales presentes en el agua. En la figura 5, se presentan los resultados de la concentración de los metales analizados a lo largo

de los tres meses que duró el experimento. Como se puede observar, el Zn mostró las concentraciones más elevadas y también la pendiente más marcada a lo largo del tiempo de exposición, mientras que otros metales como el Cd presentaron una fase inicial de rápido aumento de la concentración, para después estabilizar su concentración en el organismo; algunos como el Tl no mostraron ninguna diferencia en su concentración a lo largo del experimento.

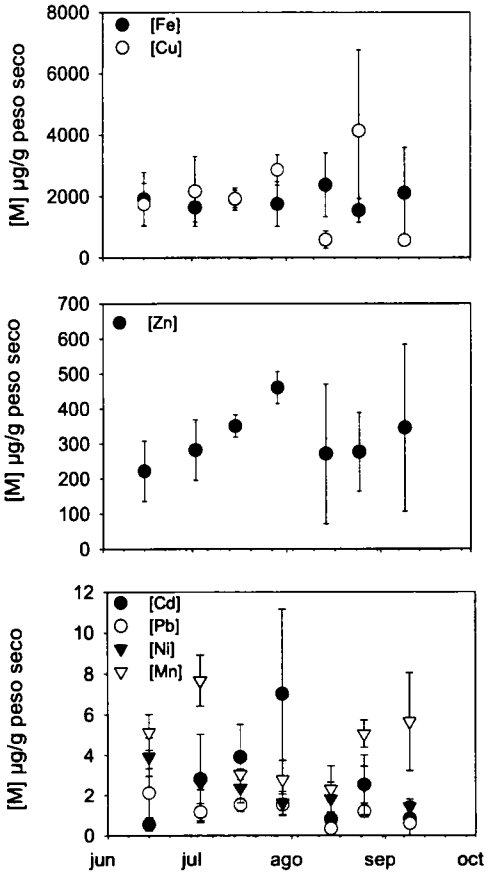


Fig. 7. Evolución de la concentración de metales en hígado de *Liza ramada* en el periodo de junio a septiembre de 1998.

Uno de los órganos diana seleccionados en estudio de trasplante, fue las branquias donde además de la concentración de metales se determinó la concentración de MTs en la fracción S-50 (Olafsson & Olsson, 1991). En la figura 9 se muestran los datos correspondientes a las concentraciones de Zn, Cu y Cd en las branquias. La elevada capacidad de bioacumulación, en respuesta a las concentraciones ambientales, se pone de manifiesto en el hecho de que la tasa diaria de acumulación en las branquias para el Zn estaba alrededor de $150 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso seco. La inducción de MTs, también registró un incremento significativo en respuesta a la concentración metálica, el incremento fue de aproximadamente un 50% (Blasco *et al.*, 2001). Este resultado pone de manifiesto la posibilidad del uso de este biomarcador como indicador de exposición para algunos metales en esta especie.

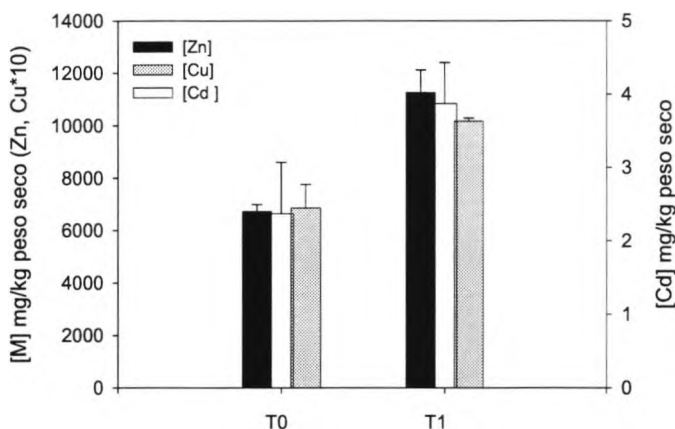


Figura 8. Concentraciones de Zn, Cu y Cd en muestras de *C. angulata* correspondientes a un experimento de trasplante realizado en la desembocadura del estuario del Guadalquivir.

3.2. Evolución temporal de la contaminación

El programa de biomonitorización que se estableció tenía como objetivos evaluar la evolución de los contenidos en metales en organismos y examinar el posible

riesgo que su consumo podría suponer para la salud humana. Para ello, se implementó un programa en el que se seleccionaron especies, pertenecientes a distintas phyla (moluscos, crustáceos, peces y poliquetos), y que en la mayoría de los casos fueron empleadas en la evaluación inicial de las consecuencias del vertido.

3.2.1. *Crassostrea angulata*

Esta especie, era la única, como ya se mencionó anteriormente, para la que existía datos en la bibliografía sobre los contenidos en los metales (Fe, Mn, Cu y Zn), y permitió establecer el impacto del vertido sobre la fauna del estuario. Para el estudio de la evolución temporal, sólo se seleccionó la estación B (Fig. 1), para la cual existían registros previos.

En la Tabla 3, se muestra para cada uno de los metales la media y el intervalo de variación. Se puede apreciar que las concentraciones más elevadas corresponden al Zn y en orden decreciente al cobre, hierro, manganeso, plomo y cadmio. La concentración media en el caso del arsénico total es $0.95 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco y el intervalo de variación 0.78-1.21; si bien en este caso el número de muestras analizadas ha sido bastante menor.

Tabla.3 Concentración media e intervalo de variación de las concentraciones de metales pesados en *Crassostrea angulata*, procedente de la estación B, en la desembocadura del río Guadalquivir. Los resultados se expresan en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco

	Fe	Mn	Zn	Cu	Cd	Pb
Media	301	49	8994	1451	5.3	1.5
Intervalo	146-777	27-67	3045-15824	619-2744	1.5-10.0	0.1-2.4

En la figura 9 se ha representado la evolución temporal de la concentración de los zinc, cobre y cadmio, a modo de ejemplo, durante el periodo 1998-2002. Como se puede apreciar en el caso del Zn y Cd, no así de forma clara en el caso

del Cu, se produce un incremento en las concentraciones de estos metales en los meses posteriores al vertido, observándose para el Cd en las muestras recogidas en el año 2002 son las más bajas del periodo muestreado.

Desde el punto de vista de salud humana, las concentraciones que presentan estos moluscos para cobre y cadmio, son especialmente en el caso del primero, muy superiores a los límites permitidos por la legislación; si bien esta situación no es nueva en el estuario del Guadalquivir, ya que la existencia de ostiones “cobreados” (caracterizados por el color verde que muestran) es conocida desde hace mucho tiempo y está relacionado con el empleo de sulfato de cobre en las prácticas agrícolas, que se efectúan en las riberas de este río agua arriba.

3.2.2. *Scrobicularia plana*

La especie, *Scrobicularia plana*, fue muestreado durante el periodo 1998-2002, en dos zonas, en ambos márgenes del estuario del Guadalquivir (estaciones D, E). La concentración media y el intervalo de variación para cada uno de los metales analizados se muestra en la Tabla 4.

Los resultados muestran una gran similitud, entre las estaciones en ambos márgenes, con unos valores medios muy similares. Este hecho es más patente cuando se comparan la misma estación en ambos márgenes. Sólo en el caso del Fe, se observaron diferencias en los valores medios en ambas estaciones, presentando valores más elevados la estación E, que es la que está situada en la zona menos salina del estuario.

Con respecto al estudio de la evolución temporal de la concentración de metales, se presentan los resultados en la figura 10, que corresponde a la estación D, de la margen izquierda, que es para la serie temporal es más amplia, y además se dispone de una mayor número de datos.

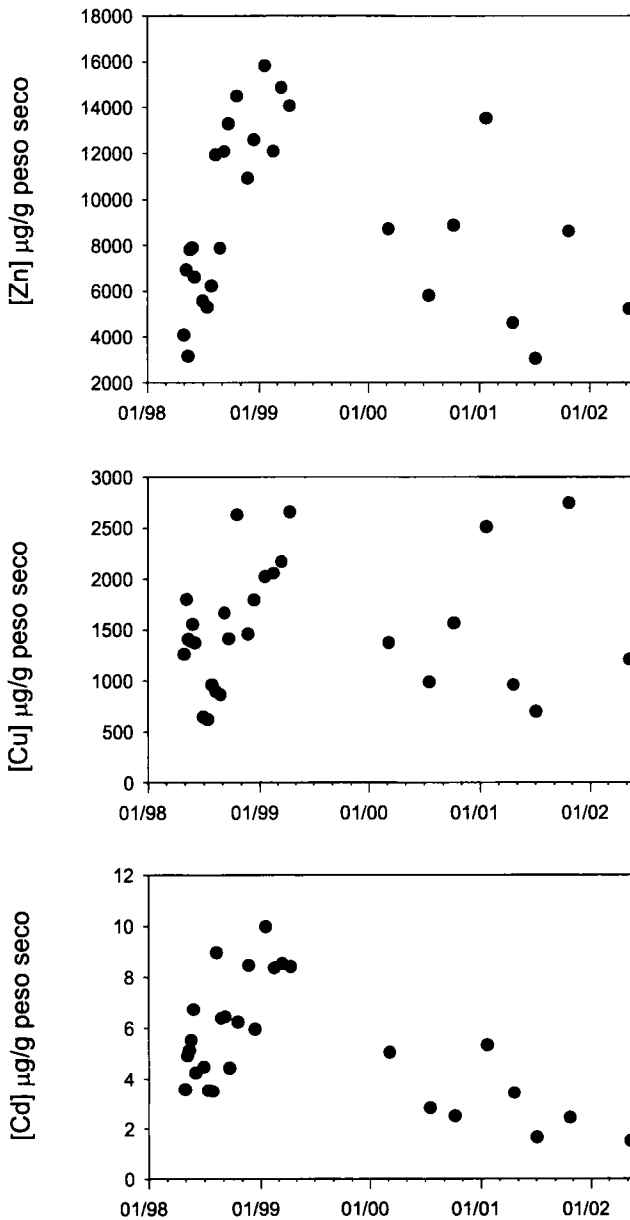


Fig. 9. Evolución temporal de las concentraciones de Zn, Cu y Cd en el cuerpo total de la especie *Crassostrea angulata*, recolectada en la estación B.

En la figura 10, se ha representado la evolución de la concentración de Zn, a lo largo del tiempo. En ella se puede ver claramente como después del vertido la concentración, tiene un valor medio alrededor de $1000 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco, mientras que a partir del año 2000, los valores se sitúan alrededor de $500 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco, y además se mantiene bastante estable. El resto de los metales no mostraron una tendencia definida como en el caso del Zn. Este hecho, pone de manifiesto, que esta especie permitía realizar el seguimiento de la contaminación metálica, ya que el Zn fue el metal, que de manera más clara dejó sentir su efecto en el estuario, tras el accidente minero.

Tabla 4. Valores e intervalos de concentración de metales pesados en las muestras de *S. plana*, recolectadas en diferentes estaciones del estuario del Guadalquivir. Los resultados se expresan en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco

Estación	Fe	Mn	Zn	Cu	Cd	Pb
D izqda						
Media	1694	85	818	28	1.08	12
Intervalo	793-2950	34-208	503-1645	15-58	0.5-1.92	6.8-18
D dcha						
Media	1457	106	732	41	1.04	13.6
Intervalo		59-247	503-1118	18-66	0.57-2.08	9.0-18
E izqda						
Media	3119	82	699	41	1.9	12.5
Intervalo	1486-4798	53-105	478-774	15-72	1.0-2.6	7.5-18
E dcha						
Media	3257	94	708	37	2	13.0
Intervalo	1728-4798	61-185	411-829	17-72	0.8-3.4	6-18

Los valores para aquellos metales cuyos límites están regulados, no superaron prácticamente en ningún caso los límites establecidos por la legislación española para el consumo.

3.2.3. *Uca tangeri*

Para la especie, *U. tangeri*, debido a que durante determinadas épocas de año, no era posible su captura, se presentan los resultados para un intervalo de tiempo menor (1998-1999), que en el caso del resto de las especies. Los valores medios para la concentración de los metales se muestran en la Tabla 5

Se observa que las concentraciones en ambas estaciones, presentan valores muy similares, para el Zn y el Cu, lo que pone de manifiesto la capacidad de regulación que tienen los crustáceos para estos metales, e implica que su uso en programas de biomonitorización en lo que se pretende evaluar la calidad ambiental derivado de vertidos con estos metales

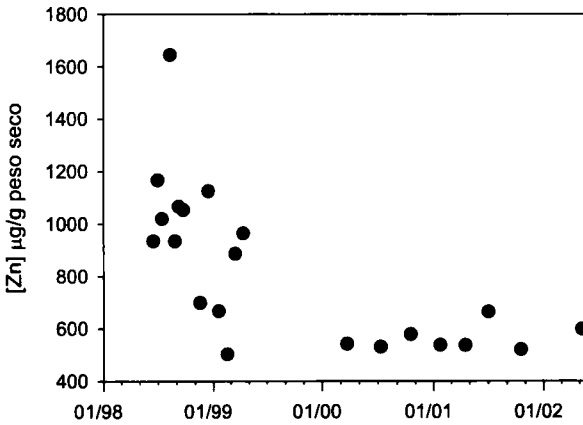


Figura 10. Evolución de la concentración de Zn, en ejemplares de *S. plana*, recolectados en la estación D, de la margen izquierda del estuario del Guadalquivir. Los resultados se expresan en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco.

La concentración de los metales fue mayor en el cuerpo, especialmente en el caso del Cd. Los otros metales mostraron en general concentraciones del orden de dos veces superiores en el cuerpo.

Con respecto al peligro potencial de su consumo para la salud humana, sólo en el caso del cobre los valores registrados son superiores a los permitidos por la legislación ($20 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso húmedo). Aunque, parece que estas elevadas concentraciones de cobre puede que no estén relacionados con problemas derivados de contaminación, sino por la presencia de hemocianina como pigmento respiratorio en los crustáceos es inadecuado

Tabla.5 Concentración media de metales en el quelípedo y el cuerpo de la especie *Uca tangeri*, en las estaciones E y F de la margen izquierda. Los resultados se expresan en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco.

Estación	Fe	Mn	Zn	Cu	Cd	Pb
E izqda						
Quelípedo	207	119	76	48	0.02	2.41
Cuerpo	474	144	109	122	0.47	1.49
F izqda						
Quelípedo	212	143	78	57	0.03	0.21
Cuerpo	384	272	111	119	0.38	1.02

3.2.4. *Melicertus kerathurus*

En esta especie, la evaluación inicial de la concentración del vertido, mostró que la concentración de los metales era baja, y por tanto no representaba peligrosidad su consumo. En la Tabla 6, se presentan los valores medios para los metales analizados en diferentes partes del cuerpo de esta especie.

Como se puede observar en la tabla, los valores más elevados, en general, se hallan en el hepatopáncreas, a excepción del Mn, que se encuentran en la cutícula, lo cual es consecuencia de la adsorción de este metal sobre el exoesqueleto. Este proceso también ha sido descrito en otros crustáceos (Bryan & Ward, 1965). Al examinar la Tabla 6, se aprecia una gran acumulación que se

produce para el cobre en el hepatopáncreas, derivado del papel metabólico que tiene este organismo. Las branquias, es el otro órgano en donde acumulan preferencialmente los metales, como consecuencia de su actividad filtradora.

Tabla 6 Concentración media de metales en órganos/tejidos de la especie *Melicertus kerathurus* recolectado en la desembocadura del río Guadalquivir (estación A). Los resultados se expresan en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco.

Órgano/tejido	Fe	Mn	Zn	Cu	Cd	Pb
Branquias	279	16	101	268	0.89	9.7
Cutícula	53	26	29	49	0.04	0.47
Gónadas	58	7.8	168	64	0.13	0.54
Hepatopáncreas	183	10	261	1265	2.41	8.0
Músculo	25	2.6	60	29	0.03	0.41

La concentración media de arsénico total en los distintos órganos/tejidos expresados sobre peso seco fue: 0.61, 0.18; 0.95; 1,15 y 0.56 para las branquias, cutícula, gónadas, hepatopáncreas y músculo, respectivamente.

Desde el punto de vista de salud humano, los resultados obtenidos corroboran los que se obtuvieron en el estudio inicial, que ponían de manifiesto que el consumo de esta especie no implicaba riesgos para la salud, ya que los valores de los metales en la parte comestible (músculo) se encuentran por debajo de los límites establecidos. Si bien los elevados valores de concentración del hepatopáncreas, harían recomendable no consumir esta parte del organismo.

La evolución estacional de la concentración metálica en el músculo se representa en la figura 11. Como se aprecia, las concentraciones fluctúan poco a lo largo del tiempo, lo que pone de manifiesto que esta especie posee una elevada capacidad de regulación, o que en ningún momento las concentraciones ambientales de metales provocaron un desequilibrio en estos mecanismos.

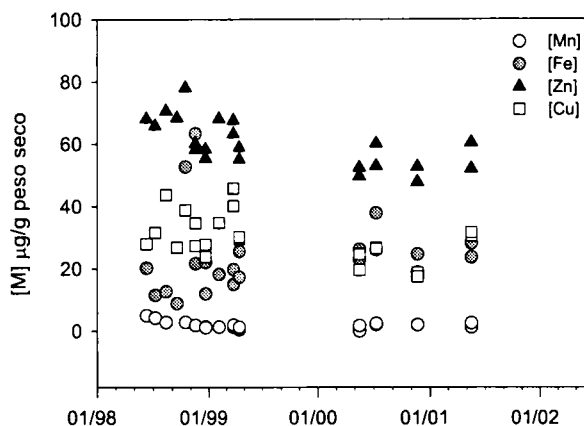


Fig. 11. Concentración de metales en el músculo de *M. kerathurus*, recolectados en la desembocadura del estuario del Guadalquivir (estación A). Los resultados se expresan como $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco.

El análisis de la evolución estacional de la concentración de metales en el hepatopáncreas no mostró una variación temporal definida, sólo Cu y Zn, mostraron un mayores oscilaciones (Figura 12).

3.2.5. *Palaemon longirostris*

En la Tabla 7, se muestran los valores medios para los metales analizados en el camarón, *P. longirostris*. Se presentan los resultados para las dos estaciones en las que fueron muestreados (E y F). Como se puede observar, los valores medios en ambas estaciones son muy similares, lo que se debe en parte a que es una especie no sedentaria y puede desplazarse a lo largo del estuario, y por otro lado como ya se ha mencionado anteriormente, los crustáceos decápodos tienen una alta capacidad de regulación para algunos metales.

En la figura 13, se representa la evolución estacional para la concentración de los metales analizados. En general no se observó ninguna evolución temporal definida para los metales en esta especie.

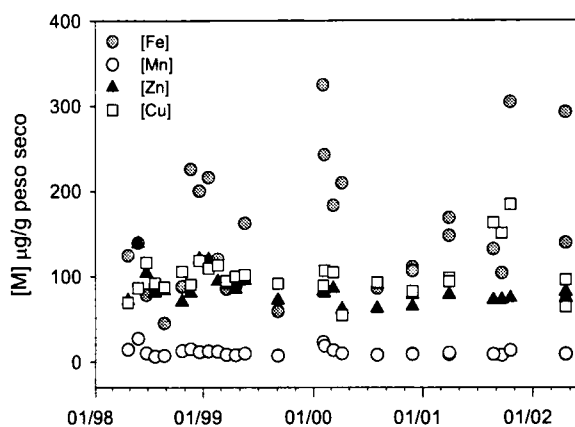


Figura 13. Concentración de metales en *Palaemon longirostris*, cuerpo total, recolectados en el estuario del Guadalquivir (estación E). Los resultados se expresan como $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco.

Como ya se mencionó en el apartado correspondiente a la evaluación inicial del vertido, la concentración más elevada de zinc se presentó después del vertido, y éste ha sido el valor más elevado registrado durante todo el periodo analizado.

Tabla 7. Concentración media de metales en *Palaemon longirostris*, procedentes de las estaciones E y F del estuario del Guadalquivir. Los resultados se expresan en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco.

Estación	Fe	Mn	Zn	Cu	Cd	Pb
E	150	11	84	99	0.13	0.44
F	147	12	89	92	0.18	0.46

3.2.6. *Liza ramada*

Los resultados correspondientes a las concentraciones medias en los metales analizados durante el periodo muestreado, en el músculo e hígado aparecen

recogidos en la Tabla 8. La acumulación preferencial de los metales se produce en el hígado, presentando concentraciones elevadas para el Cu, Fe, Zn y Cd. Los valores que se presentan en el músculo (parte comestible) son bajos, por tanto su consumo no implicaría riesgo para la salud, en lo que respecta a los contenidos en metales, de acuerdo con la legislación nacional.

Tabla 8. Concentración media de metales en *Liza ramada*, procedentes de las estaciones E del estuario del Guadalquivir. Los resultados se expresan en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco.

Órgano/tejido	Fe	Mn	Zn	Cu	Cd	Pb
Hígado	2357	6.8	276	4442	9.2	2.8
Músculo	38	1.3	28	3.0	0.01	0.3

Con respecto a la evolución temporal, no se observó una tendencia definida, aunque en este caso las fluctuaciones son más notables que en otras especies.

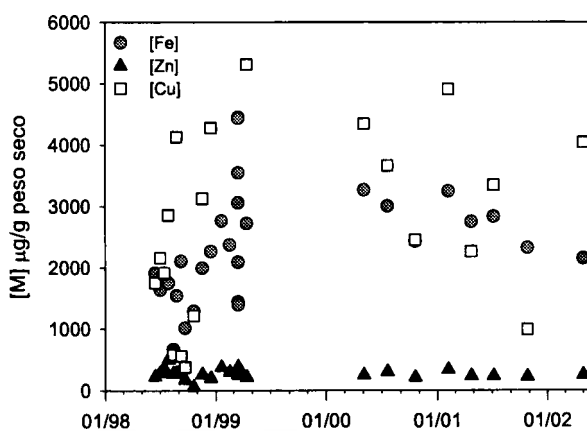


Figura 14. Concentración de metales en el hígado de *Liza ramada* recolectados en el estuario del Guadalquivir (estación E). Los resultados se expresan como $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco.

3.2.7 *Pomatochistus sp.*

En la Tabla 9, se muestran los valores medios para la concentración metálica en el pez, *P. minutus*, en las estaciones E y F del estuario del Guadalquivir. Dado el

pequeño tamaño de los ejemplares de esta especie, no se procedió a su disección, sino que se analizó el cuerpo total.

Tabla 9. Concentración media de metales en *P. minutus*, procedentes de las estaciones E y F del estuario del Guadalquivir. Los resultados se expresan en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco.

Estación	Fe	Mn	Zn	Cu	Cd	Pb
E	225	14	94	5.9	0.03	0.6
F	79	9.8	95	5.2	0.05	0.5

Las concentraciones en ambas estaciones fueron similares, salvo en el caso del Fe, donde la estación E, en general presenta valores próximos a $200 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco

En la figura 15 se representa la evolución temporal para la concentración metálica en las estación E. Los metales mostraron en general pequeñas fluctuaciones salvo en el caso del Fe, y Pb. En el caso de arsénico el número de datos disponibles era menor, pero la concentración media en las estaciones E y F fue respectivamente 1.2 y $1.4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco

3.2.8 *Nereis diversicolor*

La especie *N. diversicolor* se encuentra distribuida a lo largo de la zona estuárica del Guadalquivir. Los valores medios de las concentraciones para el conjunto total de las muestras fue: 1101, 38, 181, 34, 0.15, 1.98 y $1.55 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco para Fe, Mn, Zn, Cu, Cd, Pb y As, respectivamente.

En la Tabla 10, se muestra las concentraciones medias para cada uno de los metales es las distintas estaciones. No se obtuvo un gradiente definido para las estaciones, ya que mientras F del margen izquierdo presentó las concentraciones

más elevadas para Fe, Mn y Pb, para otros metales, los valores más altos se encontraban en otras estaciones. Las concentraciones medias de Zn, Cu y Cd fueron muy similares en las diversas estaciones.

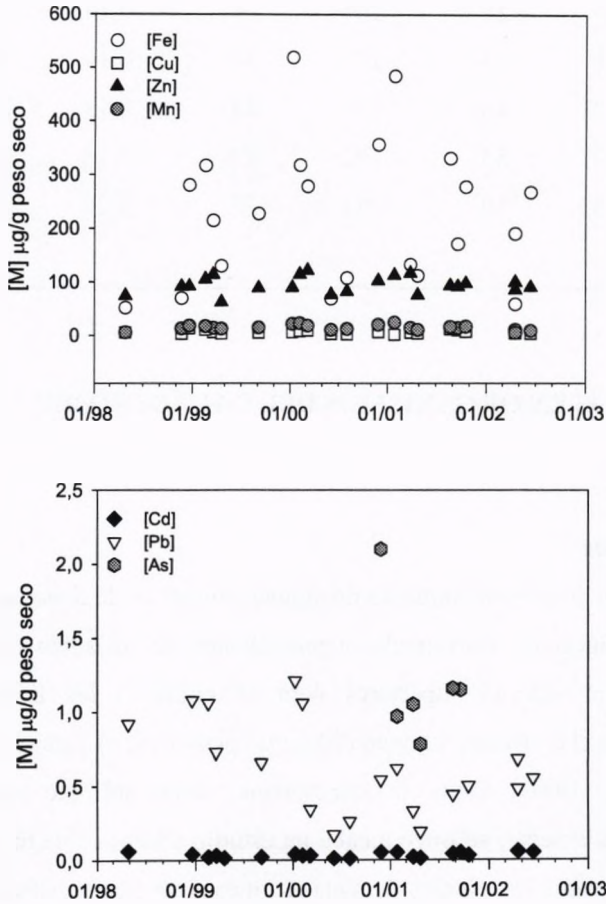


Figura.15. Concentración de metales en *Pomatochistus minutus* recolectados en el estuario del Guadalquivir (estación E). Los resultados se expresan como $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco.

En la figura 16 se muestra la evolución estacional de al concentración de metales en la estación E de la margen izquierda, como se puede observar no se aprecia una evolución temporal de la concentración metálica.

Tabla 10. Concentración media de metales en *N. diversicolor*, procedentes de las estaciones D, E y F, de ambos márgenes del estuario del Guadalquivir. Los resultados se expresan en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco.

