

**HEXAÇLORO BENZÈ A SIDNEY:
ESTUDI DE BIOREMEIACIÓ I PERCEPCIÓ SOCIAL**



Itziar Müller Aguilar
Director: Dr. Ernest Marco Urrea
Llicenciatura de Ciències Ambientals
Juny 2014

AGRAÏMENTS

En primer lloc vull agrair al Dr. Ernest Marco Urrea per dirigir-me el projecte, per ajudar-me a estructurar-lo i per la seva paciència i dedicació en la correcció del treball, però, sobretot, per transmetre'm la seva passió per la bioremeiació i haver-me obert les portes a aquest camp tan interessant de la ciència.

Pel que fa a la meva estància a la University of New South Wales de Sidney, vull agrair, primer de tot, al Dr. Matt Lee, per haver-me introduït el problema del magatzem de residus de HCB a Sidney i per la seva ajuda al laboratori, tan pel que fa a Leipzig com a Sidney. També dono les gràcies al Dr. Mike Manefield per haver-me acceptat al seu laboratori com a voluntària i haver-me donat llibertat per descobrir Austràlia. Voldria agrair també al meu supervisor Ricardo Alfán, per ajudar-me en tot moment i facilitar-me la feina i a tot l'equip de laboratori de Sidney i en especial a Valentina Wong Yie Kuan pel seus consells, la seva energia positiva i companyia en les tardes de laboratori. Finalment, voldria agrair pel suport moral a la meva gran família de companys de pis i amics, i en especial a Diana Sánchez Espinoza, per la seva col·laboració en l'estudi social.

Pel que fa a les pràctiques realitzades al Helmholtz Zentrum für Umweltforschung - UFZ de Leipzig (Alemanya), vull agrair especialment i de tot cor al Dr. Lorenz Adrian, per acceptar-me al seu laboratori, per donar-me la oportunitat d'aprendre tot el que avui dia sé sobre bioremeiació i per haver-me donat suport econòmic durant part de la meva estància a Leipzig. També, agraeixo amb molta estima al meu supervisor Hoa Duan Tran, pel seu temps, per compartir tots els seus coneixements i per la seva paciència i bondat incomparables. Finalment, vull agrair a l'excel·lent tècnic de laboratori Benjamin Scheer per la seva disposició incondicional per ajudar, però també a tots els meu companys de laboratori i amics.

Aquest treball no hagués estat possible sense el suport del programa Propi Pràctiques de la UAB i del programa Erasmus Pràctiques de la Unió Europea.

ÍNDEX

1. INTRODUCCIÓ.....	1
1.1. Situació geogràfica.....	2
1.2. Característiques de la zona d'estudi.....	3
1.2.1. Característiques del medi físic.....	3
1.2.2. Característiques del medi social.....	5
1.3. Episodis de contaminació protagonitzats per Orica.....	7
1.3.1. Contaminació per organoclorats.....	7
1.3.2. Contaminació per mercuri.....	9
1.4. El magatzem de residus de HCB.....	10
1.4.1. Origen.....	10
1.4.2. Composició.....	11
1.4.3. Regulació nacional i internacional.....	13
1.4.4. Necessitat de tractament.....	14
2. JUSTIFICACIÓ.....	19
3. OBJECTIUS.....	20
4. MATERIALS I MÈTODES.....	21
4.1. Estudis amb la soca <i>Dehalococcoides mccartyi</i> CBDB1.....	21
4.1.1. Tècniques de cultiu.....	21
4.1.2. Tècniques analítiques.....	27
4.1.3. Microscòpia de fluorescència.....	28
4.2. Estudi de percepció social.....	30
4.2.1. Definició de la població d'estudi.....	30
4.2.2. Càlcul de la mida de la població.....	31
4.2.3. Mètode de recollida d'enquestes.....	36
4.2.4. Disseny i descripció de l'enquesta.....	36
4.2.5. Tractament de les dades.....	37
5. RESULTATS I DISCUSSIÓ.....	38
5.1. Estudi de toxicitat del HCB.....	38
5.1.1. Estudi de la interacció entre HCB i HCB.....	38
5.1.2. Creixement de la soca CBDB1 amb HCB.....	39
5.1.3. Degradació abiòtica de HCB.....	42
5.2. Estudi observacional.....	46
5.2.1. Resultats de les enquestes.....	46

5.2.2. Conclusions de l'anàlisi d'enquestes.....	53
5.2.3. Crítiques de la metodologia.....	54
5.2.4. Altres resultats.....	54
6. CONCLUSIONS.....	56
7. REFERÈNCIES.....	57
8. PRESSUPOST.....	62
9. PROGRAMACIÓ.....	63

1.INTRODUCCIÓ

El següent estudi tracta del magatzem d'hexaclorobenzè (HCB) més gran del món, propietat de l'empresa multinacional Orica i situat al parc industrial de Botany, al sud de Sidney (Austràlia).