Estación	Fe	Mn	Zn	Cu	Cd	Pb
D izqda	1308	41	175	33	0.10	1.89
D dcha	660	25	204	29	0.14	1.71
E izqda	670	25	171	34	0.14	1.80
E dcha	1228	46	181	44	0.13	2.30
F izqda	1997	55	182	27	0.18	3.25
F dcha	1233	50	181	37	0.24	1.65

4. RESULTADOS EN ORGANISMOS DEL CALADERO DEL GOLFO DE CÁDIZ

4.1. *Squilla mantis*

El análisis inicial de la concentración de algunas muestras de *S. mantis* recogidas la lonja de Sanlúcar de Barrameda, y procedentes del caladero del Golfo de Cádiz, mostraron valores superiores para el cobre a los límites legales establecidos para el consumo humano ($20 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso fresco) según la legislación española (BOE, 1991). Dada la importancia comercial que representa la pesquería de esta especie, se llevó a cabo un estudio con el doble fin, a) mejorar el conocimiento sobre los niveles de metales en esta especie y evaluar el posible impacto del vertido minero sobre esta especie, y b) establecer las implicaciones que podría tener este hecho para el consumo humano.

Las muestras como se indicó en el Material y Métodos procedían de 14 estaciones (Fig. 2), y se subdividieron en cuatro zonas. La concentración media y el intervalo de variación para cada uno de los metales analizados tanto en la parte comestible como en la cutícula se muestra en la Tabla 11. Los valores más

elevados se encontraron en la parte comestible para zinc, cobre y cadmio y en la cutícula para el hierro, manganeso y plomo. La ratio entre la concentración metálica en los tejidos blandos y la cutícula varió en el intervalo entre 3.4 para cadmio y 0.13 para el manganeso. El plomo en un 50% de los casos, mostró en las cutículas y en los tejidos blandos concentraciones inferiores al límite de detección ($<0.05 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco).

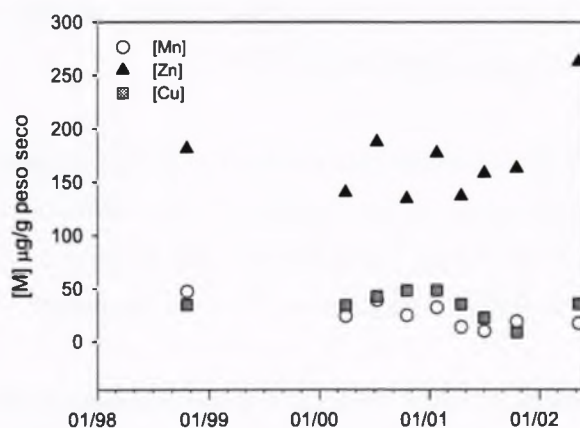


Figura 16. Concentración de metales en *N. diversicolor* recolectados en el estuario del Guadalquivir (estación E, margen izquierda). Los resultados se expresan como $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco.

Las concentraciones medias de los metales analizados, en los tejidos blandos y en la cutícula, en las cuatro zonas establecidas se muestran en las figuras 18 y 19, respectivamente. El análisis de correlación entre la concentración y la longitud del caparazón, para el conjunto total de datos y para cada grupo de manera separada, mostró en ambos casos que una correlación positiva existía en ambos tejidos con el Fe, mientras que en el caso del Cu, ésta fue sólo significativa en la cutícula. Así que con el fin de establecer diferencias significativas entre las zonas, se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) para manganeso, zinc y cobre en los tejidos blandos y para cadmio y manganeso en la cutícula. El resto de las concentraciones en los tejidos fueron analizadas mediante un análisis ANCOVA, donde la longitud del caparazón fue incluida como covariante. En el

análisis de los tejidos blandos, las concentraciones de Fe y Cd mostraron diferencias significativas entre zonas (Fig 18), encontrándose los valores más bajos en la zona 1. Para la cutícula (Fig 17) sólo el Mn mostró diferencias significativas, con los valores más elevados en la región 1. El post-test de múltiples intervalos permitió establecer las diferencias entre regiones, así para el Fe, en los tejidos blandos, la zona 1 era significativamente diferente de las zonas 2 y 3, y las zonas 4 y 3. Para el Cd, la zona 1 era significativamente diferente del resto. El Mn, en la cutícula, el test estadístico mostró diferencias entre las zonas 1 y 2, 2 y 4 y 2 y 3 a un nivel de significación $P < 0.05$.

La concentración media fue similar para el cobre y el zinc en los tejidos blandos (136 y $135 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco, respectivamente), y la concentración de Zn, varió entre 64 y $104 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco. Las concentraciones de Fe y Cu fueron más elevadas en la cutícula (105 y $85 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco, respectivamente).

La concentración media de cobre en los tejidos blandos, que corresponde a la parte comestible fue de $27 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso húmedo. Aproximadamente el 80% de las estaciones mostraron valores superiores a $20 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso húmedo, que es el límite legal para el consumo humano según la legislación española

Las concentraciones de Zn en esta especie se halla en el mismo intervalo que las halladas en crustáceos decápodos, en el intervalo 50 - $120 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco (White & Rainbow, 1982), lo cual indica que esta especie al igual se los palaemoneidos es capaz de regular la concentración de este metal; en el caso del cobre aunque las variaciones han sido mayores, también puede que sea posible la regulación de este metal por esta especie. La causa de que las concentraciones de Fe y Mn fueran superiores en la cutícula, puede estar relacionada con los procesos de adsorción de estos metales en el exoesqueleto de estos crustáceos, un comportamiento similar ha sido señalado para el Mn en decápodos (Bryan & Ward, 1965). En esta misma zona, las concentraciones registradas en esta área,

anteriormente, ha mostrado valores superiores para el Cd (Establier, 1975), pero las diferencias pueden estar relacionados con el tamaño de los especímenes, métodos aplicados o variaciones en la concentración metálica a lo largo del tiempo.

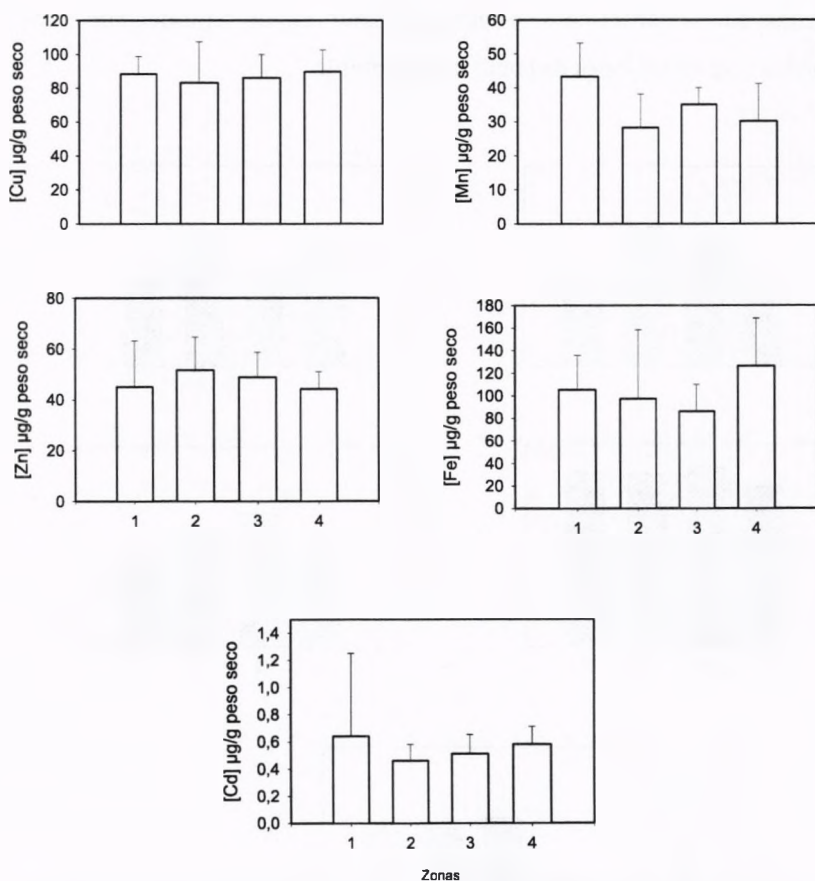


Fig 17. Concentraciones de metales (media y desviación estándar) en la cutícula de *Squilla mantis* recogida en cuatro zonas del Golfo de Cádiz. Los resultados se expresan en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco.

La concentración de cobre que en la mayoría de los casos fue superior a $20 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso húmedo, al igual que ocurrió con otras especies de crustáceo del estuario del Guadalquivir *P. longirostris* y *U. tangeri*, como se ha mencionado anteriormente en este Informe, si bien los ejemplares de *M. kerathurus* presentaban

concentraciones bastante inferiores a ese valor umbral (Blasco et al., 1999). En el caso de especímenes recolectados en la costa mediterránea (Tarragona y Alicante, las concentraciones también eran inferiores, con valores medios de 13.5 y 17.0 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso húmedo, respectivamente (Rodríguez, comunicación personal). Los valores más elevados del Golfo de Cádiz, pueden estar relacionados con variables como estación, tamaño, estado reproducción y muda, así como las concentraciones de cobre biodisponible.

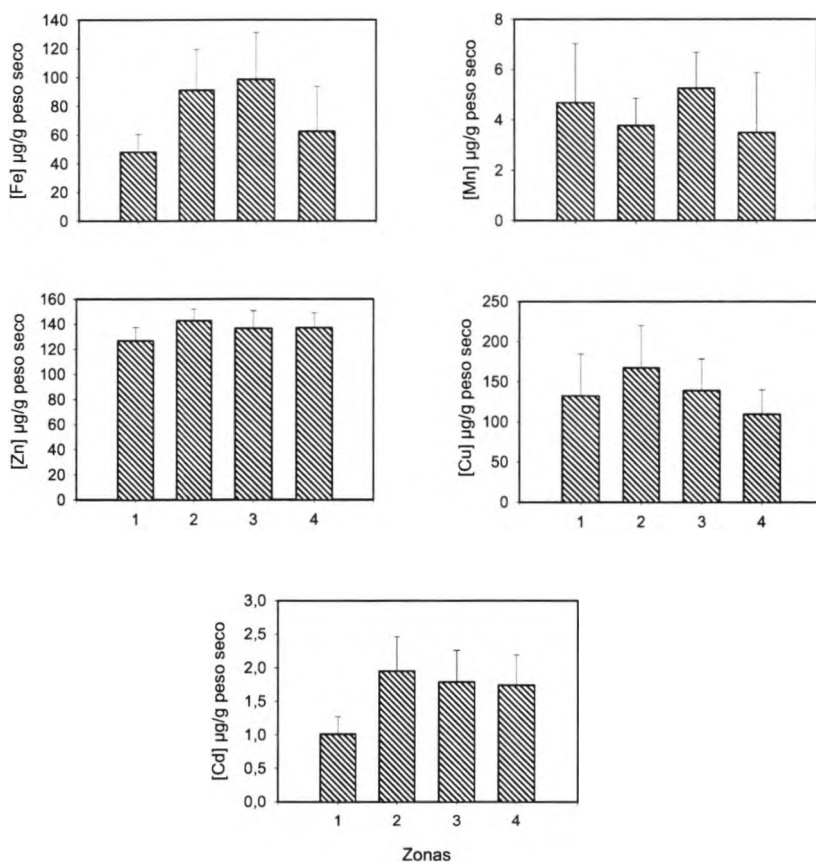


Figura 18. Concentraciones de metales (media \pm desviación estándar) en el músculo de *S. mantis* en cuatro estaciones del Golfo de Cádiz. Los resultados se expresan en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en peso seco.

Los niveles de concentración metálica registrados en *S. mantis*, del Golfo de Cádiz, parecen estar relacionados con las actividades mineras presentes en la zona desde los tiempos de los Tartesos y Romanos. Así, por ejemplo, han sido detectadas concentraciones de metales elevadas en la plataforma continental en las proximidades de las desembocaduras los ríos Guadiana y Tinto y Odiel (Palanques et al., 1995). Recientemente se ha identificado la presencia de una masa de agua enriquecida en metales en el Golfo de Cádiz, que entra en el Mediterráneo Occidental, a través del Estrecho de Gibraltar, y que recoge los drenajes de las cuencas de los ríos del Cinturón Pirítico Ibérico, y en última instancia del Guadalquivir (Elbaz-Poulichet et al., 2000). En consecuencia, los niveles registrados en esta especie parece reflejar los contenidos en metales en el Golfo de Cádiz y por tanto no pueden ser atribuidos de manera exclusiva la vertido minero de Aznalcóllar.

4.2. *Dicologlossa cuneata*

Las muestras de acedías, *D. cuneata*, entre el año 1998 y 2002 no han mostrado una tendencia definida a lo largo del tiempo, ni en músculo, ni en el hígado que fueron los tejidos/órganos seleccionados. La concentración media los metales analizados se muestra en la Tabla 11. La acumulación de los metales tiene lugar de forma preferente en el hígado, mostrando una ratio entre la concentración en ambos tejidos $[M]_{\text{hígado}}/[M]_{\text{músculo}}$, varía entre 770 para el Cu y 4 para el Mn. Una representación de cajas para las muestras y metales analizados (Fe, Mn, Zn, Cu, Cd y Pb) se muestra en la figura 19. Se aprecia que las concentraciones más elevadas en el músculo corresponden al Zn, mientras que el cobre es el que presenta un mayor intervalo de variación. Desde el punto de vista de las implicaciones que su consumo puede representar para la salud humana, las concentraciones de los metales Cu, Cd y Pb mostraron en todos los casos valores muy inferiores a los permitidos por la legislación. Aunque las concentraciones en el hígado son elevadas, y en algunos casos los hábitos de consumo, implican el

consumo entero de pez, el peso que éste representa en el peso total es pequeño, y por tanto la concentración total estaría por debajo de los límites establecidos.

Tabla 11. Concentración media de metales analizados en músculo e hígado del pez *Dicologoglosa cuneata* en muestras procedentes del Caladero del Golfo de Cádiz durante el periodo 1998-2002.

Órgano/tejido	Fe	Mn	Zn	Cu	Cd	Pb
Músculo	16	2.5	18.5	1.1	0.011	0.20
Hígado	572	10.0	101	849	0.110	1.64

Los resultados se expresan en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco

4.3. Otras especies

En este Apartado se recogen los resultados de los muestreos efectuados en el caladero del Golfo de Cádiz, durante las campañas llevadas a cabo en el año 1999 y en el año 2001. El primero de estos muestreos se efectuó en cuatro zonas, Ayamonte, Huelva, Sanlúcar y Cádiz. En el caso de las muestras correspondientes al año 2001, éstas fueron facilitadas por el Instituto Español de Oceanografía (IEO), y correspondieron a campañas realizadas para el estudio de las pesquerías del Golfo de Cádiz. En ambos muestreos se analizaron todas las especies que se recogieron con el arte de arrastre (peces, moluscos, crustáceos, antozoos), sin considerar “a priori” si se trataban de especies comerciales. Los resultados muestran, tal vez, en determinados casos, los primeros datos de concentración de metales procedentes del caladero del Golfo de Cádiz. En el caso de los peces, cuando fue posible se procedió al análisis del músculo e hígado, también en algunos casos se procedió a realizar una disección mas detallada.

El análisis de los resultados obtenidos de las especies correspondientes al muestreo del año 1999 señala que prácticamente la totalidad de los organismos

susceptibles de ser comerciales presentaron concentraciones por debajo de los límites legales. En el caso de la especie *Sepia elegans*, la concentración de cobre era de $246 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso húmedo, que puede ser debido, en parte a la presencia en la muestra del pigmento característico de estos organismos. Los valores más elevados en todos los arrastres en general se observaron en los moluscos y en el hígado de peces.

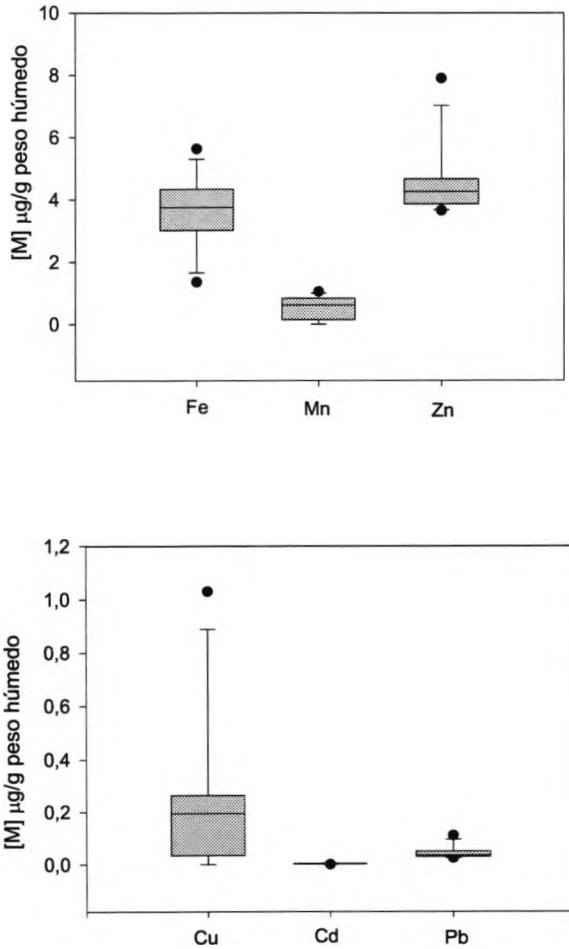


Figura 19. Representación de cajas para las concentraciones de los metales analizados a lo largo del periodo 1998-2002, en muestras de *Dicologlossa cuneata* procedentes del Caladero del Golfo de Cádiz.

Así por ejemplo, la especie *Pecten maximus* tenía concentraciones muy elevadas de Fe, Mn y Pb. También se observaron valores altos en la especie, *Astropecten sp.* Los hígados de los peces, mostraron en general, valores elevados para la concentración de los metales analizados; es de destacar las concentraciones de cobre en *D. cuneata*, muy superior al que presentan otras especies, con un valor de $1303 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso húmedo. Las especies, *Pteroides* y *Astropecten* también presentaron concentraciones elevadas de Zn. Por último, las muestras de *Squilla mantis*, que se recogieron también presentaron en este caso concentraciones superiores a los $20 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso húmedo.

En los lances efectuados en el año 2001, para el conjunto de las especies analizadas, se observaron valores elevados de cobre en el hígado del pez, *Dicentrarchus punctatus*, con concentraciones de $461 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso húmedo, también en este órgano se mostraron concentraciones elevadas de cadmio. Para el plomo, sólo en la especie *Lygthonathus mormyrus* se observó una concentración elevada ($3.7 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso húmedo).

En resumen, el análisis de las concentraciones de los metales analizados en un amplio número de especies pertenecientes a diferentes phyla, en las muestras del caladero del Golfo de Cádiz, mostró que las concentraciones son inferiores, en general, a los límites establecidos (para aquellos metales en los que existe legislación: Cu, Cd y Pb) para el consumo humano. Los resultados también suponen una información inestimable de cara a futuros programas para la evaluación de la calidad ambiental.

5. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permitieron establecer la evolución temporal de la concentración de los metales biodisponibles tras el accidente minero de Aznalcóllar, observándose, en general, un incremento en los niveles de metales,

presentes en los lodos y aguas ácidas, en los organismos, durante los meses inmediatamente posteriores al vertido, y una tendencia a disminuir conforme el tiempo ha transcurrido.

Cabe señalar, que de las especies seleccionadas, los moluscos, debido a que se tratan de especies filtradoras y hábitos sedentarios, son las más adecuadas para un programa de biomonitorización en esta zona. Para las especies de moluscos analizadas, *Crassostrea angulata* y *Scrobicularia plana*, las concentraciones de Zn han mostrado una tendencia a disminuir a lo largo del tiempo. El empleo de los crustáceos, parece especialmente desaconsejado, debido a la elevada capacidad de regulación que tienen para el zinc y el cobre. El impacto del vertido minero sobre los organismos presentes en la zona costera adyacente, ha sido muy limitado. Con respecto a las concentraciones elevadas de cobre halladas en algunas especies, no pueden asociarse exclusivamente al vertido, ya que el estuario del Guadalquivir ha estado sometido tradicionalmente a contaminación por este metal.

6. AGRADECIMIENTOS

Deseamos agradecer a Dña. Isabel Fernández, Dña. María Francisca Osta, y a D. Pablo Vidal, su valiosa colaboración en el procesamiento y análisis de muestras. A Dña P. Drake, D. F. Baldó y D. C. González las muestras de *P. minutus* y *P. longirostris* del estuario del Guadalquivir. A D. Ignacio Sobrino y D. Manuel Silva, y al I.E.O. por su gentileza al cedernos las muestras de diferentes lances efectuados en el Golfo de Cádiz, así como por la información recibida de los mismos. Asimismo, agradecemos al CSIC en la fase inicial de este trabajo y la Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía, a través del PICOVER, y del proyecto "Estudio de la contaminación metálica en el estuario del Guadalquivir: Efecto sobre el medio físico y la biota" la financiación para llevar a cabo el presente trabajo.

7. REFERENCIAS

Amiard, J. C, Pineau, A, Boiteau, H. L., Metayer, C., Amiard-Triquet, C. (1987). Application de la spectrometrie d' absorption aomique Zeeman aux dosages de huit element traces (Ag, Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb et Se) dans des matrices biologiques solides. Wat. Res., 21:693-697

- Blasco, J, Arias, A. M., Sáenz, V., Ransome, T.(2001). Evaluation of the pollution in the Guadalquivir River estuary. A biomarker approach. 11th Annual Meeting of SETAC Europe. 2001. Madrid. 2001.
- Blasco, J., Arias, A. M., Sáenz, V. (1999). Heavy metals in organisms of the River Guadalquivir Estuary: possible incidence of the Aznalcollar disaster. *Sci.Total Environ.* 242:249-260
- Bryan, G. W., Ward, E. (1965). The absorption and losses of radioactive and no radioactive manganese by the lobster, *Homarus vulgaris*. *J. Mar. Biol. Ass. UK* 45:65-95
- Cordón, R., Cabrera, F., Arramabari, P. (1987). Concentraciones de metales pesados en aguas, sedimentos y tres especies de animales (*Crassostrea angulata*, *Dicentrachus labrax* y *Mugil auratus*) de los estuarios de los ríos Barbate y Guadalquivir. In: López-Ruiz J (ed) III Seminario de Química Marina. Servicio Publicaciones Universidad de Cádiz, Cádiz, p 65-72
- Elbaz-Poulichet, F., Morley, N.H., Beckers, J.M, Nomerange, P. (2001). Metal fluxes trough the Strait of Gibraltar: the influence of the Tinto and Odiel Rivers (SW Spain). *Mar Chem* 73:193-213
- Establier, R. (1975). Concentración de cadmio en organismos marinos de la costa sudatlántica española. *Inf. Tecn. Inst. Inv. Pesq.* 26:1-26
- Establier, R., Pascual, E. (1974). Estudio del cobre, hierro, manganeso y cinc en ostiones (*Crassostrea angulata*) del golfo de Cádiz. *Inv.Pesq.* 38:371-384
- Gómez-Parra, A., Forja, J. M., DelValls, T.A., Saenz, I., Riba, I. (2000). Early contamination by heavy metals of the Guadalquivir estuary and surrounding areas. *Mar.Pollut.Bull.* 40:1115-1123
- O'Connor, T. P., Cantillo, A. Y., Lauenstein, G. G. (1994). Monitoring of temporal trends in chemical contamination by the NOAA National Status and Trends Mussel Watch Project. *Biomonitoring of Coastal Waters and Estaries*. Kramer K. J. E. (eds.), pp 29-50 CRC Press, Inc, Boca Raton.
- O'Connor, T. P., Beliaeff, B. (1995). Recent trends in coastal environmental quality: results from the Mussel Watch Project 1986 to 1993. *National Status and Trends Program. Mar. Environ. Qual.*, 40 pp.

- Olafsson, R. W., Olsson, P.E. (1991). Electrochemical detection of metallothionein. *Metallobiochemistry. Part B Metallothionein and related molecules.* p 205-213
- Palanques, A., Diaz, J.I., Darran, M. (1995). Contamination of heavy metals in the suspended and surface sediment of the Gulf of Cadiz (Spain): the role of sources, current, pathways and sinks. *Oceanologica Acta* 18:469-477
- Sarasquete, C., Gonzalez de Canales, M. L., Blasco, J., Capeta da Silva, D., Arellano, J., Gutiérrez, M. (1997). Histochemical distribution and accumulation of trace metals in the heart of green and normal *Crassostrea angulata* specimens from different southwest Spanish coasts. *Eur.J.Histochem.* 41:139-148
- White, S.L., Rainbow, P.S. (1982). Regulation and accumulation of copper, zinc and cadmium by the shrimp *Palaemon elegans* . *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 8:95-101

***Evaluación integrada de los efectos adversos producidos
por la contaminación procedente del vertido de
Aznaicóllar ligados al sedimento***

Riba, I., Martín-Díaz, M.L., Forja, J.M. y DelValls, T.A.

Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Campus Río San Pedro s/n, 11510
Puerto Real, Cádiz, España

1. INTRODUCCIÓN

Desde el primer momento de establecimiento del plan de vigilancia del impacto del vertido en el estuario del río Guadalquivir se procedió a la evaluación conjunta del efecto tanto a nivel fisicoquímico como biológico. Se presentan los datos obtenidos referentes a los efectos biológicos producidos por los metales pesados procedentes del vertido tanto en condiciones de campo como en simulaciones realizadas en el laboratorio. La selección de las estaciones de muestreos y los diseños de los ensayos de simulación en el laboratorio se han basado en estudios previos en diferentes trabajos (Riba et al., 2002 a, b, c).

Basado en estos datos obtenidos durante la vigilancia de la contaminación se ha diseñado un método integrado de evaluación de la calidad ambiental que implica determinaciones fisicoquímicas y de efecto tóxico en muestras de sedimento y de agua procedentes del estuario del río Guadalquivir. El método integrado se basa en la modificación del método de evaluación de la calidad de sedimentos TRIAD y que se muestra en la figura 1.

La modificación ha consistido en la eliminación del tercer área de evaluación ‘in situ’ del efecto biológico, de forma que se describen los efectos tóxicos determinados en condiciones de laboratorio para los dos tipos de matrices ambientales, sedimento y agua.



Figura 1. Representación esquemática de la aplicación del método integrado Triad para determinar calidad ambiental.

A lo largo de este trabajo se evalúa el efecto de los vertidos iniciales, no depurados, y el resto, ya depurados, sobre el ecosistema del estuario del río Guadalquivir y en la zona de ambiente marino próxima al embalse del agua tóxica retenida en Entremuros. Para ello, se han determinado los efectos biológicos en el sedimento y dilución de lodo tóxico.

Para el sedimento se han elegido dos tipos de aproximaciones, en la primera se prueba el efecto biológico determinado por exposición de ciertos organismos típicamente del estuario (peces planos: *Solea senegalensis*, coquina de fango: *Scrobicularia plana*, y el anfipodo: *Ampelisca brevicornis*) a diluciones del fango tóxico recogido en las proximidades del vertido con sedimento limpio procedente de la Bahía de Cádiz. Estas diluciones se realizan en diferentes proporciones para establecer la permisibilidad de los organismos y el ecosistema que representan al impacto de los metales procedentes del vertido. La segunda aproximación conlleva el uso de sedimentos recogidos en las zonas del estuario, concretamente en cuatro estaciones localizadas en el brazo de la torre y a lo largo del tramo final

del estuario. En ésta se exponen los mismos organismos a los sedimentos brutos recogidos en el estuario.

En base a estos antecedentes y a las determinaciones de los niveles de contaminantes, incluyendo su biodisponibilidad determinada por estudios de especiación en sedimento, se proyectó el trabajo de este capítulo con el que se pretende, como objetivo final, contribuir al seguimiento del impacto ambiental que se ha producido en los ecosistemas del estuario del río Guadalquivir valorando la calidad ambiental los sedimentos .

Considerando la metodología que se ha seguido, se pretendía realizar esta aportación a través de la consecución de los siguientes objetivos concretos:

1º) Comparar los resultados de efectos tóxicos determinados directamente en muestras de campo con aquellos que se obtenían por diluciones de fango tóxico procedente el vertido minero.

2º) Desarrollar nuevos observables más sutiles que la mortalidad para la determinación del efecto tóxico asociado con las concentraciones ambientales de los metales pesados simulados en el laboratorio utilizando los sedimentos.

5º) Establecer la relación entre las concentraciones ambientales y los efectos medidos en los experimentos de simulación de laboratorio para determinar el impacto de las concentraciones de los metales pesados procedentes del vertido sobre el ecosistema del estuario.

6º) Determinar la viabilidad del uso de los bioensayos de toxicidad en el sedimento, para evaluar el efecto del vertido de Aznalcóllar en el estuario del río Guadalquivir.

7º) Establecer el efecto tóxico asociado con las matrices ambientales y determinar por la evaluación del efecto a lo largo del tiempo, la posible recuperación de las zonas inicialmente afectadas. Esto se debe realizar con la adecuada planificación del seguimiento del vertido.

La medida de la calidad ambiental, es una cuestión extremadamente compleja, especialmente en aquellas zonas, como los sistemas de estuarios, en las que las condiciones del medio son muy variables y en los que se produce una distribución de las sustancias contaminantes entre diferentes compartimentos medioambientales.

2. METODOLOGÍA

Desde 1998 hasta el 2001 se han realizado diferentes tests de toxicidad utilizando sedimentos ambientales (estaciones GL2, GL6, BT2 y BT4), lodos tóxicos (finca Las Dueñas, diciembre de 1998) y sedimentos recogidos en zonas limpias (estación CN) de la Bahía de Cádiz (Coordenadas UTM $x = 745.470$, $y = 4.041.220$). Los organismos seleccionados para el desarrollo de los experimentos han sido: anfípodos (*Ampelisca brevicornis*), recogidos en las estaciones donde se obtuvo el sedimento control limpio de la Bahía de Cádiz (estación CN); coquina, *Scrobicularia plana*, suministradas comercialmente por la empresa AMALTHEA, S.A.; lenguado, *Solea senegalensis*, cultivados y mantenidos en nuestras instalaciones de la Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales. Los resultados de estos bioensayos se resumen a continuación, estando detalladamente explicados en diferentes publicaciones previas (Riba et al., 2003 a y b, en prensa a y b), así como otros resultados procedentes de la evaluación del efecto del vertido en diferentes organismos y comparado con zonas adyacentes como la Bahía de Cádiz y Huelva (Riba et al., en prensa c y d, aceptados a-d).

Durante la realización de los bioensayos se analizó la cantidad de metales pesados en los diferentes sedimentos sometidos a exposición, así como el efecto biológico. En la tabla 4.1 se muestran las concentraciones de metales pesados medidas en los controles positivos y negativos de toxicidad, así como en las estaciones ambientales. En esta tabla también se reflejan otros contaminantes tales como compuestos orgánico y datos de tamaño de grano y Carbono Orgánico.

2.1. Bioensayo de toxicidad con *Ampelisca brevicornis*

Los anfípodos son de los organismos propuestos que más ampliamente han sido utilizados para la evaluación de la toxicidad de sedimentos acuáticos. La elección de estos organismos se basa en su sensibilidad a los contaminantes que están atrapados en los sedimentos, su disponibilidad y su fácil mantenimiento y recolección. Además, poseen una tolerancia elevada a condiciones ambientales fluctuantes. Estos organismos son considerados como eslabones fundamentales en la cadena trófica y son fácilmente mantenidos bajo condiciones de laboratorio. Sus respuestas bajo condiciones de laboratorio han sido corroboradas en estudios de campo.

Este bioensayo se ha desarrollado utilizando diferentes estaciones ambientales (GL2, GI6, BT2 y BT4) (Tabla 1) seleccionadas en el estuario del río Guadalquivir con el objeto de cubrir principalmente la influencia de la contaminación provocada por el accidente y descrita en estudios previos (Riba et al., 2002 a, b, c). Para el desarrollo de este test de toxicidad se ha utilizado también diluciones de lodo tóxico procedente de la mina preparadas con sedimento limpio procedente de la Bahía de Cádiz (CN). Estas diluciones fueron: 0.3%, 1.8%, 7.9%, 20% y 32%.

Las muestras de sedimento se cogieron con una draga Van Veen 0.025 m² y posteriormente se almacenaron en unos depósitos de 30L de capacidad. Estos sedimentos se homogeneizaron con una cuchara de teflón hasta no detectarse diferencias texturales. Una parte de estos sedimento se secaron a 60°C y fueron molturados en un molino de bolas para cuantificarlos químicamente. Posteriormente las muestras de sedimento se mantuvieron en una cámara frigorífica a 4°C y en oscuridad hasta que se utilizaron para el test de toxicidad.

Hasta una cantidad aproximada de 1000 organismos fueron recolectados en cada uno de los muestreos previos a la realización de los ensayos de toxicidad. Los organismos eran recogidos en la estación CN de la Bahía de Cádiz en periodo de bajamar. El método de muestreo utilizado para estos organismos es el recogido

Tabla 1. Concentraciones de metales pesados expresados como mg Kg⁻¹ de sedimento, excepto para el Fe, expresado en porcentaje. También vienen determinados los datos de Carbono Orgánico (CO) en porcentaje, las concentraciones totales de PAHS y PCBs expresados como Aroclor 1242 y 1260 y el tamaño de grano (Porcentaje de finos). Todos estos datos vienen descritos para el CN (sedimento limpio de la Bahía de Cádiz), CP (lodo tóxico procedente de la mina) y estaciones ambientales. *n.d. significa que estos contaminantes no se han detectado en estas estaciones. ---significa no medible

	CN	CP	GL2	GL6	BT2	BT4
Zn	41.6	21618	81.9	138.0	273.0	158.0
Fe	0.46	41.6	0.6	2.1	3.2	2.9
Cd	0.07	45.7	0.1	0.3	1.3	0.8
Pb	72	7873	66.0	55.1	86.7	44.7
Cu	5.3	2000	15.9	30.6	53.3	44.7
Mn	163	381	185.5	400.3	812.4	510.1
C.O (%)	0.8	---	0.7	1.1	1.0	1.1
% arena fina	90	92	80	85	91	93
PAHs	0.30	*n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Aroclor 1242	0.45	n.d.	0.73	0.43	n.d.	0.92
Aroclor 1260	0.09	n.d.	0.24	0.22	n.d.	0.12

en las guías de calidad propuesta por la American Standard Material Testing (ASTM, 1991 a y b). Este bioensayo se ha aplicado previamente en el sistema litoral Andaluz (DelValls, 1998, 2002). Brevemente, se toma una cantidad determinada de sedimento y se tamiza a través de 60 μm para facilitar la selección de aquellos anfipodos correspondientes a la especie.

Una segunda selección se realizará en el laboratorio de forma mas detallada utilizando una lupa. Los organismos seleccionados se colocan en contenedores de vidrio que contenían agua de mar del mismo lugar de muestreo y que poseían aireación para evitar el estrés de los organismos durante el transporte hasta el laboratorio

Una vez en el laboratorio, los organismos recogidos son colocados en bandejas de color blanco de polietileno para facilitar la selección de los *Ampelisca brevicornis*. En aquellos casos de duda se examinan utilizando una lupa 60X. Tras eliminar los organismos que presentan alteraciones, los restantes son trasladados a diferentes contenedores de vidrio a los que se les ponen aireación mediante el uso de electro soplante y pipetas paster. Aproximadamente se someten a un periodo de aclimatación unos 60 individuos por cada estación o tratamiento a seguir. Esto permite reproducir condiciones parecidas a las del test de exposición. Previamente a la adición de los organismos, los contenedores de vidrio se llenan con agua de mar limpia y filtrada procedente de zonas de la Bahía de Cádiz.

El tiempo de aclimatación es de 1 a 2 semanas durante las cuales se mantienen a temperatura constante $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Durante este tiempo se hace un seguimiento a los contenedores con el fin de eliminar aquellos organismos que presentan alteraciones y para la retirada de los muertos. Durante el tiempo de aclimatación fueron alimentados con un medio nutritivo comercial..

Posteriormente al periodo de aclimatación se dispusieron 20 anfipodos por bote y se expusieron a los sedimentos durante un periodo de 10 días (ASTM., 1993). Se utilizaron botes de vidrio cilíndricos de aproximadamente 2 litros de capacidad y

en ellos se dispusieron 5 cm de sedimento (aproximadamente 200 ml) con 800 ml de agua de mar filtrada. Después de este periodo de exposición los sedimentos se tamizaron y se procedió a contar el número de organismos vivos en cada una de las estaciones a las que fueron expuestos.

El objetivo final de este bioensayo es ver la mortalidad asociada a las diluciones de lodo tóxico y estaciones ambientales desde 1999 hasta 2001, con el fin de ver una posible recuperación del ecosistema.

2.2. Bioensayo de toxicidad con *Scrobicularia plana*

Aproximadamente unas 400 coquinas procedentes de AMALTEA, S.A. se aclimataron a las condiciones de desarrollo del test y se alimentaron con fitoplancton en las instalaciones de la Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales.

Para el desarrollo de este bioensayo se mantuvo la relación sedimento: agua 1:4, siendo los contenedores utilizados acuarios de 15 litros de capacidad. El sedimento procedente de las estaciones ambientales fue previamente tamizado y homogeneizado como previamente se ha descrito para el bioensayo realizado con anfipodos. El agua de mar utilizada para este test de toxicidad fue el mismo agua de mar filtrada utilizada en el periodo de aclimatación.

Tras poner en contacto el sedimento con el agua, los acuarios se dejaron 24 horas en reposo para que el sedimento decantase. Se les suministró aireación transcurridas 12 horas. El bioensayo presenta dos focos de aireación para evitar el estrés adicional por falta de oxígeno.

Tras el período de aclimatación se seleccionaron grupos de 10 coquinas para cada estación o tratamiento seleccionado y se expusieron durante 96 horas.

El objetivo final era determinar la mortalidad y efectos histopatológicos tras 96 horas de exposición. Para determinar la histopatología se utilizaron los siguientes órganos: intestino y branquias. Los órganos se mezclaron y fijaron en una

solución tampón de fosfato al 10% de formaldehído durante 20 horas y fueron incluidos finalmente en parafina. Las secciones histológicas se determinaron mediante las técnicas de Hematoxilina-Eosina y Hematoxilina/VOF.

2.3. Bionsayo de toxicidad con *Solea senegalensis*

Para el bioensayo de toxicidad aguda con peces bentónicos se utilizaron juveniles de la especie *Solea senegalensis* (lenguados) de entre 2,5-3,0 g. Los individuos se cultivaron en nuestro laboratorio ya que esta especie es cultivada en ciclo completo en nuestras instalaciones. El tiempo de aclimatación, por tanto, fue mínimo y sólo a las condiciones del bioensayo durante aproximadamente 2 semanas.

Este bioensayo se realiza utilizando un rango de concentraciones de lodo tóxico comprendido entre 0.3%-32% y las estaciones ambientales mencionadas. Al igual que en los bioensayos anteriores descritos, el proceso de mezcla tóxico-control se lleva a cabo mediante la utilización de una cuchara de polietileno y con una relación v/v de agua-sedimento 1:4. Se utilizaron 5 individuos en cada acuario y se expusieron un mes bajo condiciones de temperatura y pH controladas.

El día de inicio del bioensayo los lenguados fueron recogidos de las cámaras de cultivo e introducidos con sumo cuidado en los acuarios. Una vez finalizadas las 96 horas que dura el bioensayo se procedió al recuento de la mortalidad en todos los acuarios.

El objetivo final era determinar la mortalidad y efectos histopatológicos tras 30 días de exposición. Para determinar la histopatología se utilizaron los siguientes órganos: hígado, riñón, intestino y branquias. Los órganos se mezclaron y fijaron en una solución tampón de fosfato al 10% de formaldehído durante 20 horas y fueron incluidos finalmente en parafina. Las secciones histológicas se determinaron mediante las técnicas de Hematoxilina-Eosina y Hematoxilina/VOF.

Tabla 2. Resultado de los tests de toxicidad asociados con el porcentaje de lodo tóxico y las muestras de sedimento ambientales recogidos en el estuario del río Guadalquivir (GL) y en el Brazo de la Torre (BT), durante 1999.

Tratamiento	Supervivencia de anfipodos
Control(11/01)	95±0,1%
0,3%	82,5±13,35%
1,8%	7,5±2,5%
GL2	82,5±3,3%
GL6	72,5±10,0%
BT2	40,0±0,1%
BT4	77,5±2,5%

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Bionsayo de toxicidad con *Ampelisca brevicornis*

Los resultados de supervivencia de anfipodos registrados en 1999 se muestran a modo de ejemplo en la tabla 2. En esta tabla, se incluyen también los datos de supervivencia de anfipodos registrados en las estaciones ambientales GL2, GL6, BT2 y BT4 durante el bioensayo realizado en 1999.

En la figura 2 se muestran los resultados de supervivencia de *Ampelisca brevicornis* obtenidos durante los tres años de seguimiento del impacto del vertido de Aznalcóllar. En esta figura sólo viene ilustrada la supervivencia registrada en las diluciones de lodo tóxico comprendidas entre 0.3% y 1.8%, debido a que en las otras diluciones de lodo (7.9%, 20% y 32%) la mortalidad registrada era del 100%. La supervivencia registrada en la dilución de lodo tóxico 1.8% esta comprendida entre 5-15% durante los tres años de seguimiento del impacto y por tanto podría clasificarse esta dilución como tóxica.

La supervivencia de anfípodos registrada en las estaciones ambientales (GL2, GL6, BT2 y BT4) varía según la estación a la que fueron expuestos. Puede observarse en el primer año de exposición (1999-2000) que en la estación BT2, existe una respuesta tóxica por parte de estos organismos. Esta respuesta tóxica (mortalidad de anfípodo) disminuye en un 10-15% durante el año 2001. En el resto de las estaciones ambientales no se observa un efecto tóxico asociado al anfípodo *Ampelisca brevicornis*. En general, estos resultados indican una recuperación del área afectada con el tiempo.

3.2. Bioensayo de toxicidad con *Scrobicularia plana*

Los resultados obtenidos de la mortalidad de las coquinas con el tiempo quedan descritos en la figura 3.

Como se puede apreciar, no se ha observado mortalidad en el control, así como tampoco en las estaciones BT2, BT6 y BT4. Tras 4 días de exposición, en los sedimentos de la estación BT2 se produce una mortalidad de coquinas menor del 20%. También se puede observar que con un porcentaje de lodo del 20% y del 32% se produce una mortalidad de las coquinas en las primeras 48 horas. En ambos casos, la mortalidad medida a llegado al 100%. Para un porcentaje de lodo del 7.8% se observa una toxicidad moderada para las coquinas.

Las concentraciones de metales pesados medidas en las diluciones de lodo tóxico se comparan con las calculadas teóricamente a partir de las concentraciones medidas en el control positivo y negativo de toxicidad (tabla 3). De esta forma se han podido calcular el porcentaje de error relativo, definido como:

$$\varepsilon = \frac{C_i - C_{th}}{C_{th}} \cdot 100$$

Donde C_i es la concentración de metales pesados medida en cada una de las diluciones de lodo tóxico y C_{th} es la concentración teórica de cada metal calculada a partir de la concentración de metales pesados medida en el control positivo y negativo de toxicidad descrita en la tabla 1. Como se puede observar los mayores porcentajes de error se asocian con las diluciones más bajas de lodo tóxico y concretamente con el Cd.

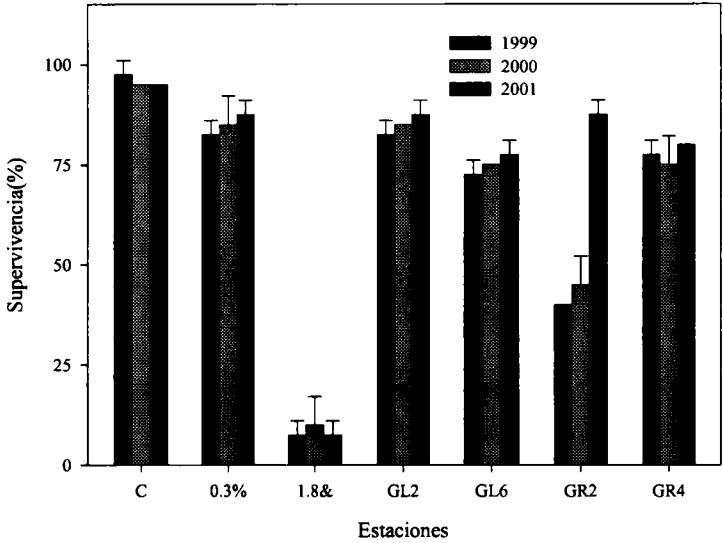


Figura 2. Histograma de la supervivencia de anfipodos (expresada en porcentaje), tras 10 días de exposición en las diluciones de lodo tóxico y estaciones ambientales en los años 1999, 2000 y 2001.

Para este bioensayo de toxicidad se han calculado los valores de TL50 definido como el tiempo necesario para que el 50% de la población se muera. Los resultados de los valores de TL50 se muestran en la tabla 4.4. Los valores obtenidos de TL50 para todas las estaciones ambientales y las diluciones de lodo tóxico de 0.3% y 1.8% son muy altos por lo que se pueden considerar no tóxicas para estos organismos. El valor más bajo de TL50 se ha obtenido para la dilución de lodo tóxica más alta.

En este bioensayo de toxicidad también se determinaron los daños subletales asociados a las branquias y el intestino de esta coquina. En la figura 4 se muestra a modo de ejemplo lesiones producidas por el lodo tóxico de Doñana en las branquias de las coquinas.

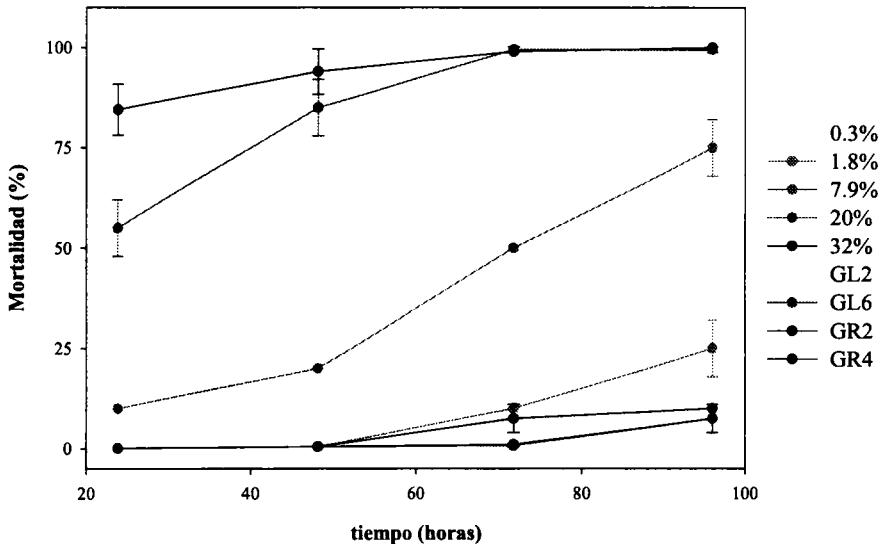


Figura 3. Mortalidad (expresada en porcentaje) de las coquinas con el tiempo (expresado en horas) para el lodo tóxico diluido (0.3, 1.8, 7.9, 20, 32%) y las estaciones ambientales del Guadalquivir GL2, GL6 Y del Brazo de la Torre BT2 y BT4.

En la tabla 5 quedan reflejadas las lesiones producidas en las branquias y en el intestino de las coquinas expuestas a las estaciones ambientales y diluciones de lodo tóxico. Como se puede observar, al aumentar la dilución de lodo tóxico aumenta la lesión y en la estación BT2 aparecen mayores lesiones que en el resto de las estaciones ambientales.

3.3. Bioensayo de toxicidad con *Solea senegalensis*

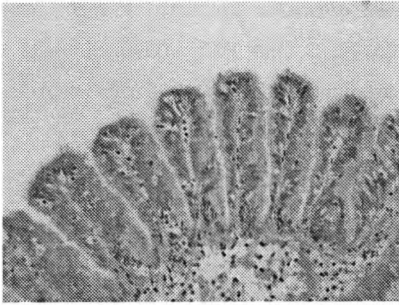
Después de haber expuesto a los lenguados un mes a las diluciones de lodo tóxico y a las estaciones ambientales mencionadas con anterioridad, no se pudo observar mortalidad durante la realización de los bioensayos. En cambio, se pudieron observar los efectos subletales producidos tras esta exposición.

Tabla 3. Concentraciones teóricas y reales de metales pesados (Zn, Fe, Cd, Pb, Cu and Mn expresados como mg Kg⁻¹, excepto para el Fe en porcentaje –peso seco-) para cada dilución de lodo tóxico. El error relativo ($C_r - C_{th} / C_{th}$) se calcula y se expresa en porcentaje.

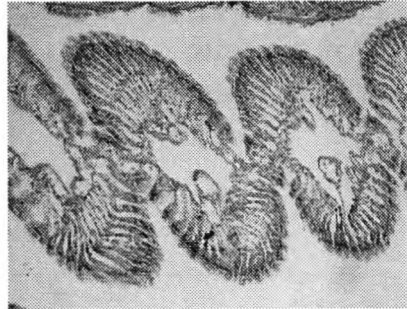
	0.3%	1.8%	7.9%	20%	32%
[Zn] Real	99.65	450.23	1699.98	4188.65	7024.32
Teórica	106.36	430.02	1746.22	4335.47	6946
% error	6.31	4.70	2.65	3.39	1.13
[Fe] Real	0.56	1.22	3.92	8.01	12.65
Teórica	0.58	1.20	3.71	8.65	13.6
% error	3.44	1.67	5.66	7.40	6.99
[Cd] Real	0.18	1.11	2.45	9.61	15.37
Teórica	0.2	0.9	3.6	9.20	14.7
% error	10	23.33	31.94	4.46	4.56
[Pb] Real	87.33	223.25	649.57	1562	2235.21
Teórica	95.30	212.32	688.18	1632.20	2568.30
% error	8.36	5.15	5.61	4.30	12.97
[Cu] Real	13.99	39.96	190.66	368.12	600.23
Teórica	15.53	45.88	169.32	412.14	656.99
% error	9.92	12.92	12.58	10.70	6.74
[Mn] Real	155.21	158.9	166.33	220.01	200.21
Teórica	163.38	166.65	179.98	206.21	232.8
% error	5	4.65	7.58	6.69	14

Tabla 4. Valores de TL50 (tiempo necesario para que el 50% de la población se muera) obtenidos para la población de coquinas expuestas a las diferentes diluciones de lodo tóxico (0.3%, 1.8% 7.9%, 20% y 32%) y estaciones ambientales (GL2, GL6, BT2 y BT4). Los valores de TL50 están expresados en horas y se han calculado por duplicado (A, B) para cada una de las estaciones.

	TL50	TL50 medio
0.3% A	139.409	> 96 (136.95)
0.3% B	134.495	
1.8% A	115.024	> 96 (112.22)
1.8% B	139.409	
7.9% A	66.904	69.43 ± 3.58
7.9% B	71.961	
20% A	25.229	23.20 ± 2.87
20% B	21.174	
32% A	13.96	10.04 ± 5.54
32% B	6.12	
GL2 A	7018	> 96 (6009)
GL2B	5000	
GL6A	155.06	> 96 (139.47)
GL6 B	123.89	
BT2 A	121.1	> 96 (118.8)
BT2 B	116.5	
BT4 A	134.49	> 96 (194.78)
BT4 B	255.06	



1.8%.



7.9%.



20%.



32%.

Figura 4. Alteraciones obtenidas en branquias de coquinas expuestas a las diluciones de lodo tóxico (1.8, 7.9, 20 y 32%)

Estos efectos subletales fueron evaluados mediante la determinación del daño histológico. Se observan alteraciones tales como hiperplasia, hipertrofia y necrosis de branquias. En las siguientes figuras se muestra un ejemplo de lesiones producidas en el hígado (Fig 5). La sección de la izquierda representa un hígado de lenguado perteneciente a la estación control del bioensayo.

Tabla 5. Lesiones encontradas en *Scrobicularia plana* tras estar expuesta a las diluciones de lodo tóxico y a las estaciones ambientales. La frecuencia de las lesiones de los tejidos se expresan como: (0) nunca, (0.5) poco frecuente, (1+) frecuente, (2+) muy frecuente, (3+) siempre presente.

Órgano	Tipo de alteración	Cont.	0.3%	1.8&	7.9%	GL2	GL6	BT2	BT4
Branquia	Infiltración hemocitarias	0	1+	2+	3+	0.5	0.5	1+	1+
	Fusion de laminillas	0.5	1+	3+	3+	0.5	1+	2+	1+
	Descamacion celular	0	0.5	1+	2+	0	0.5	1+	0.5
	Hipertrofia e Hiperplasia	0	1+	1+	3+	0.5	0.5	1+	0.5
	Necrosis	0	0.5	1+	2+	0	0.5	0.5	0.5
Intestino	Incremento del contenido lipidico en enterocitos	0	0.5	2+	3+	0	0	2+	0.5
	Hyperplasia	0	0.5	2+	2+	0	0.5	1+	1+

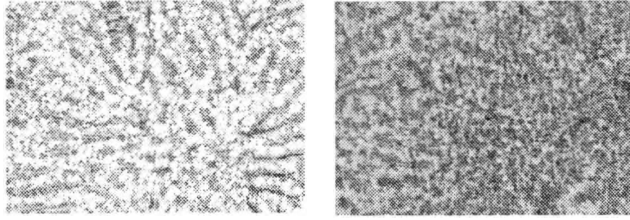


Figura 5. Ejemplo de secciones histológicas, referentes a cortes de hígado (izquierda no afectado, derecha afectado) de juveniles de lenguados expuestos a lodos tóxicos procedentes del vertido minero y a sedimento control negativo de toxicidad.