Orica és una multinacional amb més de 14.500 empleats arreu del món i un balanç positiu anual de 4.000.000.000 de dòlars australians, sent l'empresa més gran de la regió de Nova Gal·les del Sud (NSW) i la més important del món quant a subministrament d'explosius comercials per mineria i construcció i de producció de de cianur de sodi per l'extracció d'or.

Orica té el seu origen en l'empresa Jones, Scott and Co., formada fa 130 anys per a la producció d'explosius durant la febre d'or a Austràlia. La companyia va ser comprada per Nobel Industries, i més endavant, es va unir a altres indústries químiques britàniques per formar Imperial Chemical Industries (ICI). Al 1928, es va formar Imperial Chemical Industries of Australia and New Zealand (ICIANZ), amb seu a Sidney, per gestionar els interessos de ICI Plc relacionats amb Austràlia i Àsia.

Més endavant, al 1942, Imperial Chemical Industries of Australia and New Zealand (ICIANZ) va començar a produir compostos químics que s'havien deixat d'importar de les potències europees a causa de la segona guerra mundial. En acabar la guerra, l'empresa va seguir creixent i produint productes químics tant per aplicació domèstica com industrial, alguns d'ells plàstics i solvents que en el procés generaven subproductes com ara el HCB. Així doncs, la producció de HCB a Sidney va començar al voltant del 1963 i no va aturar-se fins el 1991, provocant que, en aquests quasi 30 anys, s'arribessin a acumular prop de 15.000 tones d'aquest compost altament tòxic i persistent, les quals encara segueixen emmagatzemades a la indústria.

A més a més, com a causa de la manca de regulació ambiental de l'època, es van contaminar greument sòls i aigües subterrànies de la zona, la qual cosa va provocar que, al 1998, l'accionista majoritària ICI Plc renunciés a les seves accions i es canviés el nom de l'empresa a Orica Ltd.

Actualment, la indústria Orica de Sidney (Orica Botany) ja no produeix compostos tòxics i ha cedit quasi totes les seves línies de producció a les indústries Qenos i Hunstman Chemical Company, amb les quals comparteix el parc industrial de Botany. Així doncs, la seva producció es basa exclusivament en la ChlorAlkali Plant, una planta de producció de clor, sosa càustica i hidrogen a partir de sal i aigua mitjançant un procés electrolític. El clor produït a la planta és utilitzat posteriorment per a la manufactura d'àcid clorhídric, hipoclorit de sodi i clorur de ferro, com es veu a la figura 1A.

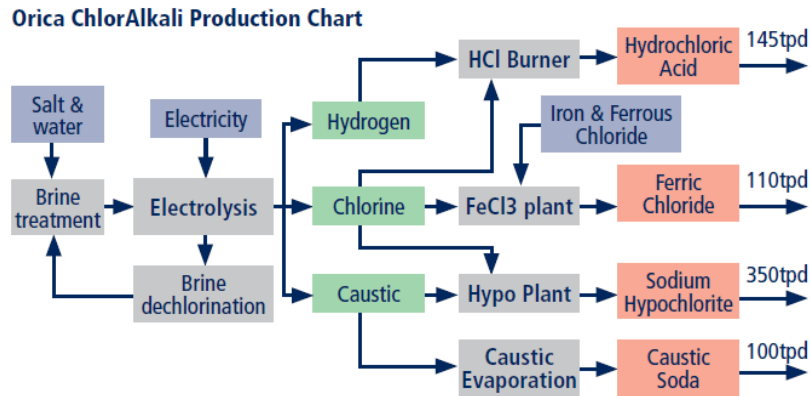


Fig.1A. Esquema del procés productiu d'Orica Botany. Font: www.orica.com

A la següent taula es poden veure les diferents activitats productives que Orica posseïa, els seus productes i, si la línia de producció encara existeix, el seu propietari actual.

Taula 1A. Cronologia dels processos productius d'Orica. Font: informació donada durant la visita guiada a Orica.

<p>1942-1959: Disulfur de carboni CS₂</p> <p>1940-1991: Solvents clorats (TCE,PCE, CTC) amb subproductes HCB i altres CHCs (former Solvents Plant)</p> <p>1940s - actualitat (Huntsman): Surfactants com èters de glicol, silicats, amoni/urea, etc.</p> <p>1944-2002: Former ChlorAlkali Plant (utilitzava mercuri)</p> <p>1950-2001: PVC (via EDC, VC i intermediaris)</p> <p>1957- actualitat (Qenos): Poliolefines (polietilè, polipropilè)</p> <p>1966 - actualitat (Qenos): Olefines (etilè, propilè)</p> <p>2002-actualitat (Orica): nova ChlorAlkali Plant (tecnologia de membranes, sense mercuri)</p>
--

A banda de la planta de producció, Orica Botany compta amb una planta de tractament d'aigua subterrània i el gran magatzem de residus de HCB, que s'expliquen a capítols següents.

1.1.Situació geogràfica

Orica Botany està situada al parc industrial de Botany, a Sidney (Nova Gal·les del Sud, Austràlia). El parc industrial de Botany es troba al sud de Sidney, a 10 km del centre de la ciutat. Està envoltat dels barris residencials de Botany, Banksmeadow, Hillsdale, Pagewood, Maroubra, Eastgardens i Matraville, l'aeroport i la badia de Botany (veure mapa 1 de l'annex). El parc industrial té 70 Ha de superfície on hi operen tres companyies: Orica, Huntsman Chemical Company i Qenos.

A continuació es mostra un mapa de situació del parc industrial de Botany (BIP) a Sidney (fig.1B).



Fig.1B. Mapa de situació del parc industrial de Botany a Sydney.

1.2.Característiques de la zona d'estudi

En aquest apartat s'expliquen les característiques de la zona d'estudi, d'una banda, des del punt de vista social i de l'altra, ambiental.

1.2.1.Característiques del medi físic

1.2.1.1.Climatologia

El clima de Sydney és subtropical humit, d'hiverns suaus i estius càlids. És un clima temperat per la influència de l'Oceà Pacífic i la mitjana de precipitacions és de 1577 mm, les quals es produeixen sobretot a l'estiu. Les temperatures màximes de l'hivern ronden els 16°C i les de l'estiu els 26°C, sent gener el mes més càlid i juliol el més fred. La ciutat es veu afectada pel fenomen del Niño, que fa que alguns anys siguin secs, amb probabilitats altes d'incendis forestals, i d'altres molt humits, com a conseqüència del fenomen oposat de la Niña.

1.2.1.2.Geologia

Segons el mapa geològic de la regió de Sydney adjuntat als annexos (mapa 2), la zona d'estudi està formada per gresos del Terciari a 20-40 metres de profunditat coberts per sediments marins del Quaternari. Aquests sediments marins estan compostats per sorres fines permeables, no consolidades o parcialment consolidades amb intercalació de capes de materials al·luvials com la torba. Els sòls de la zona de Botany estan constituïts per sediments eòlics.

1.2.1.3.Hidrogeologia subterrània

L'aqüífer de Botany, situat a la mateixa àrea geològica, s'estén des del centre fins a la Badia de Botany. És un aquífer de recàrrega pluvial, amb una enorme capacitat de contenció aproximada en 300 litres per metre cúbic de sorra i amb una conductivitat hidràulica de 20 m/dia. Aquest aquífer constituïa la principal font de subministrament d'aigua de Sidney durant el segle XIX. Segons estudis d'Orica i de la Oficina d'Aigües del Departament de Industries Primàries de l'estat sobre la hidrogeologia de la zona, la permeabilitat de les sorres de l'aqüífer i el seu alt nivell freàtic el fan altament vulnerable a la contaminació. En alguns punts el nivell freàtic arriba a la superfície, formant els aiguamolls de Botany.

D'altra banda, segons dades d'un estudi del Departament de Geociència d'Austràlia, el fet que a la zona de Botany, a diferència de tota la resta de Sidney, el material geològic siguin sediments no consolidats i que el nivell freàtic sigui alt, fa que aquesta zona sigui especialment vulnerable en cas de produir-se un terratrèmol, ja que propagaria molt bé les ones i es podria patir liquèfacció, fenomen que podria causar grans pèrdues, ja que la zona es troba envoltada d'àrees residencials d'alta densitat, l'aeroport i grans industries com Orica. Segons aquest òrgan, tot i que Austràlia es troba lluny dels límits de plaques tectòniques, l'activitat sísmica és més probable que en altres països situats en plaques continentals, motiu pel qual se n'hauria de gestionar el risc.