La sección de la derecha es un hígado de lenguado expuesto a un 20% de lodo tóxico. En la figura 6 se presentan lesiones de diferentes órganos (branquias, riñón e intestino) de lenguados expuestos a 7.8 y 20% de dilución de lodo tóxico.



Figura 6 Secciones histológicas que representan daños medidos en diferentes órganos de individuos juveniles de lenguado, expuestos a diferentes porcentajes de lodo tóxico.

Se ha observado que las lesiones medidas aumentan con el tiempo de exposición. En la tabla 6 se representa una descripción de los resultados obtenidos para las diluciones de lodo tóxico. En la tabla 7 se resumen las lesiones obtenidas en *Solea senegalensis* tras su exposición en las estaciones ambientales.

(tiempo que tarde en morir el 50% de la población) se comparan utilizando el test estadístico de ANOVA y el test de Scheffe's F , con el fin de identificar las diferencias que existen entre las estaciones ambientales afectadas y las diluciones de lodo tóxico preparadas ($p < 0.05$). Los resultados obtenidos de estos test se muestran en la figura 7. En este análisis se muestra que en 1999 las estaciones ambientales se ven menos extresadas que las diluciones de lodo tóxico, excepto para la estación BT2 que resulta tóxica para los anfípodos.

Tabla 6. Evaluación semicuantitativa del daño histológico medido en *Solea senegalensis* expuesta a las diluciones de lodo tóxico, adaptado de González de Canales et al., 1996. La frecuencia de las lesiones en los tejidos se expresan como: (0) nunca, (0.5) poco frecuente, (1+) frecuente, (2+) muy frecuente, (3+) siempre

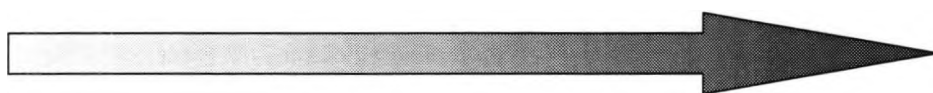
Organo	Tipo alteración	Tiempo exposición (días)					
			Control	0.3%	1.8%	7.9%	20%
Hígado	Vacuolas lipídicas	15 días	0	2+	2+	2+	3+
		30 días	0	1+	2+	3+	3+
	Anisocitosis Hepatocelular	15 días	0	2+	2+	2+	3+
		30 días	0	1+	2+	3+	3+
	Hiperemia en capilares	15 días	0	0.5	1+	1+	1+
		30 días	0.5	0.5	1+	1+	2+
	Alteración celular	15 días	0	0	0	0	2+
		30 días	0.5	0	2+	1+	1+
	Necrosis	15 días	0	0	0.5	0.5	2+
		30 días	0.5	0	0.5	1+	3+
Branquia	Inflamación en laminillas	15 días	0	0	0.5	1+	1+
		30 días	0	0	1+	1+	2+
	Acortamiento en la lamela segunda	15 días	0	0.5	1+	1+	2+
		30 días	0	1+	1+	2+	3+
	Pérdida de epitelio	15 días	0	0	0	0	0.5
		30 días	0	0	0	0	1+
	Hiperplasia	15 días	0	0.5	1+	1+	1+
		30 días	0.5	1+	1+	2+	3+
	Deformación en la segunda lamela	15 días	0	1+	1+	1+	2+
		30 días	0	1+	2+	3+	3+
Congestión vascular	15 días	0	0	1+	1+	1+	
	30 días	0	0	1+	2+	1+	
Intestino	Incremento del contenido lipídico en enterocitos	15 días	0.5	1+	2+	3+	3+
		30 días	0	0.5	1+	2+	1+
	Hiperplasia	15 días	0	0.5	1+	1+	2+
		30 días	0.5	1+	1+	0.5	3+
Riñón	Necrosis en el epitelio tubular	15 días	0	0.5	1+	1+	1+
		30 días	0.5	0.5	1+	2+	1+
	Pérdida del tejido hematopoyético	15 días	0.5	0.5	1+	1+	2+
		30 días	1+	0.5	1+	2+	3+

Tabla 7. Evaluación semicuantitativa del daño histológico medido en *Solea senegalensis* expuesta a las estaciones ambientales seleccionadas en el estuario del río Guadalquivir. La frecuencia de las lesiones en los tejidos se expresan como: (0) nunca, (0.5) poco frecuente, (1+) frecuente, (2+) muy frecuente, (3+) siempre

Finalmente, el porcentaje de mortalidad de anfipodos y el parámetro TL50

Organo	Tipo alteración	Tiempo exposición	Control	GL2	GL6	BT2	BT4
Hígado	Vacuolas lipídicas	15 días	1+	1+	1+	2+	1+
		30 días	0.5	0.5	1+	2+	1+
	Anisocitosis Hepato celular	15 días	1+	1+	1+	2+	1+
		30 días	0.5	0.5	0.5	2+	1+
	Hiperemia en capilares	15 días	0	0	0	0.5	0.5
		30 días	0.5	0.5	0	1+	0.5
	Alteración celular	15 días	0	0	0	0	0
		30 días	0	0	0.5	1+	0.5
	Necrosis	15 días	0	0	0	0.5	0.5
		30 días	0.5	0.5	0.5	0	0.5
Branquia	Inflamación en laminillas	15 días	0	0	0	0.5	0
		30 días	0	0	0	1+	0.5
	Acortamiento en la lamela secundaria	15 días	0	0	0	0.5	0.5
		30 días	0	0	0	1+	0.5
	Pérdida del epitelio	15 días	0	0	0.5	0	0
		30 días	0	0	0	0	0
	Hiperplasia	15 días	0.5	0.5	0.5	0	0.5
		30 días	1+	1+	1+	1+	1+
	Deformación en la lamela secundaria	15 días	0.5	0.5	0.5	1+	1+
		30 días	0.5	0.5	0.5	1+	0.5
Congestión vascular	15 días	0	0	0	0.5	0	
	30 días	0	0	0.5	0.5	0	
Intestino	Incremento del contenido lipídico en enterocitos	15 días	0.5	0.5	0.5	1+	1+
		30 días	0	0	0	0.5	0.5
	Hiperplasia	15 días	0	0	0	0.5	0.5
		30 días	0.5	0.5	0.5	1+	0.5
Riñón	Necrosis en el epitelio tubular	15 días	0	0	0	0.5	0.5
		30 días	0.5	0.5	0	0.5	0.5
	Pérdida del tejido hematopoyético	15 días	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
		30 días	1+	1+	0.5	0.5	0.5

INCREMENTO DE LA TOXICIDAD



Mortalidad (%)	C	GL2	0.3%	BT4	GL6	BT2	1.8%	7.9%	20%	32%
	2.5	17.5	17.5	22.5	27.5	60	92.5	100	100	100

TL50 (h)	C	GL2	BT2	BT4	GL6	0.3%	1.8%	7.9%	20%	32%
	>96	>96	>96	>96	>96	>96	>96	69.43	23.20	10.04

Figura 7. Ordenación de las estaciones ambientales y diluciones de lodo tóxico según su incremento de toxicidad. Las estaciones están ordenadas según los datos de mortalidad de anfipodos registrados en 1999 y los datos del parámetro TL50 (tiempo que tarde en morir el 50% de la población) obtenido en el bioensayo de la coquina

3. CONCLUSIONES

- 1) Los bioensayos de toxicidad sobre los organismos elegidos (pez: *Solea senegalensis*, moluscos, *Scrobicularia plana*, y anfipodos: *Ampelisca brevicornis*) se han mostrado sensibles a la contaminación presente en los lodos procedentes del vertido, aumentando la frecuencia y extensión de los daños biológicos a medida que aumenta la cantidad de lodo tóxico añadido. En este sentido, las respuestas tóxicas determinadas en las muestras recogidas en campo por los anfipodos (mortalidad) y subletales (peces) mostraron sensibilidad suficiente para la contaminación moderada encontrada en algunas zonas.
- 2) El bioensayo de supervivencia a 10 días utilizando individuos de anfipodos se mostró como el test de toxicidad más viable, tanto por la respuesta como por el coste de su desarrollo, para determinar la toxicidad asociada con muestras de sedimento ambientales. El test crónico de toxicidad utilizando daños histológicos en peces, se mostró

suficientemente sensible a esta toxicidad, pero su elevado coste, comparado con el de anfipodos, determinó la selección de éstos para el seguimiento del impacto del vertido en los sedimentos del estuario del río Guadalquivir. El bioensayo de mortalidad de coquinas no se mostró suficientemente sensible para determinar la toxicidad asociada con las muestras ambientales.

- 3) La estación BT2 localizada en el Brazo de la Torre mostraba toxicidad en sus sedimentos a los anfipodos durante los primeros meses del vertido. Esta toxicidad se mantuvo hasta el año 2000, decreciendo hasta valores que determinan ausencia de toxicidad durante los muestreos realizados durante el año 2001. En este sentido, es probable que la hidrodinámica y las condiciones fluctuantes del ambiente, finalmente, hayan limpiado la contaminación previa existente y, lo más importante, la toxicidad inicial medida.

Durante el seguimiento del vertido de Aznalcóllar se identificó el efecto biológico tanto bajo condiciones de laboratorio como asociado con muestra de algunas estaciones localizadas en el Brazo de la Torre (BT2). Los estudios de exposición de organismos a diferentes matrices ambientales, acuosa y sedimento, ofrecen resultados similares y asociados fundamentalmente con las concentraciones ambientales medidas para el metal Cd, y en menor medida para el Zn. Sólo los sedimentos de la estación ambiental BT2 localizada en el Brazo de la Torre mostró toxicidad durante los primeros años del vertido, hecho que puede estar relacionado con las concentraciones de metales en esta zona y con los valores fluctuantes y menores de salinidad de esta zona. En cualquier caso, y tras los resultados obtenidos durante los últimos muestreos realizados en la zona, se demuestra que el ecosistema ha podido entrar en una fase de recuperación y ausencia de toxicidad, en cuanto a la toxicidad inicial medida tras el vertido.

Los estudios de toxicidad de agua y sedimento, así como aquellas de determinación de la biodisponibilidad de los contaminantes, en el caso del vertido de Aznalcóllar, metales pesados, deben ser realizados como una herramienta complementaria al seguimiento de la contaminación y sus efectos

bajo condiciones de campo para corroborar los efectos medidos y discriminarlos de la casuística natural.

En resumen y de los resultados obtenidos en este capítulo, comparados con efectos producidos por el accidente con la calidad ambiental en la Bahía de Cádiz y en Huelva, se puede decir que el Guadalquivir se recuperó del impacto minero inicial, aunque quede por discriminar su completa recuperación, o la existencia de secuelas asociadas con la bioacumulación de Cd y el efecto a nivel histopatológico en organismos recogidos en el estuario.

4. BIBLIOGRAFÍA

American Society for Testing and Materials (1991a) Standard guide for conducting 10 days static sediment toxicity test with marine and estuarine amphipods. In 1991 Annual Book of ASTM Standards E 1367-90. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, pp310-390

American Society for Testing and Materials (1991b) Standard Guide for Collection, Storage, Characterization and Manipulation of Sediments for Toxicological Testing. Publ.E 1391-90. Philadelphia, USA

American Society for Testing and Materials (1993) Standard guide for conducting 10-day static sediment toxicity tests with marine and estuarine amphipods. 1367-92. Publ. E. Philadelphia, 26pp

DelValls, TA, Forja JM, Gómez-Parra A (1998) Integrative assessment of sediment quality in two littoral ecosystems from the Gulf of Cádiz, Spain. *Environ Toxicol Chem*17:1073-1084

DelValls TA, Forja JM, Gómez-Parra A (2002) Seasonality of contamination, toxicity, and quality values in sediments from littoral ecosystems in the Gulf of Cádiz (SW Spain). *Chemosphere* 7:1033-1043

- González de Canales ML, Ortiz JB, Arellana JM, Sarasquete MC (1996) *Fundulus heteroclitus* como indicador de la contaminación marina. 1ª reunión Nacional de inmunología e histopatología de peces p 18-21
- Riba I, Forja JM, DelValls TA, Gómez-Parra A (2002a) Evaluating the heavy metal contamination in sediments from the Guadalquivir estuary after the Aznalcóllar mining spill (SW Spain): A multivariate Analysis Approach. *Environ Monit Assess* 77:191-207
- Riba I, DelValls TA, Forja JM, Gómez-Parra A (2002b) Monitoring the impact of the Aznalcóllar Mining Spill on recent sediments from the Guadalquivir estuary, Southwest Spain. *Bull Environ Contam Toxicol* 69:129-138
- Riba I, DelValls A, Forja JM, Gómez-Parra A (2002c) Influence of the Aznalcóllar mining spill on the vertical distribution of heavy metals in sediments from the Guadalquivir estuary (SW Spain). *Mar Pollut Bull* 44:39-47
- Riba I, Zitko, V, Forja JM, Gómez-Parra A (2003a) Deriving sediment quality guidelines in the Guadalquivir estuary associated with the Aznalcóllar mining spill. *Cienc Mar* 29(3):261-274
- Riba I, DelValls TA, Forja JM, Gómez-Parra A (2003b) Comparative toxicity of contaminated sediment from a mining spill using two amphipods species: *Corophium volutator* and *Ampelisca brevicornis*. *Bull Environm Toxicol Chem* 71(5):1061-1068
- Riba I, Conradi M, Forja JM, DelValls TA (2003) Sediment quality in the Guadalquivir estuary: lethal effects associated with the Aznalcóllar mining spill. *Mar Pollut Bull* (en prensa a)
- Riba I, González de Canales, M, Forja JM, DelValls TA (2003) Sediment quality in the Guadalquivir estuary: sublethal effects associated with the Aznalcóllar mining spill. *Mar Pollut Bull* (en prensa b)

- Riba I, Casado-Martínez MC, DelValls TA, Forja JM, Gómez-Parra A (2003) Sediment quality in the Atlantic coast of Spain. *Environm Toxicol Chem* (en prensa c)
- Riba I, DelValls A, Forja JM, Gómez-Parra A (2003) The influence of pH and salinity on the toxicity of heavy metals in sediments to estuarine clam . *Environm Toxicol Chem* (en prensad)
- Riba I, García-Luque E, Blasco J, DelValls TA (2003) Chemical speciation and bioavailability of heavy metals as a function of pH and salinity values bound to estuarine sediments. *Chem Speciat Bioavailab* (Aceptado a)
- Riba I, Casado-Martínez MC, Blasco J, DelValls TA (2003) Bioavailability of heavy metals bound to sediments affected by a mining spill using *Solea senegalensis*. *Mar Environm Res* (Aceptado b)
- Riba I, Blasco J, Jiménez-Tenorio N, DelValls TA (2003) Heavy metal bioavailability and effects: I. Bioaccumulation caused by mining activities in the Gulf of Cádiz (SW, Spain). *Chemosphere* (Aceptado c)
- Riba I, Blasco J, Jiménez-Tenorio N, González de Canales ML, DelValls TA (2003) Heavy metal bioavailability and effects: II. Histopathology-Bioaccumulation relationships caused by mining activities in the Gulf of Cádiz (SW, Spain). *Chemosphere* (Aceptado d)

Evaluación integrada de los efectos adversos producidos por la contaminación procedente del vertido de Aznalcóllar ligados a la fase acuosa

Martín-Díaz, M.L., Riba, I., Sales, D. y DelValls, T.A.

Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Campus Río San Pedro s/n, 11510

Puerto Real, Cádiz, Spain

1. INTRODUCCIÓN

Muchas de las especies presentes en el sistema fueron amenazadas tras el accidente minero y algunas de ellas encuentran en Doñana su más destacado reducto europeo. En lo que respecta al estuario del Guadalquivir, la polémica se ha centrado en los niveles de los metales pesados en peces, crustáceos y moluscos capturados en los calderos próximos a la desembocadura y, en función de ellos, en la conveniencia de su comercialización. Se han llevado a cabo estudios de monitorización con el objetivo de evaluar la incidencia del accidente de Aznalcóllar en la fauna del río Guadalquivir, y zonas adyacentes. Por otro lado, las concentraciones de metales pesados, Cd, Zn y Cu, analizadas en los organismos presentes del estuario del río Guadalquivir eran mayores que aquellas analizadas en la Bahía de Cádiz o en el Mar Mediterráneo (áreas no contaminadas), demostrando que el estuario había sido sometido a un vertido por metales pesados (DelValls et al., 1999). Un mes después del accidente, las concentraciones Zn en *C.angulata* y en *Palaemon longirostris* eran mayores si se comparaban con las recogidas el 25 de abril. Sin embargo, algunos organismos, no mostraron ninguna tendencia clara durante el período de muestreo para ciertos contaminantes, probablemente debido a las fluctuaciones medio ambientales de salinidad, temperatura, etc. y las variables fisiológicas que afectan a la bioacumulación (DelValls et al., 1999).

El grado de afectación de estos sistemas es complejo de evaluar, sobre todo si se considera que se desconoce en gran medida la hidrodinámica de esta zona, sólo se dispone de valores puntuales de concentraciones de metales en determinadas

estaciones de seguimiento, y además, que los efectos de estos contaminantes sobre comunidades biológicas no son inmediatos.

A lo largo del presente trabajo se evalúa el efecto de los vertidos iniciales, no depurados, y el resto, ya depurados, sobre el ecosistema del estuario del río Guadalquivir y en la zona de ambiente marino próxima al embalse del agua tóxica retenida en Entremuros. Para ello, y basado en estudios previos (Gómez-Parra et al., 2000) del impacto inicial del vertido en el estuario del Guadalquivir, se han diseñado simulaciones en el laboratorio de las concentraciones de aquellos contaminantes más representativos procedentes del vertido minero (Zn, Cd y Cu). Estas concentraciones de estos metales han sido expuestas a ejemplares del cangrejo y almeja de estuario *Carcinus maenas*, y la almeja *Ruditapes philippinarum* y del cangrejo rojo de río *Procambarus clarkii*, para establecer los efectos adversos asociados con ellas.

En base a esto se proyectó el presente estudio, para contribuir al seguimiento del impacto ambiental que se ha producido en los ecosistemas del río Guadiamar y del estuario del río Guadalquivir, valorando la calidad ambiental de los medios acuáticos y a través de la consecución de los siguientes objetivos concretos:

1º) Desarrollar una nueva metodología más sutil para la determinación del efecto tóxico asociado con las concentraciones ambientales de los metales pesados simulados en el laboratorio. Esta metodología conlleva el diseño y determinación de un biomarcador de modificación en la reproducción de *C. maenas* (concentración de vitelogenina/vitelina en hemolinfa) y de *P.clarkii* (índice gonadosomático y hepatosomético).

2º) Determinar el grado de exposición a los metales pesados Zn Cd y Cu en sus concentraciones ambientales disueltos, mediante la determinación de la modificación de un biomarcador de exposición específico de estos metales como son las metalotioneínas.

3º) Establecer la posible sinergia y antagonismos entre los mencionados metales, mediante simulaciones de mezclas de contaminantes en las concentraciones ambientales.

4º) Establecer la relación entre las concentraciones ambientales y los efectos medidos en los experimentos de simulación de laboratorio para determinar el impacto de las concentraciones de los metales pesados procedentes del vertido sobre el ecosistema del estuario.

La aproximación propuesta en este capítulo a través de la simulación en el laboratorio de las concentraciones de metales pesados y su exposición a dos organismos estuáricos *Carcinus maenas* y *Ruditapes philippinarum*, y al organismo de río *Procambarus clarkii* va a complementar los trabajos previos realizados para determinar el efecto del vertido de Aznalcóllar en la calidad ambiental del estuario del río Guadalquivir. En este capítulo se describen brevemente las diferentes respuestas obtenidas del estudio del impacto del vertido en estas especies tras su simulación en el laboratorio. Descripciones más en profundidad se resumen detalladamente en diferentes publicaciones (Martín-Díaz et al., enviadas a, b y c, en prensa)

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Bioensayo de toxicidad con *Ruditapes philippinarum*

El bivalvo *Ruditapes philippinarum*, vive extendido en lugares de poca profundidad como bahías, estuarios y bocas de ríos. Ocupa áreas que se encuentran bajo el agua, y también en aquellas que están expuestas a mareas. Es una especie abundante en los litorales mediterráneo y atlántico, y constituye una especie comestible altamente valorada comercialmente.

Además, es considerada una de las especies de bivalvos más extendida e intensamente estudiadas en el mundo, fácilmente capturable e identificable, lo que le convierte en un organismo muy apropiado para el estudio en el medio.

2.1.1. Recolección y mantenimiento de *Ruditapes philippinarum*

Se eligió la almeja *Ruditapes philippinarum*, como especie bioindicadora, debido a las condiciones que reúne y por ser una especie representativa de la comunidad biológica perteneciente al área altamente dañada tras el accidente de Aznalcóllar, el estuario del Guadalquivir, objeto de evaluación del impacto ecotoxicológico producido por la contaminación por metales pesados.

Se recolectaron las almejas de esteros, en los cuales se reunía las condiciones de sanidad e higiene requeridas y de acuerdo con la normativa pertinente. El tamaño de almeja seleccionada fue de una anchura de concha entre 32 y 40 mm. Éstas, una vez recolectadas se dividieron en diferentes tratamientos de aclimatación, salinidad 10 y salinidad 35 con un período de duración de una semana. El agua utilizada fue agua de mar de salinidad 35, y la salinidad de 10 se obtuvo a partir de la mezcla de agua Milli Ro y agua de mar.

Las almejas se mantuvieron a una temperatura de $15\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante todo el período del experimento. El fotoperíodo fue de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

*2.1.2. Exposición de *Ruditapes philippinarum* a diferentes concentraciones de Cadmio, Cobre y Zinc*

Los metales con concentraciones más significativas disueltas en agua tras el accidente minero de Aznalcóllar, Cadmio, Cobre y Zinc se seleccionaron como representativos de la zona afectada y se utilizaron en el bioensayo de toxicidad, así como las concentraciones medias de los mismos obtenidas en las determinaciones en agua de las estaciones de muestreo cercanas al estuario del Guadalquivir (Gómez-Parra et al., 2000). Las concentraciones obtenidas que se utilizaron en el bioensayo, son las que a continuación se detallan:

Tanque 1: Control Salinidad: 35

Tanque 2: Salinidad 35/700 μgL^{-1} Zinc

Tanque 3: Salinidad 35/340 μgL^{-1} Cobre

Tanque 4: Salinidad 35/7.5 μgL^{-1} Cadmio

Tanque 5: Control Salinidad 10

Tanque 6: Salinidad 10/700 μgL^{-1} Zinc

Tanque 7: Salinidad 10/340 μgL^{-1} Cobre

Tanque 8: Salinidad 10/7.5 μgL^{-1} Cadmio

Veintiocho almejas se distribuyeron en cada acuario de exposición de 20 L de capacidad, siendo el período de duración del bioensayo de 21 días.

Durante este período de exposición la temperatura a la que se reprodujo el bioensayo fue de $15\pm 2^{\circ}\text{C}$, y el fotoperíodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

Durante este período de tiempo el agua de los acuarios se cambió con una periodicidad de tres días, con el fin de mantener las concentraciones de metales en agua de cada acuario de exposición constantes. Los organismos se alimentaron cada tres días.

Los días 0, 7, 14 y 21, seis almejas de cada acuario se diseccionaron tomándose muestras de branquias y hepatopaneas para la determinación de la bioacumulación de metales, de hepatopáncreas y aparato reproductor, con el fin de analizar el contenido de metalotioneínas, así como muestras de branquias y hepatopáncreas para un análisis histológico.

Con el fin de conocer con precisión las concentraciones reales de los metales en agua, debido a la posibilidad de pérdida por adsorción a concha o paredes de acuario, se tomaron muestras de agua de cada acuario días elegidos al azar, y las concentraciones de los metales Cd, Cu y Zn fueron determinados.

2.2. Bioensayo de toxicidad con *Procambarus clarkii*

El cangrejo rojo *Procambarus clarkii*, ha sido intensamente estudiado como especie bioindicadora de efectos de contaminantes y por su importancia económica, ya que constituye una especie altamente comercializada. Es relativamente grande común y fácilmente capturable e identificable, sexado y medido, lo que le convierte en un organismo muy apropiado para el estudio en el medio.

El cangrejo rojo *Procambarus clarkii*, fue introducido artificialmente en las marismas del bajo río Guadalquivir en 1974. Desde entonces, esta especie se ha extendido rápidamente a lo largo del río Guadalquivir llegando a las marismas de agua dulce del Parque Nacional de Doñana. Estas características le convierten en una especie bioindicadora clave para el análisis de los efectos tóxicos por metales pesados en el río Guadiamar tras el accidente de Aznalcóllar.

*2.2.1. Recolección y mantenimiento de *Procambarus clarkii**

Hembras *Procambarus clarkii* se recolectaron en una empresa de acuicultura, en las que se reunían las condiciones de sanidad e higiene requeridas y de acuerdo con la normativa pertinente. Únicamente se seleccionarán hembras en el estado de reproducción C3, C4. A continuación se aclimataron durante una semana

antes del comienzo del experimento, a una temperatura de $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ y un fotoperíodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, utilizándose agua dulce filtrada y exenta de cloro.

2.2.2. Exposición de *Procambarus clarkii* a diferentes concentraciones de Cadmio y Zinc

A pesar de la rapidez con que la administración actuó tras el accidente de Aznalcóllar, el entorno de Doñana, donde se encuentra incluido el Parque Nacional de Doñana, considerado reserva de la Biosfera y Patrimonio de la Humanidad, así como el estuario del Guadalquivir, el río Guadalquivir y el Guadiamar se vieron afectados en mayor o menor medida. En nuestro caso, se recopilaban las concentraciones más significativas de Cadmio y Zinc, analizadas en diferentes estaciones de muestreo del río Guadiamar (www.juntadeandalucia.es).

Las concentraciones que se consideraron para el desarrollo del bioensayo son las siguientes: $1000\mu\text{gL}^{-1}$ y $3000\mu\text{gL}^{-1}$ de zinc, $10\mu\text{gL}^{-1}$ y $30\mu\text{gL}^{-1}$ de cadmio.

Con estas concentraciones se reprodujeron las condiciones del río Guadiamar tras el accidente, en el laboratorio.

Los cangrejos hembra se distribuyeron en grupos de seis en los diferentes acuarios de exposición de 40 litros de capacidad, así mismo se introdujeron cangrejos macho, en grupos de ocho, en el mismo acuario separados por redes, con el fin de comparar los datos de bioacumulación y la medida de los diferentes biomarcadores entre machos y hembras.

Los tanques de exposición y las concentraciones fueron las siguientes:

Tanque 1: Control

Tanque 2: $1000\mu\text{gL}^{-1}$ Zinc

Tanque 3: $3000\mu\text{gL}^{-1}$ Zinc

Tanque 4: $10\mu\text{gL}^{-1}$ Cadmio

Tanque 5: $30\mu\text{gL}^{-1}$ Cadmio

El bioensayo tuvo un período de duración de 21 días. Durante este período de tiempo, se realizó un cambio de agua cada tres días, con el fin de mantener las concentraciones de metales constantes en cada acuario, tomando muestras de

antes y después de la renovación de agua, con el fin de analizar la concentración de metales en agua y así conocer la concentración real de metales en agua a la que están expuestos los organismos.

Al final del experimento, los cangrejos se diseccionaron, y se tomaron muestras de hepatopáncreas, para el análisis de metalotioneínas y bioacumulación de metales, branquias y músculo para determinar también la bioacumulación de los metales a los que se ha expuesto, gónada para el análisis del estado de reproducción en el que se encuentra el individuo. Al mismo tiempo se analizó el índice del hepatopáncreas y el gonadal.

2.3. Bioensayo de toxicidad con *Carcinus maenas*

Carcinus maenas es uno de los cangrejos intermareales más intensamente estudiados en el mundo es común, relativamente grande y fácilmente capturable e identificable, sexado y medido, lo que le convierte en un organismo muy apropiado para el estudio en el medio.

En nuestro caso, con el fin de evaluar el efecto de la toxicidad de metales pesados en el Estuario del Guadalquivir, tras el accidente de Aznalcóllar, constituye un bioindicador muy importante por ser uno de los crustáceos decápodos más abundante, común y por constituir una especie comestible y comercializada.

2.3.1. Recolección y mantenimiento de *Carcinus maenas*

Hembras de *Carcinus maenas* se recolectaron en esteros, en los cuales se reunían las condiciones de sanidad e higiene requeridas y de acuerdo con la normativa pertinente. Únicamente los cangrejos hembra, en período de intermuda, C3 y C4, con una anchura de caparazón entre 35 y 50 mm se utilizaron en el desarrollo del bioensayo de laboratorio. Éstas, una vez recolectadas se aclimataron durante un período de 24 horas en un tanque de 300L de capacidad. El agua utilizada fue agua de mar de salinidad 35, la temperatura de 13 °C y un fotoperíodo de 12 horas de oscuridad, 12 horas de luz.

Se expusieron ocho cangrejos por acuario fabricados en vidrio, con una capacidad de 20 litros. Antes del comienzo del bioensayo se limpiaron con ácido nítrico 10% (preparado con ácido nítrico 60% y agua destilada). Las condiciones

de salinidad, temperatura y fotoperíodo se seleccionaron para ser las mismas que se utilizaron en el ensayo de exposición. Como se ha comentado previamente el agua de los tanques se cambió cada tres días, tras la alimentación de los organismos con mejillones (*Mytilus edulis*) congelados. La solución stock se preparó con agua destilada, utilizando para la preparación de los diferentes metales en disolución, CdCl₂, ZnCl₂, CuCl₂, (SIGMA) dependiendo del tratamiento (Tabla 1).

Tabla 1.- Resumen de los diferentes tratamientos de metales pesados y mezcla de metales a los que se expuso a hembras de *C.maenas*

tratamiento	1	2	3	4	5	6	7	control
Zn 700 µg.L ⁻¹	X			X	X		X	—
Cd 3 µg.L ⁻¹			X	X		X	X	—
Cu 15 µg.L ⁻¹		X			X	X	X	—

Durante el bioensayo, se tomaron de forma aleatoria muestras de agua de cada acuario, 15 mL, para su posterior análisis de metales en disolución. Esto tenía por objeto establecer la concentración real de cada metal en el acuario.

De la misma manera, se tomaron muestras de hemolinfa los días 0, 7, 14 y 21. Las muestras se extrajeron de la base de las patas, un volumen de 100 µL. Una vez tomadas las muestras, éstas se depositaron en nitrógeno líquido y a continuación se guardaron a -80°C, para ser utilizadas posteriormente en el análisis de vitelogenina/vitelina.

Tras los 21 días de exposición, los organismos se diseccionaron y se tomaron muestras de hepatopáncreas, para el análisis de metalotioneínas y bioacumulación de metales, branquias y músculo para determinar también la

bioacumulación de los metales a los que se ha expuesto y fueron almacenadas a – 80°C para su posterior análisis.

A continuación, se resumen en la siguiente tabla la metodología utilizada para la determinación de la bioacumulación de metales en los diferentes tejidos, así como para la determinación de los diferentes Biomarcadores de toxicidad (vitelogenina/vitelina en hemolinfa, metalotioneínas, índices gonadosomáticos y hepatosomáticos e histopatología).

Tabla 2. Resumen de la metodología utilizada en cada uno de los bioensayos de toxicidad para la determinación de la bioacumulación y los diferentes biomarcadores de contaminación (metalotioneínas, vitelogenina, daños histopatológicos y índice gonadosomático y hepatosomático)

DETERMINACIONES INFORMACIÓN		METODOLOGÍA				
Bioacumulación de metales pesados en branquia, glándula digestiva o hepatopáncreas y músculo	Bioavilidad de metales pesados	Espectroscopía de Absorción atómica (llama: Zn; horno de grafito: Cd). Los resultados se aseguran con los obtenidos con material de referencia TORT 1 Lobster Hepatopancreas (National Research Council Ottawa, ON, Canada) (Amiard et al., 1987)				
Metalotioneínas en hepatopáncreas	Exposición a metales pesados	Voltamperometría de resolución Anódica (ASV). Cuantificación basada en metodología desarrollada por Olafson et al., 1979				
Vitelogenina/Vitelina (VTG) en hemolinfa de crustáceo	Efectos en funciones reguladas por hormonas	ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)				
		1° Anticuerpo	2° Anticuerpo	Pocillos	Éstandard	Límite de detección
		Polyclonal rabbit anti-crayfish VTG	Monoclonal goat anti-rabbit IgG (Sigma)	Hemolinfa de crustáceo	VTG purificada de cada individuo	60-64 ng·mL ⁻¹
Índice Gonadosomático (OI) e Índice Hepatosomático (HsI)	Efectos en reproducción	OI = Peso Ovario/Peso cuerpo*100 HsI = Peso hepatosomático/Peso cuerpo*100				
Daño Histopatológico	Efectos en reproducción	Hemotoxilina /VOF. Gutiérrez (1967)				

3. RESULTADOS

3.1. Bioensayo de toxicidad con *Ruditapes philippinarum*

3.1.1. Determinación de la concentración de metales en diferentes tejidos e inducción de metalotioneínas en la glándula digestiva.

Los resultados obtenidos se resumen en la Figura 1, en la que se expresa la relación entre la bioacumulación de metales pesados en branquia y glándula digestiva y la concentración de metalotioneínas en la glándula digestiva, todo esto a lo largo del tiempo. Los resultados obtenidos de la concentración de metalotioneínas fueron analizados estadísticamente y en la figura se expresa la significancia de la inducción de esta proteína para cada tratamiento comparado con el control.

3.1.2. Efectos histopatológicos en branquia, glándula digestiva y aparato reproductor.

Los valores obtenidos del análisis de los efectos histopatológicos analizados los días 7, 14 y 21 del bioensayo y se resumen en la figura 2 y en las tablas 3, 4 y 5.

En la figura 2 se muestran a modo de ejemplo los cortes histológicos de branquia, glándula digestiva y aparato reproductor de almeja dañados para alguno de los tratamientos y los controles no dañados.

En las tablas 3, 4 y 5 se reflejan los diferentes daños producidos en branquia, glándula digestiva y aparato reproductor, para cada día y tratamiento (metal y salinidad).

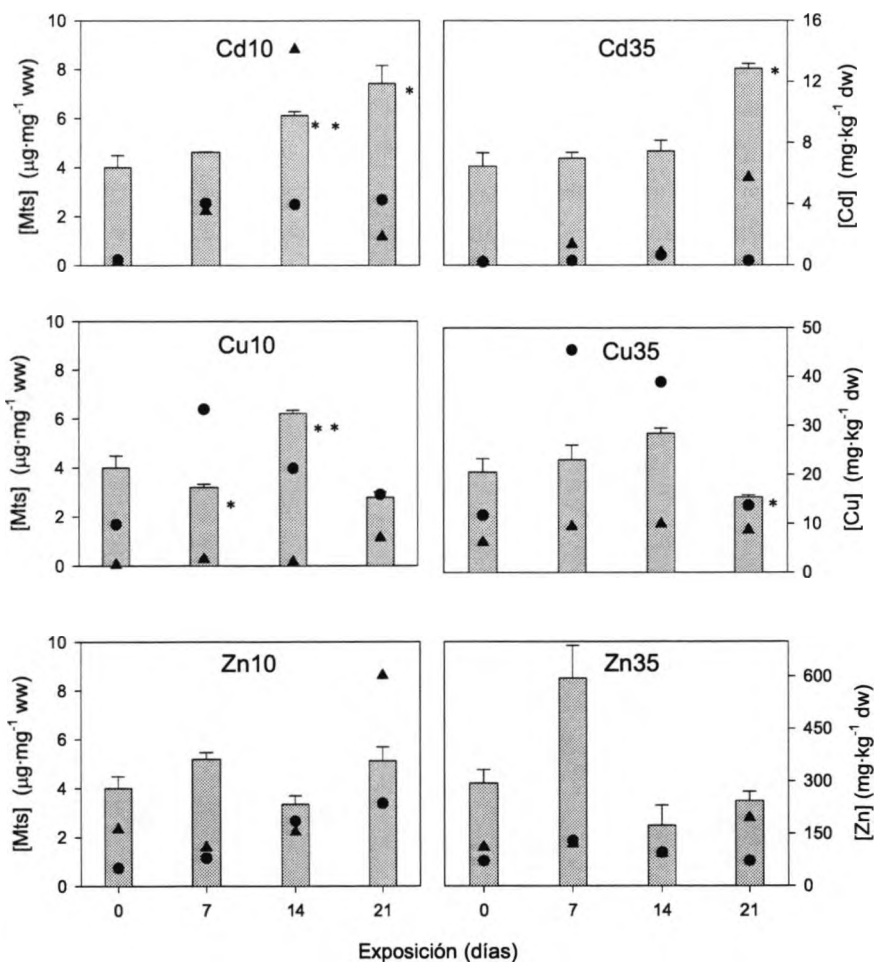


Figura 1. Media de la concentración de los metales cadmio, cobre y zinc (Cd, Cu, Zn) en glándula digestiva (●) y en branquia (▲) y de la concentración de metalotioneínas en la glándula digestiva expuestos a cadmio a diferentes salinidades de 10 y 35 (Cd10, Cd35), a cobre a salinidades 10 y 35 (Cu10, Cu35) y a zinc a salinidades 10 y 35 (Zn10, Zn35). Los valores están calculados para los días 0, 7, 14 y 21. Los asteriscos indican la significancia de la concentración de metalotioneínas para cada tratamiento comparado con el control de toxicidad negativa (** $p < 0.01$), (* $p < 0.05$). La concentración de metal se expresa en mg de metal por kg de peso seco de tejido ([Cd, Cu o Zn] $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ dw) y la concentración de metalotioneínas μg de metalotioneínas por mg de peso húmedo ([Mts] $\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}$ ww).

Figura 2. Secciones histológicas de branquia, glándula digestiva y aparato reproductor de *Ruditapes philippinarum*, para tratamientos con metales y controles. Tinción Hematoxylin-eosina. (A) Sección histológica de branquia de tratamiento control. (B) Sección histológica de branquia dañada tratada con cadmio a salinidad 10 tras 21 días de exposición. (C) Sección histológica de glándula digestiva control. (D) Sección histológica de glándula digestiva dañada tras tratamiento con cadmio a salinidad 35 el día 21. (E) Sección histológica de ovario control. (F) Sección histológica de ovario dañado tras tratamiento con cobre a salinidad 10 el día 21. Magnificación original x250 para todas las secciones.

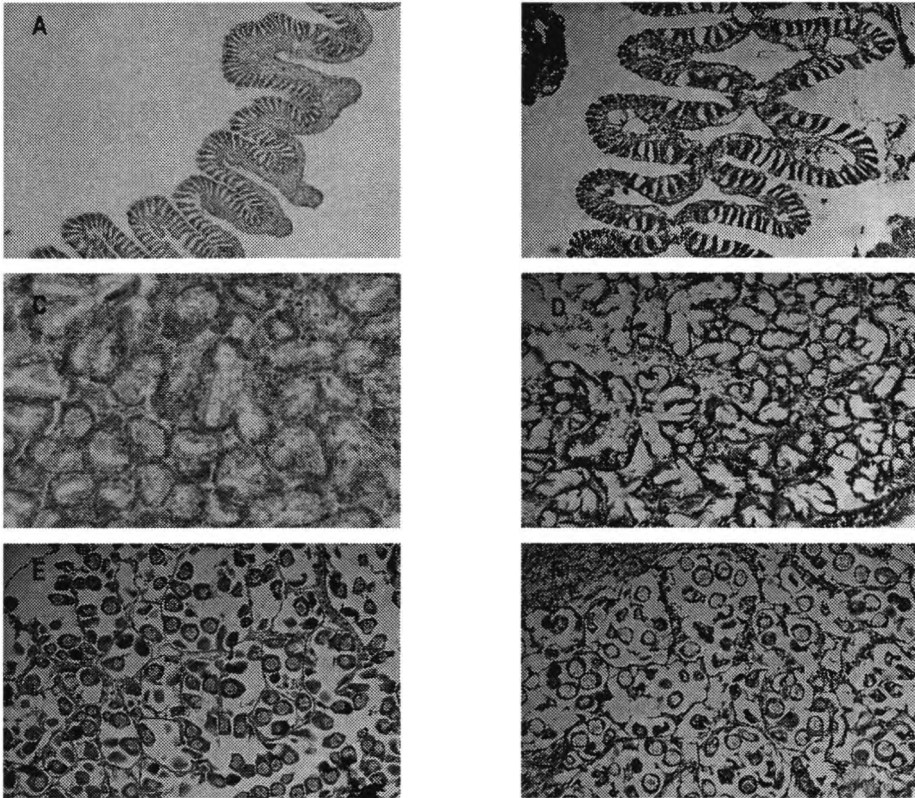


Tabla 3. Resultados del análisis histopatológico semicuantitativo en branquia, glándula digestiva y aparato reproductor de *R.philippinarum* en controles y en aquellos expuestos a Cd, Cu y Zn a salinidad 10 y 35 (S10, S35) *el día 7*. Los diferentes daños se expresan DQ (Alteración Quitinosa), AL (Alteración en laminillas), MC (Alteración Ciliar), DE (Descamación Epitelial), IH (Infiltración Hemocitaria), DT (Alteración Tubular), PC (Pérdida Ciliar), OT (Oclusión Tubular), AE (Pérdida Epitelial), Ac (Alteración Conjuntiva), EC (Epitelio Ciliar), MB (Membrana Basal, C (Conjuntivo), OV (Ovocitos), SO (Saco Ovigerero), CB (Célula germinativa). La frecuencia de las lesiones de los tejidos se expresan como: 0 (Nunca), 1+ (Poco Frecuente), 2+ (Frecuente), 3+ (Siempre).

Tratamiento		Contro		S10C	S35C	S10C	S35CdS10ZnS35Zn	
		l	u	u	d			
Branquia	AL	0	0/1+	0/1+	1+/2+	1+	1+/2+	1+
	MC	0	0/1+	0/1+	2+	2+	1+	1+/2+
	DE	0	0	0/1+	1+	1+	1+	1+
	DQ	0	1+/0	0/1+	1+	1+/2+	0/1+	0/1+
	IH	0	1+	1+	2+	1+/2+	1+	0/1+
	N	0	0	0	1+	1+	0	0
Glándula Digestiva	DT	0	0/1+	0/1+	1+	1+	1+	1+/2+
	DE	0	1+	1+	0/1+	0/1+	1+	1+
	PC	0	1+	1+	0/1+	0/1+	1+	1+
	OT	0	0	0	1+	1+	1+	1+
	IH	0	1+	1+	0/1+	1+/2+	1+	2+
	AE	0	0	0/1+	1+	0/1+	0	1+
	AC	0	0	0/1+	1+	1+	1+/2+	2+
	N	0	0	1+	1+	1+	0/1+	1+
Ovario	OV	0	1+/2+	0/1+	2+	1+/2+	1+	1+
	SO	0	1+/2+	0/1+	1+/2+	1+	1+	1+
Testículo	C	0	1+	1+	2+	1+	1+	1+
	CG	0	1+	1+	2+	2+	1+	1+

Tabla 4. Resultados del análisis histopatológico semicuantitativo en branquia, glándula digestiva y aparato reproductor de *R.philippinarum* en controles y en aquellos expuestos a Cd, Cu y Zn a salinidad 10 y 35 (S10, S35) *el día 14*. Los diferentes daños se expresan DQ (Alteración Quitinosa), AL (Alteración en laminillas), MC (Alteración Ciliar), DE (Descamación Epitelial), IH (Infiltración Hemocitaria), DT (Alteración Tubular), PC (Pérdida Ciliar), OT (Oclusión Tubular), AE (Pérdida Epitelial), Ac (Alteración Conjuntiva), EC (Epitelio Ciliar), MB (Membrana Basal, C (Conjuntivo), OV (Ovocitos), SO (Saco Ovígero), CB (Célula germinativa). La frecuencia de las lesiones de los tejidos se expresan como: 0 (Nunca), 1+ (Poco Frecuente), 2+ (Frecuente), 3+ (Siempre).

Tratamiento		Control	S10Cu	S35Cu	S10Cd	S35Cd	S10Zn	S35Zn
Branquia	AL	0	1+/2+	1+/2+	3+	2+	3+	2+
	MC	0	1+/2+	1+/2+	3+	3+	3+	2+
	DE	0	1+	1+/0	2+	1+	3+	2+
	DQ	0	0/1+	0/1+	3+	2+	2+	2+
	IH	0	2+	1+	3+	2+	1+	2+
	N	0	1+	1+	2+	1+	1+	1+
Glándula Digestiva	DT	0	1+/2+	1+/2+	2+/3+	2+/3+	1+	1+/2+
	DE	0	1+	1+/0	2+	1+/2+	2+/1+	2+/1+
	PC	0	1+	1+	1+/2+	1+/2+	2+/1+	2+/1+
	OT	0	1+	1+	0	0	1+	2+
	IH	0	1+	1+	1+/2+	1+/2+	1+	2+
	AE	0	1+	1+/2+	3+	2+	0	1+
	AC	0	1+	1+/2+	2+/3+	2+/3+	1+/2+	2+
	N	0	0	0	1+	1+	0/1+	1+
Ovario	OV	0	2+/3+	1+	2+	1+/2+	2+	1+
	SO	0	2+/1+	2+/1+	1+/2+	1+/2+	1+/2+	1+
Testículo	C	0	1+	1+	2+/3+	1+/2+	1+/2+	1+/2+
	CG	0	1+	1+	2+/3+	2+/3+	1+/2+	1+/2+

Tabla 5. Resultados del análisis histopatológico semicuantitativo en branquia, glándula digestiva y aparato reproductor de *R.philippinarum* en controles y en aquellos expuestos a Cd, Cu y Zn a salinidad 10 y 35 (S10, S35) *el día 21*. Los diferentes daños se expresan DQ (Alteración Quitinosa), AL (Alteración en laminillas), MC (Alteración Ciliar), DE (Descamación Epitelial), IH (Infiltración Hemocitaria), DT (Alteración Tubular), PC (Pérdida Ciliar), OT (Oclusión Tubular), AE (Pérdida Epitelial), Ac (Alteración Conjuntiva), EC (Epitelio Ciliar), MB (Membrana Basal, C (Conjuntivo), OV (Ovocitos), SO (Saco Ovífero), CB (Célula germinativa). La frecuencia de las lesiones de los tejidos se expresan como: 0 (Nunca), 1+ (Poco Frecuente), 2+ (Frecuente), 3+ (Siempre).

Tratamiento		Contro						
		1	S10Cu	S35Cu	S10Cd	S35Cd	S10Zn	S35Zn
Branquia	AL	0	2+	1+/2+	3+	2+/3+	3+	2+
	MC	0	2+	1+/2+	3+	3+	3+	2+
	DE	0	2+	0/1+	3+	2+/3+	3+	2+
	DQ	0	0/1+	0/1+	3+	2+/3+	2+	2+
	IH	0	3+	1+	3+	2+/3+	1+	2+
	N	0	1+	1+	3+	2+/3+	2+	2+
Glándula Digestiva	DT	0	1+/2+	3+	2+/3+	3+	1+/2+	1+
	DE	0	1+	1+/2+	2+	3+	2+	1+/2+
	PC	0	2+	2+/3+	2+/3+	3+	2+	1+
	OT	0	1+	1+	0	0	1+	2+
	IH	0	1+	1+/2+	2+	2+	2+	2+/3+
	AE	0	1+	1+/2+	3+	2+	0	1+
	AC	0	1+	1+/2+	3+	2+	2+	2+
	N	0	0	0	2+/3+	2+	1+	1+
Ovario	OV	0	3+	1+		1+/2+	2+/3+	1+/2+
	SO	0	1+/2+	3+		2+/3+	3+	2+/3+
Testículo	C	0	1+/2+	1+/2+	3+	2+	2+	2+/3+
	CG	0	1+/2+	1+/2+	3+	2+/3+	1+/2+	1+/2+

3.2. Bioensayo de toxicidad con *Procambarus clarkii*

3.2.1. Determinación del Índice Ovárico y Hepatosomático

Los resultados obtenidos del análisis del Índice del Ovario y del Índice Hepatosomático tras 21 días de exposición se expresan en las tablas 4 y 5 respectivamente.

Tabla 6. Media y Desviación estándar (SEM) del Índice Ovárico (OI) calculado para cada tratamiento. Significación comparada con el control.

Grupo	Tratamiento	Nº de cangrejos	OI (Media±SEM)	Significación
I	Control	4	3.97±0.97	P=1
II	1000µg·L ⁻¹ Zn	4	3.18±0.29	-
III	3000µg·L ⁻¹ Zn	4	1.66±0.20	P<0.01
IV	10µg·L ⁻¹ Cd	5	2.38±0.15	-
V	30µg·L ⁻¹ Cd	5	3.39±0.92	-

Tabla 7. Media y Desviación estándar (SEM) del Índice Hepatosomático (Hsl) calculado para cada tratamiento. Significación comparada con el control.

Grupo	Tratamiento	Nº de cangrejos	Hsl (Media±SEM)	Significación
I	Control	4	4.78±0.36	P=1
II	1000µg·L ⁻¹ Zn	4	5.04±0.76	-
III	3000µg·L ⁻¹ Zn	4	5.62±0.65	-
IV	10µg·L ⁻¹ Cd	5	5.60±0.70	-
V	30µg·L ⁻¹ Cd	5	5.09±0.37	-

3.2.2. Bioacumulación de metales en diferentes tejidos de *Procambarus clarkii*

En el siguiente apartado se expresa la concentración de los metales cadmio y zinc tras 21 días de exposición para los diferentes tratamientos y el control de toxicidad negativa. La concentración de los diferentes metales se analizó en branquia, músculo y hepatopáncreas. En figura 3 se expresa la concentración de metales en diferentes tejidos para diferentes organismos expuestos, hembras y machos.

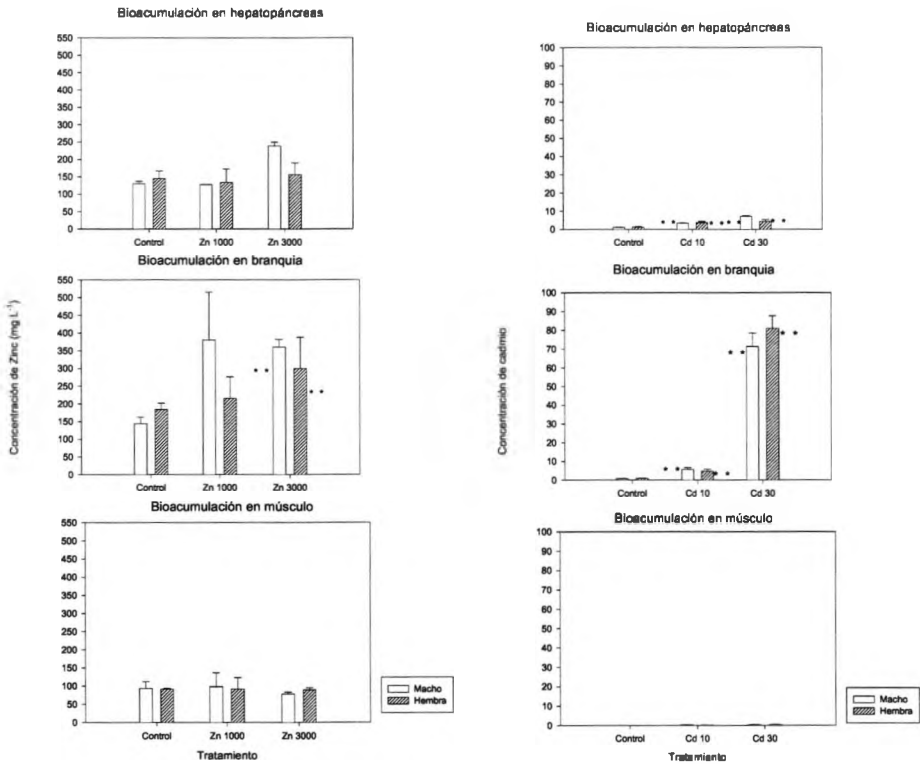


Figura 3. Media de la concentración de los metales cadmio y zinc (Cd, Zn) y control en hepatopáncreas branquia y músculo de hembras y machos *P.clarkii*. Los valores están calculados para los días 0, 7, 14 y 21. Los asteriscos indican la significancia de la concentración de metalotioneínas para cada tratamiento comparado con el control de toxicidad negativa (**p<0.01), (*p<0.05). La concentración de metal se expresa en mg de metal por kg de peso seco de tejido ([Cd o Zn] mg·kg⁻¹ dw).

3.2.3. Concentración de Metalotioneínas en hepatopancreas de *P.clarkii*

Los resultados de la figura 4. La concentración de metalotioneínas se hace referencia al peso húmedo del hepatopancreas.