1.2.1.4.Hidrogeologia superficial

El drenatge natural de la zona està format per dos canals. D'una banda, el Springvale Drain, que recull les aigües pluvials de les zones sud est, incloent les del parc industrial de Botany, i descarrega a l'estuari de Penrhyn (estuari format al 1970 com a causa de la construcció del port de Botany) i, d'altra banda, el Floodvale Drain, que recull les aigües de les zones del sud oest, i les porta al mateix estuari. La situació d'aquests canals es troba al mapa 1 de l'annex.

1.2.1.5.Valor ecològic de la zona

El parc industrial d'Orica es troba envoltat per zones d'alt valor ecològic. D'entre aquestes, destaquen els aiguamolls de Botany i l'estuari de Penrhyn, dels quals se'n mostra la situació geogràfica al mapa 1 de l'annex.

D'una banda, els aiguamolls de Botany es troben al nord del polígon industrial BIP i constitueixen el sistema d'aiguamolls costaners d'aigua dolça més gran de l'àrea metropolitana de Sidney. Segons la companyia Aigües de Sidney, aquests formen un important refugi per a dues comunitats vegetals regionals, conegudes com a Sydney Freshwater Wetlands i Eastern Suburbs Banksia Scrub. Aquestes comunitats poc habituals s'han considerat d'importància estatal i s'inclouen a la llista de comunitats ecològiques en perill d'extinció del Threatened species conservation act 1995 (NSW). La Eastern Suburbs Banksia Scrub està, a més a més, protegida també per el Environmental Protection and Biodiversity Conservation Act 1995.

D'altra banda, es creu que aquests aiguamolls formen part de l'hàbitat d'animals nadius d'interès i actuen com a corredors ecològics. A més a més, suposen la major font de recàrrega de l'aqüífer de la zona, fet que els fa imprescindibles en el manteniment del cabal ecològic.

Per tots aquests motius, els aiguamolls de Botany són reconeguts com uns dels més significatius d'Austràlia per la Commonwealth Government's Directory of Wetlands. L'extensió dels aiguamolls, però, s'ha reduït progressivament com a causa dels drenatges pluvials construïts. Així doncs, mentre que a l'inici del 1880 s'estenien des de la badia de Botany fins al centre de Sidney, ocupant tota l'extensió de l'aqüífer, avui dia tan sols ocupen una petita part d'aquest i, per aquest motiu, al 2003 se'n va dissenyar un pla de gestió.

L'estuari de Penrhyn, des que es va formar al 1970, s'ha anat desenvolupant fins a constituir un ecosistema rellevant en la conservació d'espècies amenaçades. La vegetació de l'estuari, basada en la maresma, diversos tipus d'algues marines i la presència de planes intermareals són ideals per a moltes espècies de flora i fauna, algunes de les quals estan incloses en programes de conservació. De fet, aquest estuari és l'únic hàbitat que queda per a les aus migratòries que, antigament, es distribuïen per tota la badia de Botany. Segons dades de Ports de Sidney, les principals aus amenaçades que es troben a la zona són el tètol cuabarrat (*Limosa lapponica*), el territ gola-roig (*Calidris ruficollis*), el *Charadrius bicinctus*, el territ beclarg (*Calidris ferruginea*), el territ acuminat (*Calidris acuminata*), el territ gros (*Calidris canutus*) i la daurada petita del Pacífic (*Pluvialis fulva*). Tot i això, durant els últims anys, l'estuari s'ha vist afectat per l'arribada d'aigües pluvials contaminades de la zona urbana i industrial, s'han detectat compostos tòxics als sediments, han proliferat les males herbes, la vegetació d'ambients degradats i els manglars. Per tot això, s'ha creat un pla de millora de l'hàbitat de l'Estuari de Penrhyn, que inclou l'eliminació dels manglars i la creació d'espais favorables per a les aus.

1.2.2. Característiques del medi social

Com ja s'ha explicat, el parc industrial de Botany està envoltat d'àrees residencials d'alta densitat i els barris que la formen són Banksmeadow, Hillsdale, Pagewood, Maroubra, Eastgardens i Matraville. Tots aquests barris es van començar a construir al 1950 com a causa del creixement de la població. Fins llavors, tota la zona de Botany havia estat zona industrial. A l'annex s'adjunten un mapa de situació (mapa 1) i un mapa d'usos del sòl actual de la zona (mapa 3).