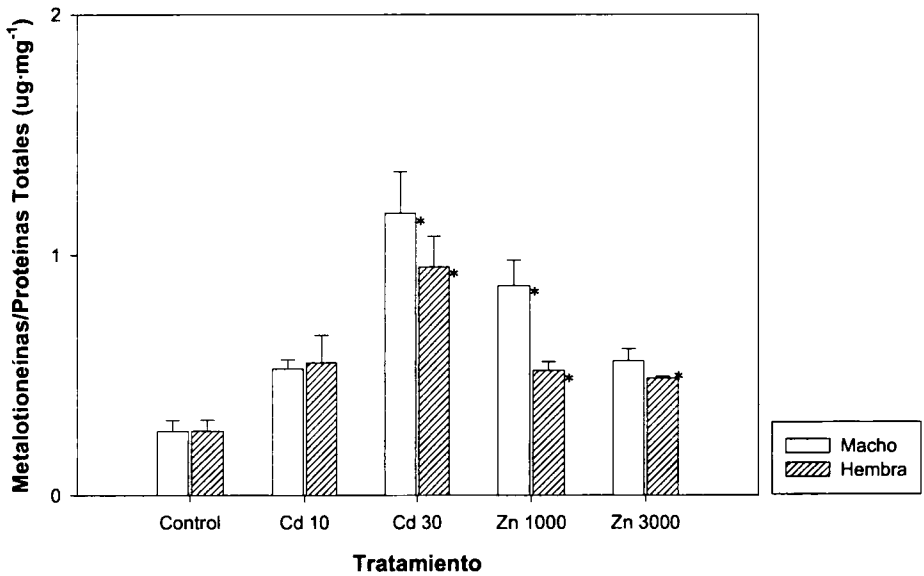


Figura 4. Concentración de metalotioneínas (Mts) para diferentes tratamientos de Cd y Zn y control (Ct) en hepatopancreas en machos y hembras de *P.clarkii*. La concentración de metalotioneínas se expresa como μg de metalotioneínas con respecto a mg de peso húmedo de hepatopancreas. Los asteriscos indican la significancia de la concentración de metalotioneínas para cada tratamiento comparado con el control de toxicidad negativa (** $p < 0.01$), (* $p < 0.05$).

3.3. Bioensayo de toxicidad con *Carcinus maenas*

3.3.1. Bioacumulación de metales en diferentes tejidos de *C.maenas*

A continuación se expresan en la figura 5 las concentraciones de metales pesados (Cd, Cu y Zn) en hepatopáncreas, branquia y músculo de *C.maenas*.

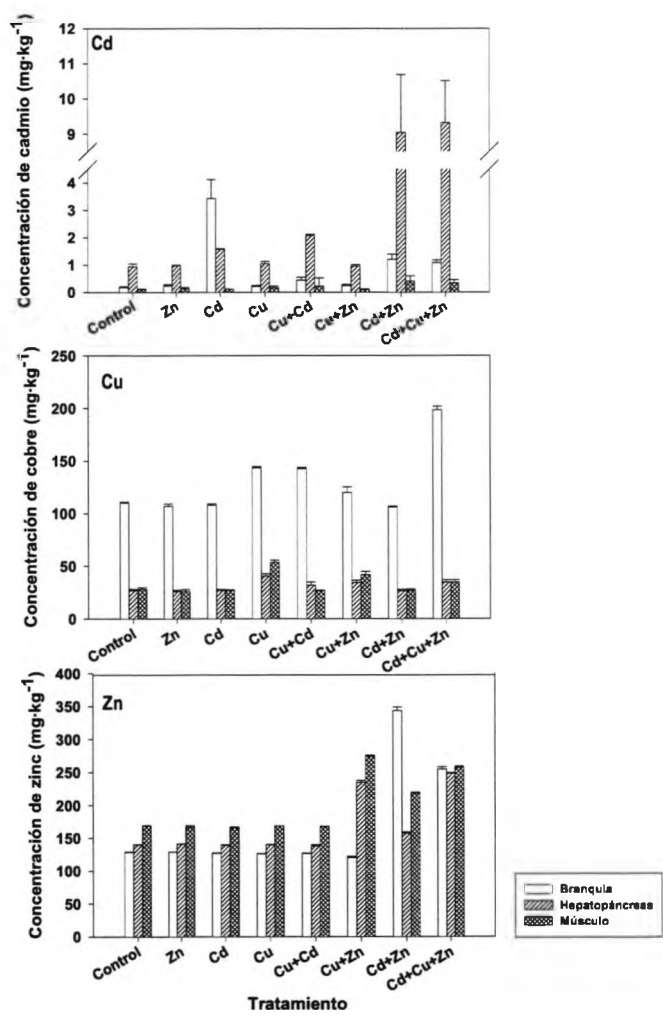


Figura 5. Media de la concentración de los metales cadmio, cobre y zinc (Cd, Cu y Zn) y control en hepatopáncreas branquia y músculo de hembras *C.maenas*. Los valores están calculados para el día 21. La concentración de metal se expresa en mg de metal por kg de peso seco de tejido ([Cd, Cu o Zn] mg·kg⁻¹ dw).

3.3.2. Concentración de Metalotioneínas en hepatopaneas de *Carcinus maenas*

En el siguiente apartado se muestra la concentración de metalotioneínas en el hepatopaneas de *Carcinus maenas* tras 21 días de exposición.

Los resultados se expresan en la tabla 3.13, donde la concentración de metalotioneínas se refiere al contenido de proteínas totales en el hepatopaneas.

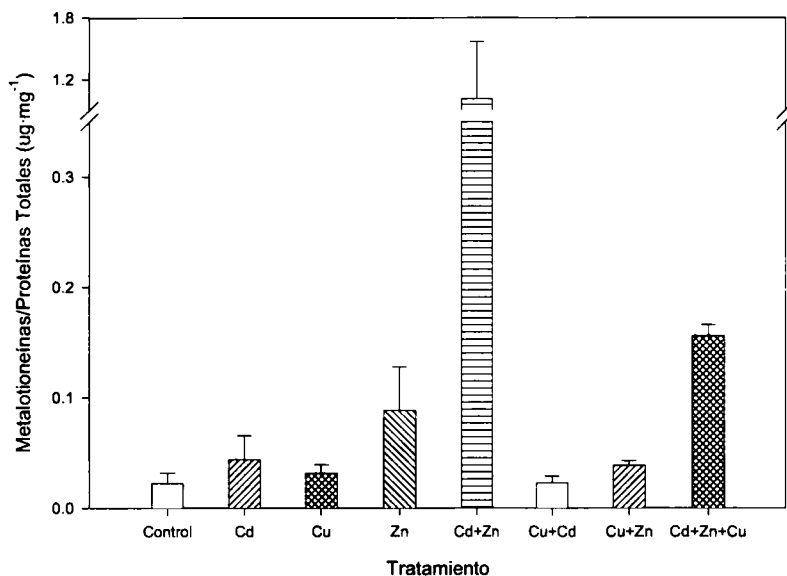


Figura 6.- Concentración de metalotioneínas (Mts) para diferentes tratamientos de Cd, Cu, Zn y control en hepatopaneas de hembras *C.maenas*. La concentración de metalotioneínas se expresa como µg de metalotioneínas con respecto a mg de peso húmedo de hepatopaneas.

3.3.3. Concentración de Vitelogenina/Vitelina en hemolinfa de *Carcinus maenas*

En este apartado se presentan los valores de vitelogenina/vitelina obtenidos del análisis en la hemolinfa de hembras *C.maenas* a lo largo del tiempo los días 0, 7, 14 y 21.

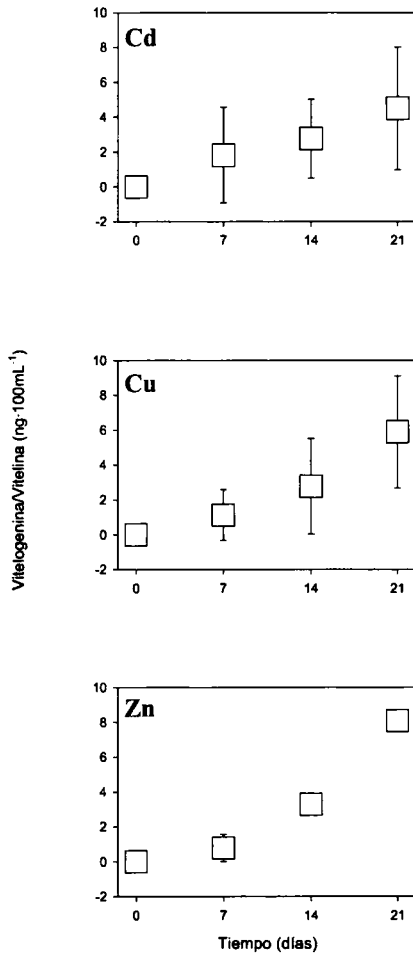


Figura 7. Resultados obtenidos de la medición de la concentración de vitelogenina ($\text{ng}\cdot 100\text{mL}^{-1}$) en la hemolinfa de *Carcinus maenas* para los tratamientos de Cd, Cu y Zn. (IV: Índice de Variación)

Los valores de vitelogenina se normalizaron teniendo en cuenta los valores del principio y el final en la concentración de esta proteína. Se utilizó la siguiente fórmula obteniendo Índices de Variación (VI) para cada día.

$$\text{VI} = \frac{\text{Concentración de vitelogenina/vitelina (día 0, 7, 14, 21 day)} - \text{Concentración de vitelogenina/vitelina (día 0)}}{\text{Concentración de vitelogenina/vitelina (día 0)}} [1]$$

4. DISCUSIÓN

4.1. Bioensayo de toxicidad con *Ruditapes philippinarum*

Este estudio presenta los resultados y la interpretación del análisis de la bioacumulación y la evaluación biológica (histopatología y metalotioneínas) durante 21 días de exposición de la almeja *Ruditapes philippinarum* a diferentes concentraciones de metales pesados tras el accidente minero de Aznalcóllar (Zn y Cd) y al metal Cu no relacionado con el accidente minero. El estudio utiliza diferentes simulaciones en el laboratorio exponiendo organismos a concentraciones ambientales de los metales pesados mencionados que fueron determinados en agua durante los primeros meses del vertido. En el contexto de este estudio pueden realizarse diferentes conclusiones en relación con los resultados obtenidos de la bioacumulación y los efectos biológicos asociados a estos tres metales en el estuario del Guadalquivir tras el accidente. Las conclusiones se resumen en:

- 1) La bioacumulación de zinc y cadmio, metales presentes tras el accidente minero, es mayor a baja salinidad. La bioacumulación de cobre, metal ya presente antes del accidente minero no está influenciada por la salinidad. Se observa un aumento de la bioacumulación de Cd y Zn a lo largo del tiempo para ambos valores de salinidad.
- 2) Solo las concentraciones de Cd determinadas se relacionan significativamente con la activación de metalotioneínas a ambas salinidades. Los resultados son significativamente importantes a partir del día 14, comparado la activación producida en los organismos control. La activación se produce en un período de tiempo menor a salinidad 10 que a salinidad 35. La salinidad 10 activa la producción de metalotioneínas más rápidamente que a salinidad 35, para la misma concentración de cadmio.
- 3) Los efectos histopatológicos son muy frecuentes asociados con la exposición a Cd frecuentes asociados con la exposición a Zn y poco frecuentes para Cu. Estos efectos son mayores en branquia, seguido de glándula digestiva y poco frecuente

en aparato reproductor. La salinidad afecta a la frecuencia de daño histopatológico, siendo mayor a menor salinidad.

4.2. Bioensayo de toxicidad con *Procambarus clarkii*

En el presente se muestra el estudio de la bioacumulación y el efecto biológico (metalotioneínas, índice ovárico y hepatosomático) durante 21 días de exposición del cangrejo rojo americano *Procamparus clarkii* a diferentes concentraciones de los metales pesados asociados a la contaminación producida en el río Guadiamar tras el accidente de Aznalcóllar.

En el marco de este estudio, se pueden realizar diferentes conclusiones en relación a los resultados obtenidos de la bioacumulación y efectos biológicos. Las conclusiones se pueden resumir en:

- 1) La bioacumulación de cadmio y de zinc aumenta al aumentar la concentración de metales pesados a la que se encuentran expuestos los organismos, para todos los tejidos analizados: branquia, músculo y hepatopancreas, y tanto para machos como hembras.
 - a) La bioacumulación de cadmio es mayor en branquia seguido de hepatopancreas y de músculo; sin embargo, la bioacumulación de zinc es mayor en hepatopancreas seguido de branquia y de músculo.
 - b) La bioacumulación es en general mayor en machos que en hembras. Esta tendencia es más significativa para la mayor concentración de cadmio.
- 2) La inducción de metalotioneínas en el hepatopancreas aumenta al aumentar la concentración de los metales pesados, tanto para machos como para hembras.
 - a) La mayor concentración de metalotioneínas se produce para la concentración mayor de cadmio, y es a esta concentración para la que la diferencia entre machos y hembras se hace mayor,

encontrándose los valores más altos para machos, en todos los tratamientos.

- 3) El índice Ovárico disminuye al aumentar la concentración de Zn y aumenta al aumentar la concentración de Cd. Exactamente ocurre lo contrario para cada tratamiento cuando se considera el Índice Hepatosomático

4.3. Bioensayo de toxicidad con *Carcinus maenas*

La discusión sobre los resultados obtenidos se puede resumir en:

- 1) Se ha diseñado un nuevo protocolo para la determinación de la relación vitelina/vitelogenina utilizando la técnica de antígeno/anticuerpo, basada en el procedimiento ELISA. El método ha sido mejorado y adaptado para su uso sobre el crustáceo *Carcinus maenas* expuesto a concentraciones ambientales de metales pesados procedentes del vertido de Aznalcóllar. La principal aportación metodológica hace referencia a la utilización directa de los antígenos y anticuerpos sobre la muestra de hemolinfa lo que le confiere una menor complejidad y posibilidad de errores en el pretratamiento.
- 2) Se han caracterizado las variaciones de las concentraciones de metalotioneínas como respuesta adversa de los crustáceos a diferentes concentraciones de metales pesados Zn, Cd y Cu procedentes del vertido de Aznalcóllar. Además, se ha determinado la respuesta de inducción de estas proteínas en diversas combinaciones de los metales pesados Zn, Cd y Cu. Se ha establecido una sinergia entre los metales Zn y Cd en cuanto a la inducción de las metalotioneínas en *Carcinus maenas*. También se ha identificado un antagonismo en el efecto del Cu en mezclas de Zn y Cd con respecto a la inducción de metalotioneínas. En mezclas tripartitas se ha detectado que el efecto de sinergia de Zn y Cd es mayor que el efecto de antagonismo producido por la presencia de las concentraciones de Cu.

- 3) Se ha caracterizado el efecto de las concentraciones de Zn, Cd y Cu sobre la reproducción del crustáceo mediante el estudio del sistema vitelina/vitelogenina mediante la técnica ELISA. Se ha establecido una relación entre las concentraciones de metales y el aumento de vitelogenina que produciría una menor eficiencia en la reproducción de este organismo. Las concentraciones individuales de los tres metales utilizados en los experimentos han provocado un aumento de la concentración de esta sustancia, siendo mayor el efecto, para el caso del Cd, y aproximadamente de la misma magnitud para los metales Zn y Cu.
- 4) La comparación de los resultados de los dos tipos de sistemas de biomarcadores utilizados: metalotioneínas, de exposición a metales y vitelogenina de efecto por las concentraciones ambientales probadas determina que el Cd en concentraciones ambientales provoca mayores efectos tanto a nivel de biomarcador de exposición, como sobre el sistema del biomarcador de efecto. Por otra parte, el Zn produce efectos intermedios sobre ambos sistemas de Biomarcadores y por el contrario, el Cu no produce efectos en las concentraciones probadas sobre la activación del sistema de metalotioneínas, aunque si lo hace en el sistema vitelogenina/vitelina afectando a la reproducción de los organismos probados. Esto puede relacionarse con el carácter de metal no esencial de Cd lo que le confiere mayor toxicidad a menos concentraciones comparado con los otros dos metales Zn y Cu clasificados como esenciales.
- 5) Los resultados obtenidos en este estudio permiten determinar que las concentraciones ambientales de Zn, Cd y Cu que se midieron durante los primeros días del vertido de Aznalcóllar (mayo 1998) pudieron afectar al ecosistema o al menos a especies del tipo *Carcinus maenas* en cuanto a la eficacia en su reproducción. La correlación entre la proteína asociada con la exposición a metales pesados (metalotioneínas) con el efecto producido sobre el sistema vitelina/vitelogenina, identifica a los metales pesados, en las concentraciones ambientales simuladas, como los responsables de los efectos medidos.

5. CONCLUSIONES

- 1) La bioacumulación de los metales probados bajo condiciones de laboratorio y simulando las concentraciones ambientales determinadas durante los primeros días del vertido se produce como una función del tiempo y de las concentraciones probadas. Así, aumenta tanto con el tiempo como con la concentración de metal ensayada. La secuencia de mayor a menor bioacumulación se da para $Cd > Zn > Cu$, para los tres organismos probados. Esta bioacumulación es significativamente mayor en las branquias de los organismos.
- 2) Las metalotioneinas, seleccionadas como biomarcadores de exposición a las concentraciones de metales pesados ensayadas en nuestros experimentos, mostraron sensibilidad en su activación como función de la concentración de metal en el ensayo. Así, la secuencia de activación de mayor a menor para cada metal es, $Cd > Zn > Cu$, para los tres organismos probados.
- 3) La determinación del daño histológico y la técnica ELISA, seleccionados como biomarcadores de efecto mostraban sensibilidad a las concentraciones de metales pesados ensayadas en el laboratorio. La secuencia de toxicidad de mayor a menor para ambos biomarcadores es, $Cd > Zn > Cu$, para los organismos probados. Resaltar que las concentraciones menores de Zn y Cu no originaron resultados significativamente diferentes en cuanto a la determinación de efecto comparados a un control.
- 4) En general, las concentraciones de Cd ensayadas en el laboratorio se muestran como más biodisponibles y como las responsables principales de los efectos biológicos provocados tras el accidente de Aznalcóllar. El carácter de metal no esencial determina la mayor toxicidad asociada con este metal cuando se presenta en el medio ambiente a concentraciones menores que otros considerados como esenciales (Zn y Cu).

- 5) La influencia de la salinidad se determinó en alguno de los organismos en los ensayos de exposición a concentraciones de metales ambientales. Las mismas concentraciones de metales ensayados, se muestran más biodisponibles y tóxicas a los organismos probados, *Ruditapes philippinarum*. Así, y para el caso específico del Cd, se demuestra que este metal se bioacumula y produce los efectos biológicos en el menor tiempo y a menores concentraciones que para el caso de los otros dos metales pesados.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Amiard JC, Pineau A, Boiteau HL, Metayer C, Amiard-Triquet C (1987) Application of atomic absorption spectrophotometry using Zeeman effect, to the determination of eight elements (Ag, Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb and Se) in biological materials. *Water Res* 21:663-697.
- Del Valls TA, Sáez V, Arias A, Blasco J (1999) Thallium in the marine environment first ecotoxicological assessments in the Guadalquivir estuary and its potential adverse effect in the “Doñana European natural reserve” after the Aznacóllar mining spill (S.W. Spain). *Cien Mar* 25:2:161-175.
- Gómez-Parra A, Forja JM, DelValls TA, Sáenz I, Riba I (2000) Early contamination by heavy metals of the Guadalquivir Estuary after Aznalcóllar mining spill (SW Spain). *Mar Pollut Bull* 40:12:1115-1123
- Gutierrez M (1967) Coloración histológica para ovarios de peces, crustáceos y moluscos. *Inv Pesq* 31:265-271
- Olafson RW, Kearns A, Sim RG (1979) Heavy metal induction of metallothionein synthesis in the hepatopancreas of the crab *Scylla serrata*. *Com Biochem. Physiol* 62B:417-24
- Martín-Díaz ML, Sales D, DelValls TA (2003) The influence of salinity in hemolymph vitellogenin of the shore crab *Carcinus maenas*, used as

biomarker of contamination in toxicity tests. *Bull Environ Toxicol Chem*
(enviado a)

Martín-Díaz ML, Bamber S, Casado-Martínez MC, DelValls TA, Sales D,
DelValls TA (2003) Toxicokinetic of heavy metals from a mining spill
using *Carcinus maenas*. *Mar Environ Res* (enviado b)

Martín-Díaz ML, Blasco J, González de Canales ML, Sales D, DelValls TA
(2003) Bioaccumulation and toxicokinetic of dissolved metals from the
Guadalquivir estuary after the Aznalcóllar mining spill using *Ruditapes*
philippinarum. *Arch Environ Toxicol Chem* (enviado c)

Martín-Díaz ML, Tuberty SR, McKenney C L Jr, Sales D, DelValls TA (2003)
Effects of cadmium and zinc on *Procambarus clarkii*: simulation of the
Aznalcóllar mining spill. *Cien Mar* (en prensa)

Características hidrodinámicas y de transporte de sedimento en el estuario del Guadalquivir

**Tejedor, L., Tejedor, B., Mañanes, R., Álvarez, O., Reyes, J.,
Fraguela, B., Aboitiz, A. y Vidal, J.M.**

Departamento de Física Aplicada. Facultad de Ciencias del Mar y
Ambientales. Universidad de Cádiz. 11510 Puerto Real (Cádiz)

1. INTRODUCCIÓN

En el marco del estudio “Contaminación por metales pesados del Estuario del Guadalquivir: Efectos del accidente minero de Aznalcóllar sobre el medio físico y los organismos marinos”, el Grupo de Oceanografía Física: Dinámica de la Universidad de Cádiz tiene, como objetivo principal, el estudio de las características hidrodinámicas y de transporte de sedimento en la zona afectada del estuario del Guadalquivir. El conocimiento de las citadas características representa el soporte principal para abordar los procesos de transporte y dispersión del sedimento, así como de los mecanismos de erosión y deposición. La precisa interpretación de estas características requiere el conocimiento de la dinámica mareal en la región de estudio, así como del agua fluvial procedente del drenaje terrestre. En regiones estuáricas como la del Guadalquivir, donde la confluencia de agua salada y dulce puede determinar las características dinámicas, es premisa indispensable un estudio preliminar de la distribución salina que es susceptible de condicionar el mapa de corrientes y, por ende, del transporte de sustancias. Sus resultados, además, se muestran de potencial interés para acometer trabajos futuros en los que los procesos de advección sean fundamentales, como son aportes de materia orgánica, así como de otros compuestos disueltos o particulados.

Los metales pesados que los lodos llevan asociados son transportados a lo largo del curso fluvial, que desde el Río Guadiamar desembocan en el último tramo del estuario del Río Guadalquivir y, finalmente, en el océano Atlántico. La configuración espacio-temporal de los lodos a lo largo del cauce fluvial depende determinantemente de las complejas características dinámicas asociadas a las corrientes y la marea en toda la zona. Un estudio detallado de todas las características dinámicas en el estuario del Guadalquivir requiere, como es natural, de datos experimentales de las variables a estudio recogidos en puntos estratégicos del Estuario del Guadalquivir y Guadiamar.

A lo largo de este trabajo se presentarán las características dinámicas y del sedimento en suspensión en el estuario del Guadalquivir, utilizando para su estudio una densa colección de datos experimentales complementadas con resultados de modelos numéricos desarrollados en el Departamento de Física Aplicada de La Universidad de Cádiz.

El trabajo se ha estructurado en tres apartados. En el siguiente apartado se efectuará una descripción física de la zona de estudio y de las campañas oceanográficas realizadas. El apartado 3 está dedicado a la descripción y caracterización dinámica del estuario del Guadalquivir y del Brazo de la Torre. Dentro de este apartado, se establecen por separado los resultados correspondientes a la dinámica de corrientes, marea, intrusión salina y dinámica de transporte de sedimentos, respectivamente. El parágrafo 4 está dedicado a las conclusiones que se desprenden del presente estudio.

2. ZONA DEL ESTUDIO Y CAMPAÑAS OCEANOGRÁFICAS

El primer paso consiste en definir el ámbito geográfico sobre el que se va a realizar el estudio. En este caso la elección viene determinada por la zona de actuación potencial de los lodos vertidos en el accidente de Aznalcóllar, con el objetivo de que la zona de estudio elegida permita estudiar y comprender sus efectos sobre el estuario del Guadalquivir. Por ello, el área queda confinada a la parte del Bajo Guadalquivir comprendida entre Chipiona y El Yeso, con una

longitud aproximada de 30 Km. Asimismo, queda integrado en el dominio El Brazo de la Torre desde su desembocadura al Guadalquivir hasta una distancia aguas arriba de 10 Km (figura 1)

La batimetría utilizada, que se representa en la figura 2, ha sido obtenida a partir de las cartas náuticas publicadas por el Instituto Hidrográfico de la Marina.

Para la realización del estudio se han llevado a cabo una serie de campañas oceanográficas, las cuales nos han permitido obtener series temporales de diferentes variables (niveles, corrientes, salinidad y sedimento en suspensión). El análisis de estas series nos permitirá obtener información acerca de las características hidrodinámicas y de salinidad, así como del transporte, erosión y deposición de sedimento en la zona de estudio.

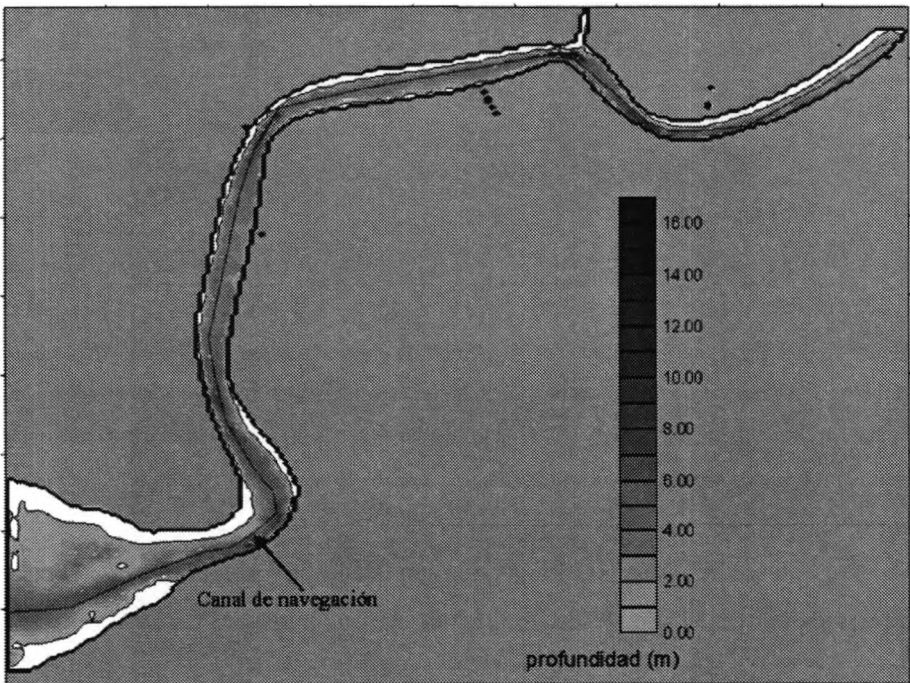


Figura 1. Mapa batimétrico de la zona de estudio en el río Guadalquivir.

En la figura 2 se han representado los puntos de muestreo de las campañas oceanográficas realizadas en el marco de este proyecto de investigación. Además de los puntos, también se reseña el tipo de variable y de instrumento utilizado en su adquisición.

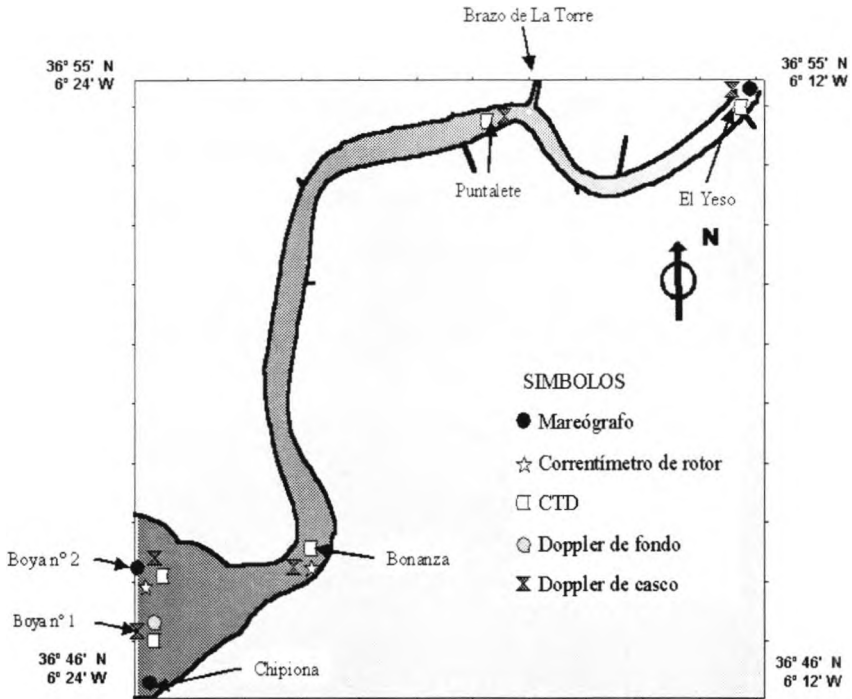


Figura 2. Localización geográfica de los puntos de muestreo sobre el dominio de estudio, variables e instrumental utilizado para adquisición de los datos. Debe reseñarse que en la misma figura se han representado no sólo las variables obtenidas en las campañas realizadas, sino también los puntos de variables obtenidas de otras fuentes utilizadas en este proyecto.

La realización de estas campañas ha implicado la utilización de técnicas diferentes de recolección de datos, algunas tan características del medio marino como los fondeos de equipos automáticos y autónomos. Como ejemplo, en la figura 3. se presenta el diseño de la línea de fondeo desplegada en los alrededores de la Boya n° 20, situada en Bonanza .

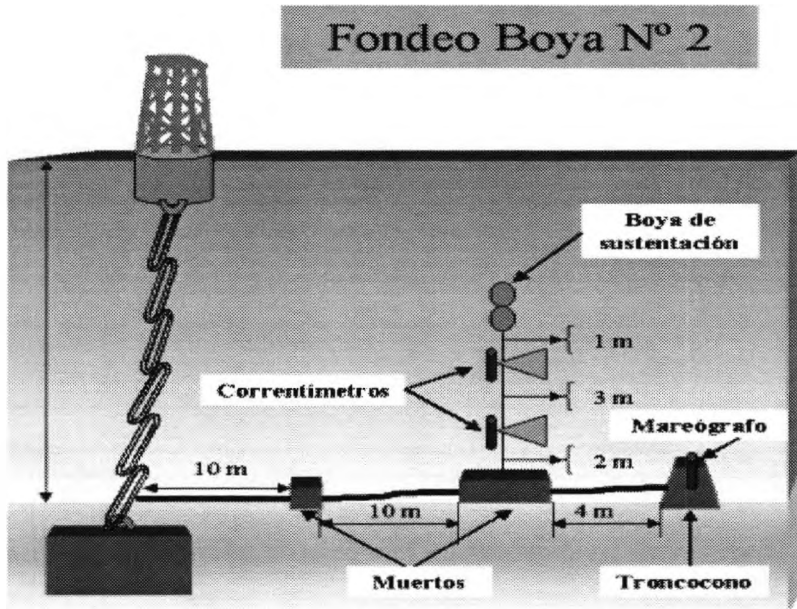


Figura 3. Esquema del fondeo de la boya n° 2, situada en Bonanza.

Este tipo de técnica de recolección de datos permite obtener series temporales de larga duración de las variables medidas, como se puede apreciar en la figura 4, donde se representa la variación de nivel del río en la zona del Yeso.

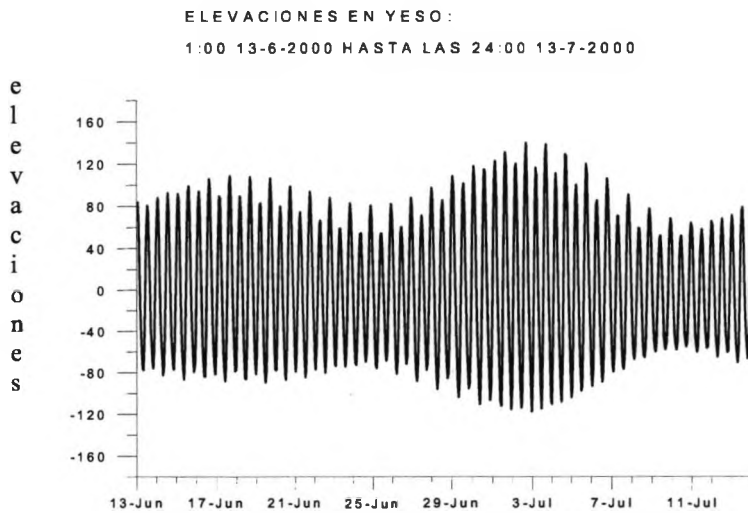


Figura 4. Serie temporal de las elevaciones (cm) en la estación del Yeso.

También ha sido necesaria la utilización de barcos como plataformas de medida. A modo de ejemplo se presenta en la figura 5 el perfilador acústico de corrientes doppler, que permite ir midiendo la velocidad de la corriente en toda la columna de agua a medida que el barco va navegando, obteniendo así una información complementaria de las series temporales de larga duración provenientes de los fondeos.

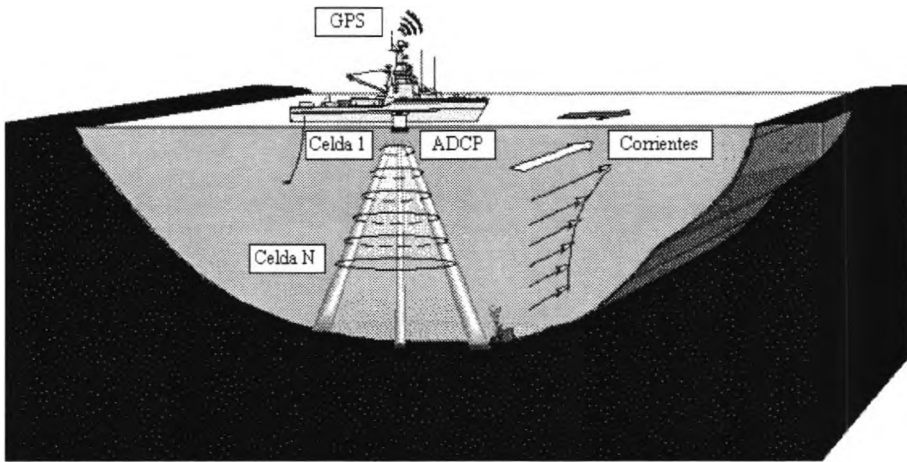


Figura 5. Perfilador Acústico de Corrientes Doppler (ADCP) de casco, sistema de medición que a partir del efecto doppler permite obtener un perfil de la velocidad de la corriente con la profundidad. En este caso, el doppler va instalado en el casco del barco y se obtiene el perfil desde la superficie hasta el fondo.

3. CARACTERÍSTICAS HIDRODINÁMICAS, SALINAS Y DE TRANSPORTE DE SEDIMENTO EN EL ESTUARIO DEL GUADALQUIVIR

Los procesos de erosión, transporte y deposición de sedimentos en regiones estuáricas están condicionados, fundamentalmente, por las condiciones hidrodinámicas y la naturaleza del sedimento. A continuación se describirán las

características fundamentales asociadas a la hidrodinámica de la zona, al transporte de sal y sedimento.

3.1. Características Hidrodinámicas

La región considerada del Río Guadalquivir se puede caracterizar como un canal con existencia de una pequeña franja anegadiza durante el ciclo de mareas en ambas orillas. El eje longitudinal del mismo presenta una suave curvatura, casi constante, de radio aproximado a los 9 Km. Dinámicamente se caracteriza por una preponderancia de las mareas. El río Guadalquivir representa el mayor curso fluvial de esta región. Su caudal de agua dulce medio, $113 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, que supone velocidades de la corriente medias no superiores a 5 cm^{-1} , está determinado por el clima mediterráneo, con veranos secos y cálidos e inviernos suaves. Sólo en periodos muy concretos, que ocurren con más frecuencia en invierno, se producen apreciables crecidas, con caudales máximos que rara vez alcanzan $350 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, mientras que en la mayor parte del año el caudal de agua dulce es muy pequeño, sin que exceda de $3 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$.

Las altas velocidades medias asociadas a la onda de marea, en torno a 1 m s^{-1} , respecto al pequeño flujo de agua dulce, convierten a la marea en el aspecto crítico y fundamental de su dinámica.

Los resultados hidrodinámicos, elevaciones y velocidades, obtenidos a través del estudio de los datos experimentales, así como de los resultados efectuados a través de la simulación numérica efectuada con los modelos numéricos desarrollados en el Departamento de Física Aplicada de la Universidad de Cádiz, se muestran en forma de amplitudes y fases de las elevaciones y velocidades asociadas al comportamiento principal, esto es, para una onda con características periódicas de 12.42 horas, denominada M2. Así, las amplitudes obtenidas son representativas de las elevaciones de la marea (alturas medias en cada punto del espacio) mientras que las diferencias de fases lo son de los retardos temporales relativos a la ocurrencia de la pleamar.

Las características generales obtenidas para la onda de marea muestran como la amplitud disminuye desde la desembocadura a medida que la onda penetra aguas

arriba. Por el contrario, la fase (o retardo) aumenta en el mismo sentido. La figura 6 muestra el comportamiento a lo largo del estuario para la amplitud y fase de la onda.

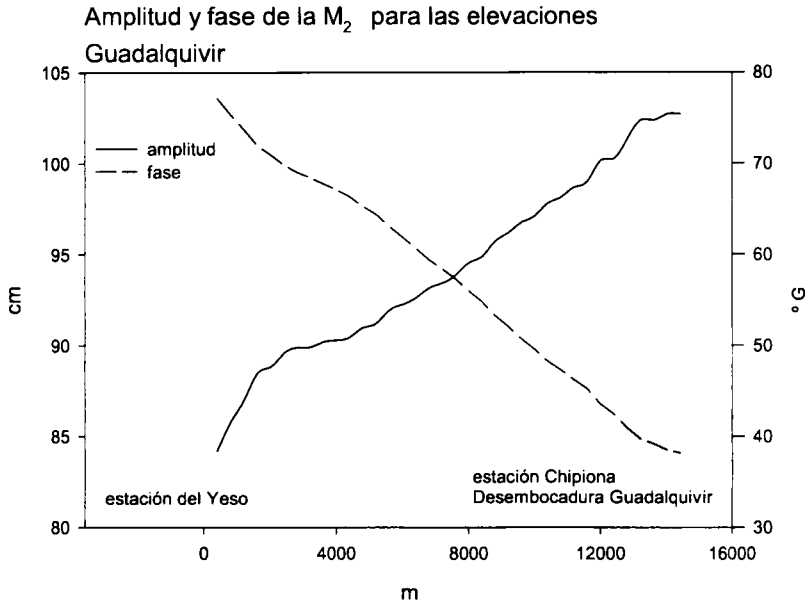


Figura 6. Amplitud (cm) y fase (grados Greenwich) de la onda M_2 a lo largo del Río, desde el Yeso hasta la desembocadura.

El comportamiento general de las velocidades a lo largo del río presenta gran variabilidad. Esto es debido a que las velocidades son función del área de cada sección y esta puede variar significativamente a lo largo del canal, como se muestra en la figura 7.

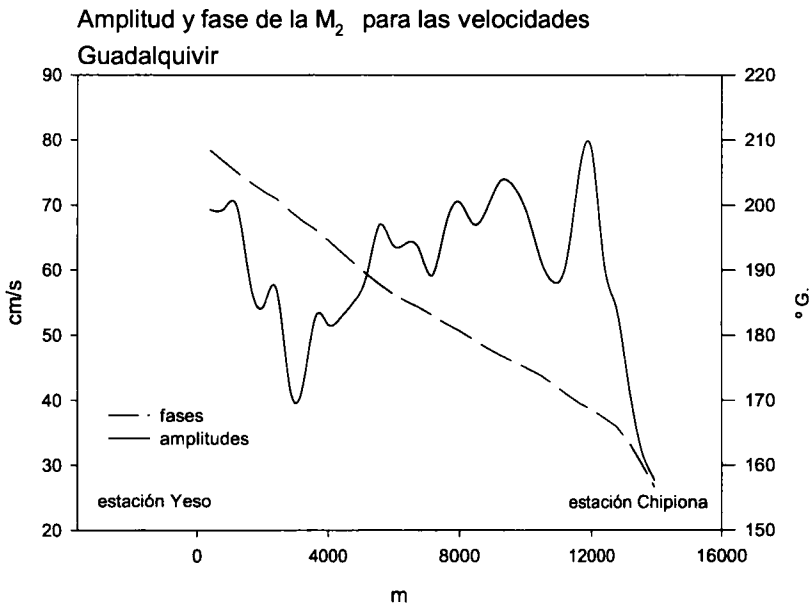


Figura 7. Amplitud (cm/s) y fase (grados Greenwich) de las velocidades a asociadas a la M_2 a lo largo del Río, en el tramo comprendido entre el Yeso y Chipiona.

De igual manera, las velocidades y niveles en el tramo del Guadiamar comprendido entre la bifurcación del Brazo de la Torre y Aguas Mínimas hasta su desembocadura en el Guadalquivir, se exponen en las figuras 8 y 9 respectivamente. A partir de las mismas se aprecia como la amplitud de la M_2 en el Brazo de la Torre decrece desde la conexión con el Guadalquivir hasta el extremo más interior. Este descenso es debido a la fricción que sufre la onda de marea en su propagación desde el río Guadalquivir hasta el Guadiamar. Como consecuencia de estos fenómenos de fricción, la fase aumenta en el mismo sentido que antes decrecía las amplitudes, lo que origina un desfase de 12 grados entre sus dos extremos (aproximadamente 25 minutos de retraso). Tanto las fases como las amplitudes presentan una curva más tendida en su extremo junto al Guadalquivir, donde el calado es mayor y los fenómenos de fricción son menores.

Para las velocidades, las amplitudes asociadas a la onda M_2 muestran que son mínimas en su conexión con el río Guadalquivir, debido a que en esta zona las secciones son máximas, como consecuencia de que el Brazo de la Torre se ensancha de forma muy acusada, junto con el aumento de profundidad. Aguas arriba, donde el cauce no ofrece cambios apreciables en las anchuras y profundidades, el comportamiento es más regular, disminuyendo a medida que se avanza en sentido hacia el Guadiamar, desde el primer estrechamiento, más cerca del extremo junto al río Guadalquivir, donde se obtiene las máximas velocidades.

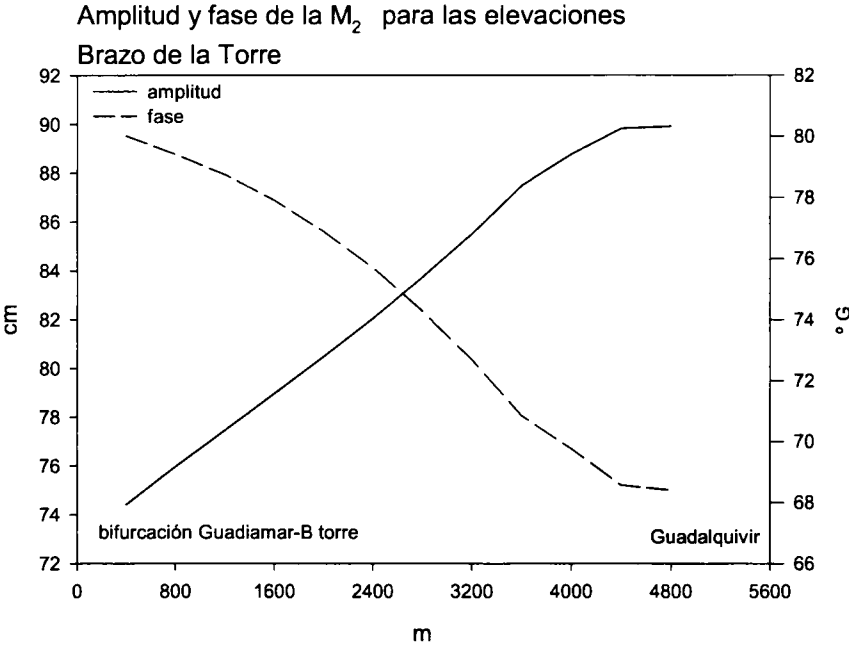


Figura 8. Amplitud (cm) y fase (grados Greenwich) para las elevaciones de la onda M_2 a lo largo del Brazo de la Torre. En abscisas, distancias referidas desde la bifurcación del Brazo de la Torre con el Guadiamar hasta la desembocadura en el Guadalquivir.

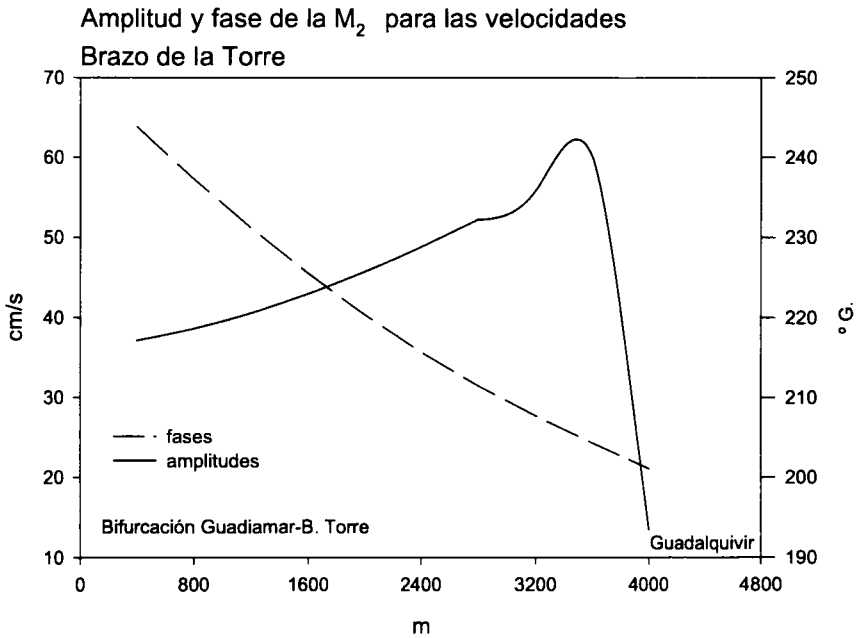


Figura 9. Amplitud (cm/s) y fase (grados Greenwich) para la velocidad de la onda M_2 a lo largo del Brazo de la Torre. En abscisas distancias referidas desde la bifurcación del Brazo de la Torre con el Guadamar hasta la desembocadura en el Guadalquivir.

3.2 Salinidad

La salinidad del agua constituye por sí misma una medida objetiva y precisa de las proporciones de agua oceánica y fluvial (en distintos puntos del río, a distintas profundidades y a diferentes horas), que proporciona una información esencial en el estudio de la dinámica de las masas de agua, y con ello, en el análisis del transporte a lo largo del cauce bajo del Guadalquivir.

Una primera interpretación del comportamiento de esta variable en la zona de estudio se obtiene al analizar las series registradas experimentalmente por la sonda CTD, que genera las series temporales de salinidad en función de la presión, (la presión está directamente ligada a la profundidad), y por tanto los perfiles verticales de salinidad.

Estos perfiles, promediados temporalmente, se presentan en la figura 10 para cuatro estaciones de control situadas a lo largo del. Se aprecia escasa variación de la salinidad con la profundidad, lo que permite admitir un perfil casi homogéneo, y por tanto no estratificado. Al mismo tiempo, es notable una disminución de salinidad desde la desembocadura (máxima salinidad), llegando a ser en la estación de Yeso inferior a 8.

La evolución temporal de salinidad presenta una oscilación con un periodo aproximado de doce horas debido a la onda de marea. En la figura 11 se ha representado para un ciclo de marea la salinidad (promediada verticalmente) en las estaciones de control de Bonanza y El Puntalete.

Si bien los propios datos observados aportan información relevante acerca de las características dinámicas de la pluma de intrusión salina, la simulación numérica de la dinámica asociada a la misma permite obtener una visión global del campo a lo largo de todo el dominio. En la figura 11 se ha representado la evolución temporal de la salinidad observada y la calculada mediante simulación numérica, y donde se deduce el excelente ajuste obtenido.

Complementariamente la figura 12, que representa el campo de salinidades medio en un ciclo de la onda obtenido numéricamente, permite apreciar las características espaciales de la pluma de intrusión salina. A la vista de la misma, la región deltaica próxima a la desembocadura mantiene valores cercanos a los medidos en agua pura de mar.

La pluma salina se deja notar con claridad aguas arriba hasta El Yeso, en donde la salinidad media se sitúa en torno a 2, con máximos valores de 8, que representa prácticamente características de agua dulce. Por encima de este punto aguas arriba, la intrusión de la pluma salina puede considerarse despreciable.

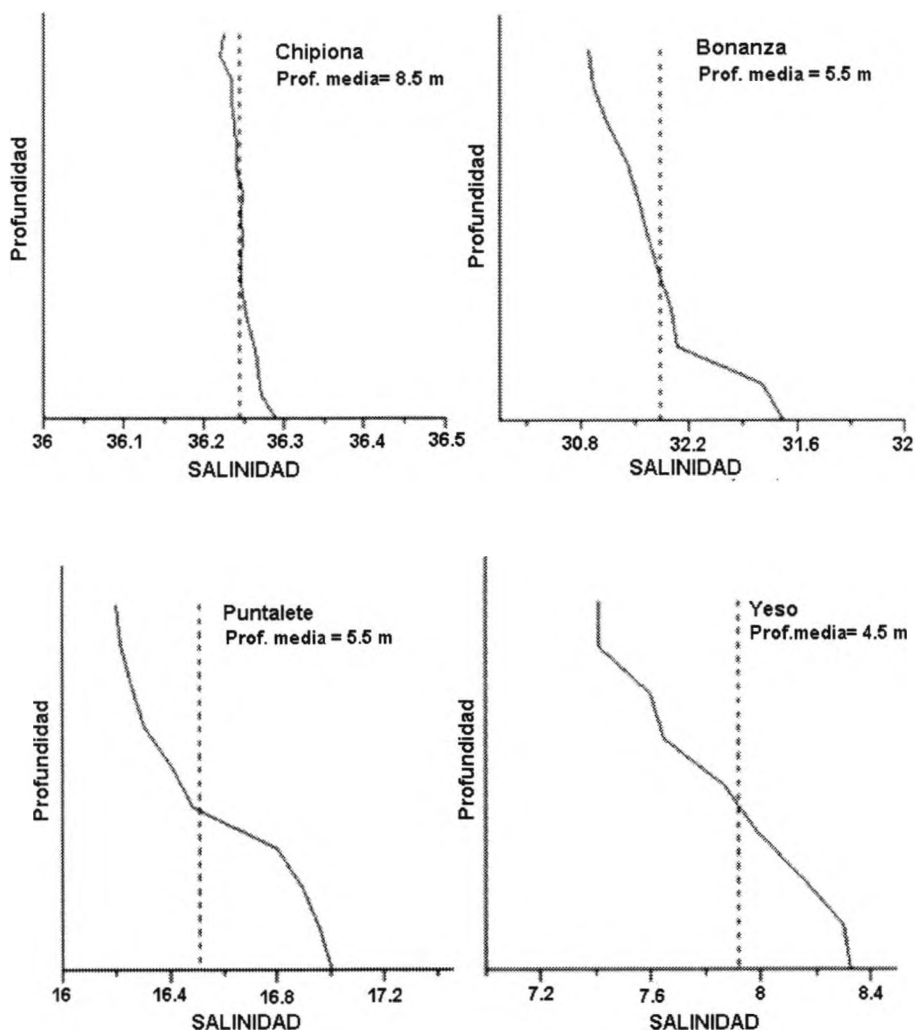


Figura 10. En esta figura se representan los perfiles promedio temporales de salinidades en las 4 estaciones referenciadas. Para apreciar mejor las pequeñas variaciones en la salinidad, cada una de las estaciones es representada con su propia escala de unidades en abscisas y en ordenadas.

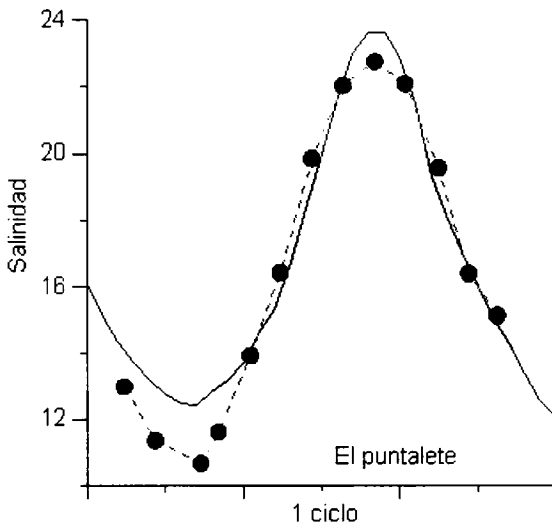
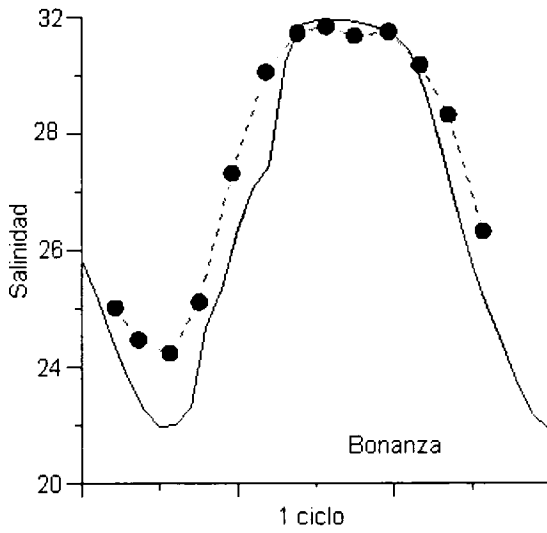


Figura 11 . Evolución temporal de la salinidad observada (línea discontinua) y calculada (línea continua) en las estaciones de control de Bonanza y El Puntalete.