A continuació es descriuen les característiques socioeconòmiques i de tipologia d'habitatge dels diferents barris de la zona. Les dades s'han extret de l'Autralian Bureau of Statistics.

1.2.2.1. Hillsdale

Segons el cens de 2011, a Hillsdale hi viuen 4.977 persones. En aquest barri, el 38,5% de la gent parla només anglès a casa, el 9,4% parla bengali, el 5% espanyol, el 4,9% cantonès, el 4,3 % assiri neo-aramaic i el 3,6% xinès mandarí. La mitjana d'edat és de 33 anys i les professions

més comuns són les d'administratius (16,4%), professionals (14,4%), tècnics i comerciants (13,5%), venedors (12,5%) i treballadors dels serveis socials (11,7%).

Pel que fa al tipus d'habitatges, el 6,6% són cases unifamiliars, el 6,8% cases aparellades i el 86,7% pisos o apartaments. La renda mitjana es troba al voltant dels 335 \$ per setmana, per sobre de la mitjana de l'estat de Nova Gal·les del Sud (330 \$) i d'Austràlia (285\$).

1.2.2.2.Botany

Segons el cens de 2011 a Botany viuen 8.884 persones. La mitjana d'edat és de 37 anys. El 70,1 % de la gent parla només anglès a casa, el 2,5% parla grec, el 2,2% espanyol, el 1,4% italià, el 1,4% indonesi i el 1,4% cantonès. Les ocupacions principals de la gent són professionals (20,1%), administratius (19,1%), gerents (13,2%), tècnics i comerciants (12,9%) i treballadors dels serveis socials (10,1%).

El 40,9% dels habitatges són unifamiliars, el 29,7% cases aparellades, el 27,5% pisos i apartaments i el 1,2% altres tipus d'habitatge. La renda mitjana és 350 \$ setmanals, per sobre de la mitjana de Nova Gal·les del Sud i d'Austràlia.

1.2.2.3.Pagewood

Pagewood té 3.643 habitants. La mitjana d'edat és de 41 anys. A Pagewood, el 61,1% de la gent només parla anglès a casa. Altres llengües parlades a casa són el grec (10%), l'italià (2,6%), l'espanyol (2,3%) i el mandarí (2,3%). Les professions més usuals són els professionals (23,2%), els administratius (18,3%), els gestors (15,6%), els tècnics i comerciants (12,4%) i els venedors (9,7%),

Els habitatges són cases unifamiliars (77,3%), cases aparellades (8,2%) i apartaments o pisos (14,5%). La renda mitjana és de 250 \$ la setmana, inferior a la mitjana de Nova Gal·les del Sud i d'Austràlia.

1.2.2.4.Banksmeadow

Es tracta d'un barri industrial que inclou el Parc Industrial de Botany. Al 2011, els habitants de la zona eren 12 persones, tots ells homes, d'edat mitjana 64 anys. La renda mitjana és de 320 \$ per setmana.

1.2.2.5.Matraville

El barri de Matraville té 9.039 habitants. La mitjana d'edat és 40 anys. El 63,7% només parla anglès a casa. Altres llengües parlades a casa són el cantonès (4,8%), el grec (3,2%), el mandarí (2,9%), el italià (2,5%) i l'espanyol (2,4%). Les professions més comuns són els professionals (20%), els administratius (19%), els tècnics i comerciants (13,1%), els gestors (11,7%) i els venedors (11%).

El 57,4% dels habitatges són cases unifamiliars, el 25,6% són cases aparellades, el 16,5% pisos o apartaments i el 0,2% altres tipus d'habitatges. La renda mitjana és de 310 \$, més alta que la de Nova Gal·les del Sud i d'Austràlia.

1.2.2.6. Eastgardens

A Eastgardens hi viuen actualment 808 persones. La mitjana d'edat és de 43 anys. De la població, el 53,5% només parla anglès a casa. Altres llengües parlades a casa són el grec (8,5%), el indonesi (4,6%), el mandarí (3,5%), l'espanyol (3,1%) i el italià (2,7%). Les professions més habituals són les de professionals (21,2%), administratius (21,2%), treballadors dels serveis públics (21,2%), tècnics i comerciants (10,4%) i venedors (10,4%).

El 84,2% dels habitatges són cases unifamiliars, el 5,9% són aparellades i el 9,9% pisos o apartaments. La renda mitjana és 275 \$ per setmana, més baixa que la mitjana de l'estat i d'Austràlia.