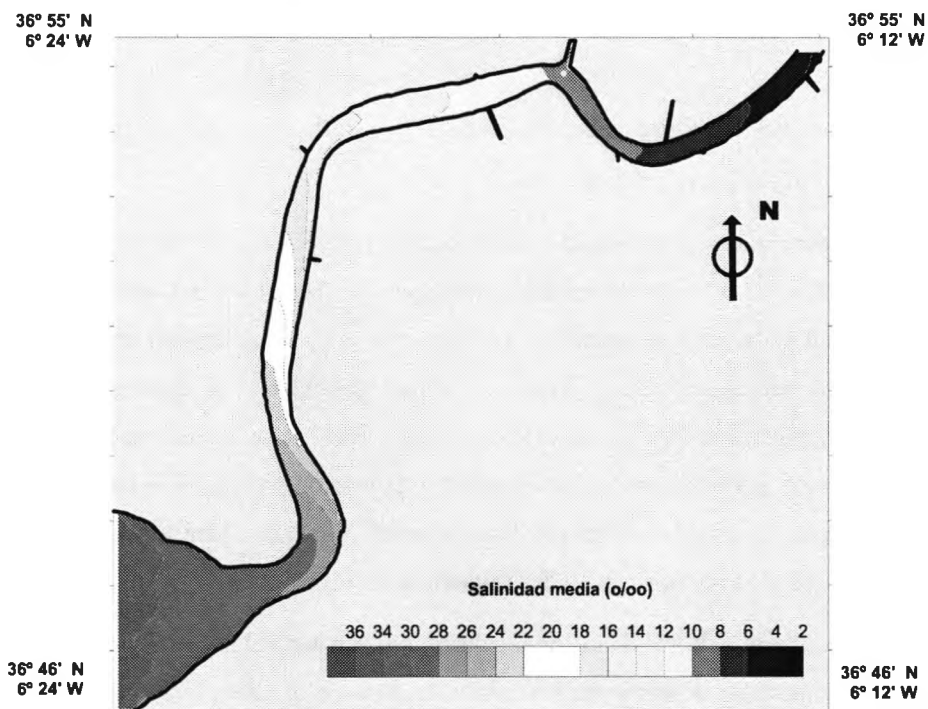


Figura 12. Distribución espacial media de salinidad en un ciclo de la onda.

3.3. Transporte de sedimentos

En recintos semicerrados, como es el estuario del Guadalquivir, las características del sedimento de fondo varían según las diferentes zonas, en virtud de sus peculiaridades hidrodinámicas. Así, existen áreas donde el sedimento predominante es fino de naturaleza cohesiva, mientras que en otras el sedimento es, principalmente, de naturaleza no cohesiva. Ambos tipos tienen dinámicas sedimentarias totalmente diferentes, por lo que no pueden ser tratadas de igual modo. Por esta razón, el sedimento de la región de estudio ha sido dividido en cuatro tipos característicos, de acuerdo con la fracción obtenida experimentalmente en diversas campañas de campo: sedimento muy grueso (no erosionable y, por tanto, con características estáticas); dos tipos de sedimento no

cohesivo con valores típicos observados de 190 y 250 μm respectivamente, y sedimento fino cohesivo, inferior a 60 μm .

Para la obtención de resultados, además de los datos observados, se ha simulado numéricamente el proceso de erosión, transporte y deposición del sedimento característico en la zona de estudio. Los diferentes tipos de sedimento han sido introducidos en el modelo numérico como fracciones en términos de porcentajes, considerando en cada celda los cuatro tipos de sedimento, cada uno con sus características propias. Las velocidades de erosión y deposición han sido parametrizadas dentro de los rangos habitualmente utilizados para obtener los mejores ajustes de los datos calculados respecto a los observados.

Los resultados han sido validados en los dos puntos de control no pertenecientes a las condiciones de contorno en los cuales se dispone de datos temporales de sedimento, obteniéndose excelentes ajustes entre los datos calculados y los obtenidos experimentalmente (figura 13).

Este comportamiento puede ser justificado por la fiabilidad de las concentraciones de sedimento en suspensión y las condiciones dinámicas de contorno asociadas a la elevación y velocidad, obtenidas experimentalmente a partir de series temporales de larga duración.

3.3.1 Concentración de sedimento en suspensión

La figura 14 representa las concentraciones totales medias en un ciclo de la onda para el sedimento en suspensión, más elevada aguas arriba (en las cercanías de El Yeso), alcanzando valores promedio de 280 mg/l. La zona de El Puntalete, cercana a la desembocadura de El Brazo de la Torre, presenta concentraciones medias en torno a 150 mg/l, decreciendo progresivamente hacia la desembocadura con mar abierto, en donde se obtienen valores promedio de 10 mg/l.

Es claro que estos valores deben ser considerados representativos en condiciones normales de escasas lluvias, tal y como es habitual en la zona de estudio, y como corresponde a la época en la que se registraron los datos experimentales. En las

escasas épocas de fuertes crecidas, estos valores pueden ser sustancialmente modificados, debido a los importantes cambios que sufre el régimen dinámico del estuario: mientras que en ausencia de lluvias la dinámica de marea es la que ejerce la mayor influencia, en época de crecida es el flujo de agua dulce el principal agente responsable de los procesos de erosión y transporte.

3.3.2 Erosión y deposición

Las zonas de erosión y deposición aparecen claramente delimitadas (figura 15). En ambos casos, aparecen zonas de importante erosión en los codos del río, que tienden a ser depositadas en las zonas situadas entre los mismos. La razón de este comportamiento debe buscarse en la menor sección que tiene cada uno de estos codos. Este fenómeno contribuye a que las velocidades de la corriente sean máximas en estos puntos, que se traducen en máximos efectos disipativos y, por ende, en procesos de máxima erosión. El fenómeno de la fuerte erosividad asociada a estos codos está en consonancia con la batimetría de la zona, que muestra la presencia de pozas en lugares coincidentes con las zonas de máxima erosión, así como en la distribución de sedimento de fondo, que muestra la presencia de sedimento más grueso en las mismas zonas. Este hecho también es coherente con las regiones tendentes a ser colmatadas en el estuario y sometidas a periódicos dragados, que son, precisamente, los tramos comprendidos entre los codos.

De acuerdo con los resultados del modelo numérico, los procesos erosivos podrían llegar a modificar cambiar la batimetría de la zona en 25 cm/año en las zonas de gran erosividad. No obstante, estos resultados deben ser considerados como estimativos, ya que los procesos erosivos en épocas de crecidas pueden tener una contribución adicional que aquí no está contemplada.

Otra característica relevante asociada al transporte y deposición de sedimento se muestra en la región cercana a la desembocadura. Aquí los procesos de transporte provocan una cierta deposición del sedimento proveniente aguas arriba, debido al brusco descenso de las velocidades en esta zona, asociado al importante aumento de la sección, según se desprende de la figura 15.

3.3.3 *Influencia del Brazo de la Torre*

Una de las ventajas fundamentales de los modelos de simulación numérica consiste en la flexibilidad de los mismos para estudiar el comportamiento de procesos aislados, cuya contribución se ve enmascarada por otros fenómenos que se producen simultáneamente. Este es el caso del proceso de erosión y sedimentación en el Estuario del Guadalquivir asociado al Brazo de la Torre. La dinámica sedimentaria de este canal de agua se halla encubierta por la dinámica general del Guadalquivir. No obstante, la simulación numérica de la dinámica sedimentaria del Brazo de la Torre de forma aislada permite obtener aproximaciones razonables al comportamiento dinámico del mismo. Este proceso se simuló como sigue. En el río se asumió que el único sedimento en suspensión era el que provenía del Brazo de la Torre, y fue obtenido como condición de contorno a partir de los registros experimentales en la frontera de conexión de El Brazo de la Torre con el Río Guadalquivir. Éste es susceptible de depositarse y erosionarse a lo largo del río, pero asumiendo en la nueva simulación que el único sedimento de fondo es el que se deposita en el lecho proveniente de El Brazo. Los resultados se presentan en las figuras 16, que representa la concentración media de sedimento en suspensión y 17, que representa la tasa de deposición neta de sedimento proveniente de El Brazo de la Torre.

La concentración media de sedimento en suspensión asociada al brazo permite examinar la pluma de sedimento generada por el mismo. Según muestran las figuras, ésta se extiende desde el Puntalete hasta el Yeso, con concentraciones medias en torno a 20 mg/l. Al comparar esta pluma con la concentración de sedimento total asociada al Guadalquivir, se observa que sólo en las inmediaciones de la confluencia del brazo con el Guadalquivir la contribución de sedimento asociada al Guadiamar es importante, mientras que en el resto del dominio es la dinámica del río la que prevalece sobre la del Brazo de la Torre.

Por otra parte, la distribución de sedimento depositado a lo largo del Guadalquivir (figura 17) proveniente de El Brazo de la Torre, indica como éstos tienden a depositarse en las zonas del río próximas a los contornos en las

inmediaciones de su desembocadura, con una zona de máxima deposición en la misma confluencia. El sedimento del brazo alcanza la desembocadura del Guadalquivir, aunque la tasa de deposición es despreciable (1 mm/año) respecto a la asociada con la dinámica general del Guadalquivir.

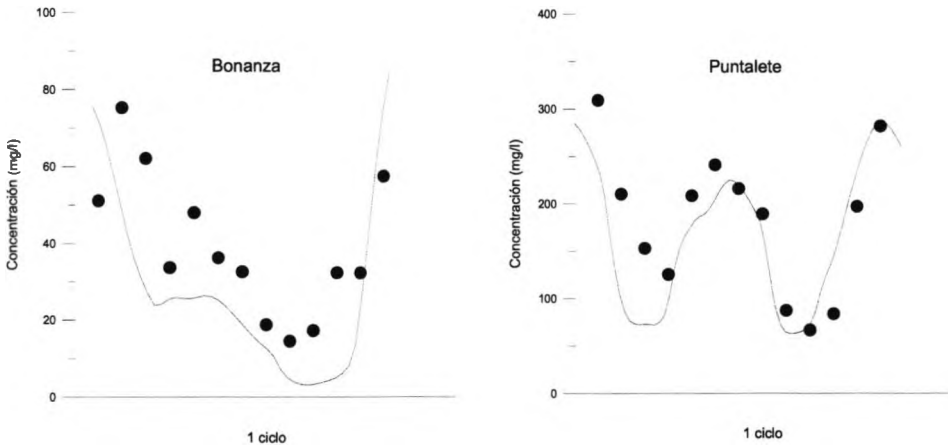


Figura 13. Concentración total de sedimento en suspensión (cohesivo y no cohesivo) observada (línea discontinua) y calculada (línea continua) en los puntos de control situados en Bonanza (izquierda) y Puntalete (derecha).

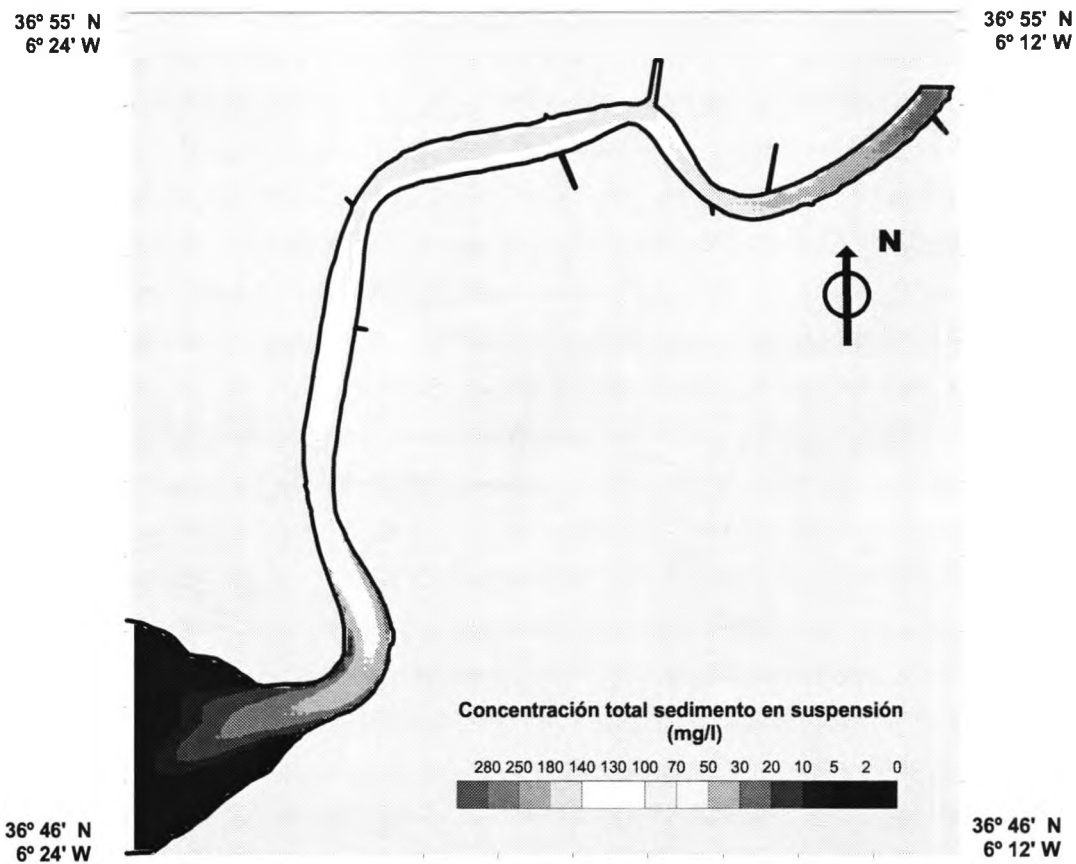
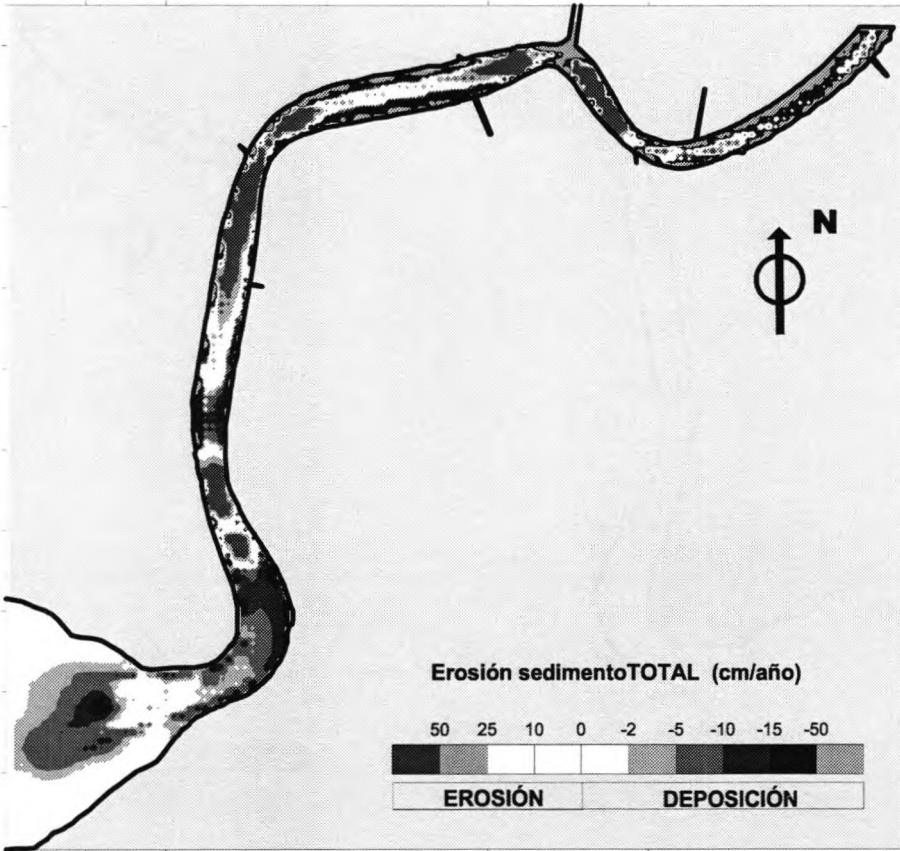


Figura 14. Concentración media total de sedimento en suspensión (cohesivo y no cohesivo), en mg/l, a lo largo de un ciclo de la marea.

36° 55' N
6° 24' W

36° 55' N
6° 12' W



36° 46' N
6° 12' W

36° 46' N
6° 24' W

Figura 15. Tasas medias de erosión (valores positivos) y deposición (valores negativos), en cm/año, asociadas al sedimento total (cohesivo y no cohesivo).

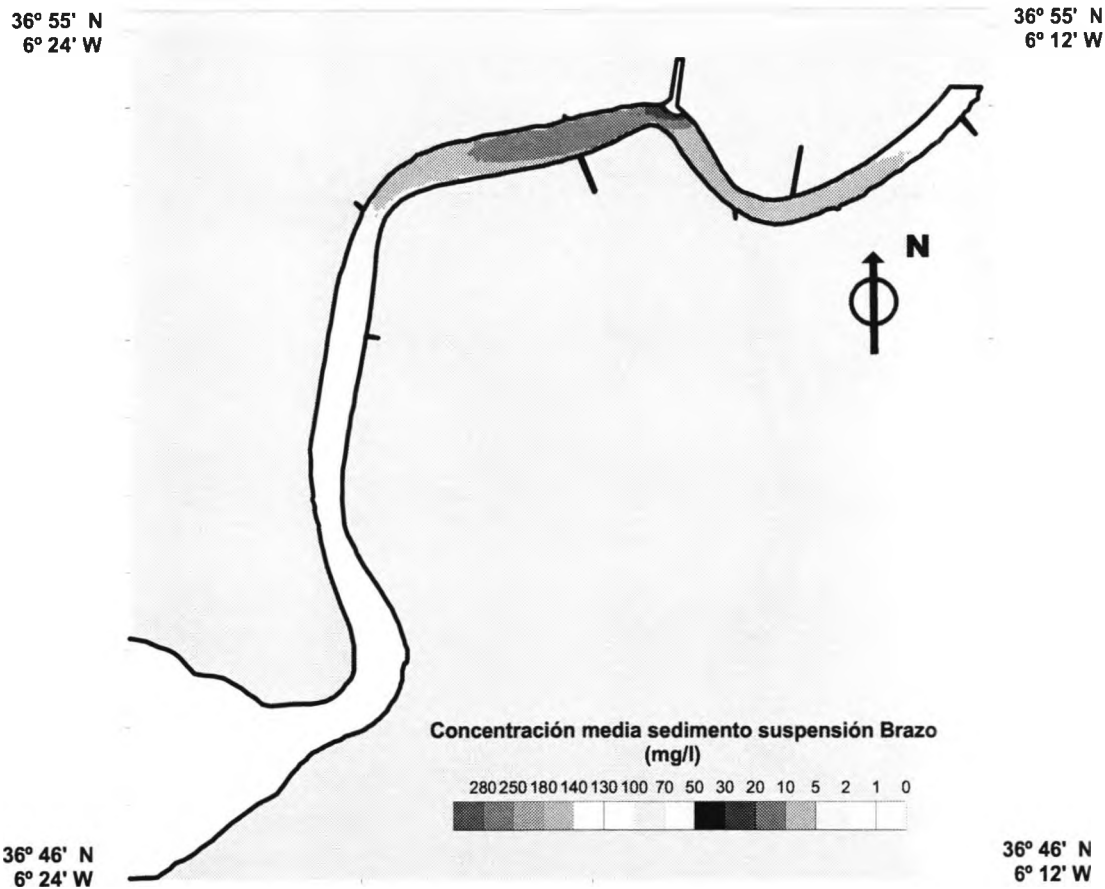


Figura 16. Concentración media de sedimento total en suspensión (cohesivo y no cohesivo), en mg/l, a lo largo de un ciclo de la marea, debido exclusivamente al sedimento proveniente de El Brazo de la Torre.

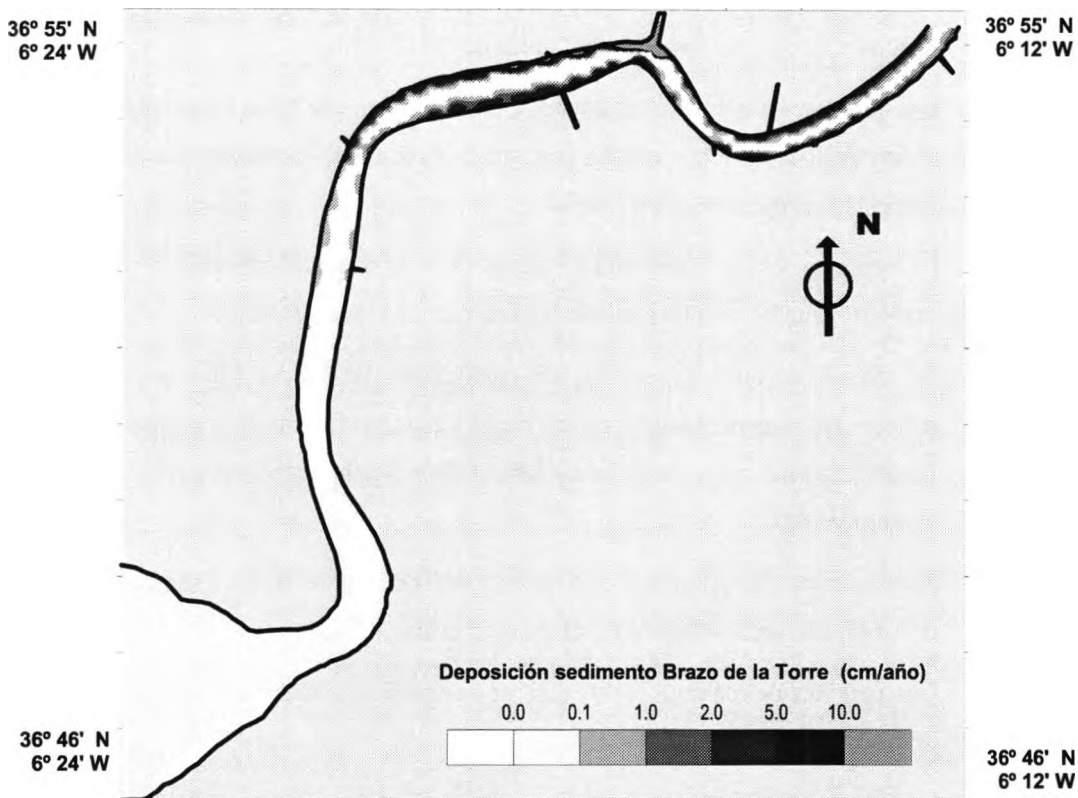


Figura 17. Deposición de sedimento total (cohesivo y no cohesivo), en cm/año, debido exclusivamente al sedimento proveniente de El Brazo de la Torre.

4. CONCLUSIONES

De todo lo que antecede, pueden extraerse las siguientes conclusiones:

- La dinámica de corrientes en el Estuario del Guadalquivir está condicionada, en ausencia de crecidas, por la onda de marea proveniente de mar abierto. En concreto, las velocidades asociadas a la onda de marea exceden 0.8 m/s, mientras que las asociadas al flujo de agua dulce no son superiores a 0.1 m/s.

- La onda de marea en el interior del cuerpo tiene un marcado carácter semidiurno, con una periodicidad típica de 12,42 horas.
- Las corrientes máximas asociadas a la onda de marea se encuentran en los codos del río, en torno a 1m/s que representan zonas de menor sección respecto a su dominio adyacente.
- El estuario, debido a sus características salinas, puede clasificarse como verticalmente homogéneo en ausencia de fuertes precipitaciones.
- La pluma de intrusión salina, en condiciones de escasa pluviosidad, penetra aguas arriba hasta la región de El Yeso. Por encima de este punto, la salinidad del agua puede considerarse despreciable desde el punto de vista dinámico.
- La dinámica de marea en el Estuario del Guadalquivir condiciona el transporte de sedimentos en ausencia de crecidas.
- Las regiones de máxima erosividad se encuentran situadas en los codos de los ríos.
- Las áreas de máxima deposición se hallan en las porciones situadas entre cada uno de estos codos.
- La dinámica sedimentaria en el Río Guadalquivir asociada a El Brazo de La Torre tiene una escasa contribución relativa respecto a la dinámica sedimentaria global del Guadalquivir. Sólo en la confluencia del brazo con el Río la pluma procedente del Brazo de la Torre se deja observar con claridad.

5. BIBLIOGRAFÍA UTILIZADA

- Abbott M.B., Computational Hydraulics: Elements of the Theory of Free Surface Flows. Pitman Pub. Ltd., London, 1979, 326 pp.
- Álvarez, O. 1999. Simulación numérica de la dinámica de marea en la Bahía de Cádiz análisis de las constituyentes principales, interacción marea-brisa e

influencia del sedimento en suspensión. Tesis Doctoral. Departamento de Física Aplicada. Universidad de Cádiz. 222 pp

Alvarez, O., Tejedor, B., Tejedor, L. 1997. Simulación hidrodinámica en el área de la Bahía de Cádiz. Análisis de las constituyentes principales. IV Jornadas Españolas de Ingeniería de Costas y Puertos. Servicio de Publicaciones de la Universidad Politécnica de Valencia- 98. 2125, pp. 125-136

Batchelor G. K., An Introduction to Fluid Dynamics. Cambridge University Press, 1967, pp. 615.

Cunge J., Holly F., Practical Aspects of Computational River Hydraulics, Pitman Pub. Ltd., 1980, pp. 420.

Lighthill J., Waves in Fluids Cambridge University Press, 1978, 504 pp.

Soulsby, R.L. and Wainwright B.L.S.A. 1987 A criterion for the effect of suspended sediment on near-bottom velocity profiles. *Journal of Hydraulic Research* 25, 341-355.

Vidal, J.M. 2002. Caracterización dinámica de la marea y del sedimento en el sistema intermareal del Caño de Sancti Petri. Tesis Doctoral. Departamento de Física Aplicada. Universidad de Cádiz. 190 pp



**Corredor Verde
del Guadamar**



UCA

Universidad
de Cádiz



JUNTA DE ANDALUCIA

Consejería de
Medio Ambiente

ISBN 847786653-8



9 788477 866534