1.2.2.7. Maroubra

A Maroubra hi viuen 29.594 persones. La mitjana d'edat és de 36 anys. El 55,9% de la població només parla anglès a casa. Altres llengües parlades són el grec (5,7%), el cantonès (5,3%), el mandarí (4,5%), el indonesi (3,4%) i el rus (2%). Les professions més exercides són les de professionals (31,2%), administratius (16,4%), gestors (13,6%), tècnics i comerciants (10%) i treballadors dels serveis socials (9,9%).

El 32,8% dels habitatges són unifamiliars, el 21,2% són cases aparellades, el 45,6% són pisos o apartaments i el 0,3% altres tipus d'habitatges. La renda mitjana és de 430 \$ la setmana, molt més alta que a l'estat de Nova Gal·les del Sud i que a Austràlia.

1.3. Episodis de contaminació protagonitzats per Orica

La multinacional Orica ha provocat catàstrofes ambientals a diversos països del món, però les d'Austràlia han estat les més greus de la seva història. A continuació s'expliquen els casos de contaminació provocats per Orica Botany.

1.3.1. Contaminació per organoclorats

Un dels episodis de contaminació més importants es va descobrir durant unes investigacions ambientals del 1993-1996. Aquests estudis van demostrar que la producció petroquímica d'ICI (l'actual Orica) havia contaminat greument el subsòl i l'aquífer de la zona de Botany amb hidrocarburs clorats. D'aquests compostos clorats el que es va trobar en concentracions més elevades va ser el diclorur d'etilè (EDC), un contaminant orgànic persistent subproducte de la manufactura de PVC i que es va filtrar a través del sòl com a conseqüència de l'emmagatzematge inadequat i a l'aire lliure dels residus. La contaminació també va arribar a l'estuari de Penrhyn, d'alt valor ecològic i, per tant, també a l'oceà, fet pel qual al 2004 es va prohibir la pesca a tota la badia. D'altra banda, aquest aquífer era de gran qualitat i s'utilitzava

per subministrar aigua a tot Sidney durant el segle XIX. A més a més, alguns veïns n'extreien aigua a través de pous.

Des del 2005 fins l'actualitat, Orica utilitza una tècnica de contenció hidràulica basada en diversos pous d'extracció que bombegen l'aigua contaminada cap a una planta de tractament d'aigua subterrània que hi ha al polígon industrial. L'aigua tractada (6 ML/ dia) és en gran part utilitzada per la indústria de la zona (4-5 ML diaris), mentre que la resta s'allibera a les canonades en direcció a Botany Bay, on arriba a l'oceà. Tot i el gran volum tractat diàriament, s'estima que caldran centenars d'anys per a que l'aqüífer torni a estar completament lliure de contaminació.

Mentrestant, tota la zona residencial té prohibida l'extracció d'aigua subterrània (vegeu el mapa 4 de l'annex de la Groundwater Extraction Exclusion Area) i hi ha un monitoratge continu de l'aigua subterrània, superficial, del sistema hidràulic i de les emissions de la planta de tractament. D'altra banda, Orica ha compensat els veïns amb tancs d'aigua de pluja per a l'ús exterior i de jardineria. Els barris afectats són Banksmeadow, Hillsdale, Eastgardens, Pagewood i Botany. Tot i això, algunes fonts informen que el Camp de Golf de la zona encara utilitza l'aigua de l'aqüífer pel reg.

A arrel d'aquest desastre ambiental es va formar el Community Liaison Committee (CLC), un grup format per experts, representats de la comunitat local i de la indústria, grups ecologistes i veïns que es reuneixen periòdicament per discutir i informar sobre la situació de l'aqüífer, afavorint la participació ciutadana.

També com a conseqüència de l'emmagatzematge inadequat dels residus de la indústria, al 1980 es van detectar 45.000 tones de sòl contaminat amb hidrocarburs clorats, principalment hexaclorobutadiè però també hexaclorobenzè i hexacloroetà. Donat que no es coneixien tecnologies de tractament, es va encapsular el sòl en un magatzem segellat i s'hi va construir un pàrquing al damunt. Després de molts d'anys, durant els anys 2011-2012, el sòl es va tractar amb una tecnologia anomenada Directly-heated Thermal Desorption (DTD) i avui dia ja està descontaminat i roman apilat al recinte del parc industrial, com es veu a la figura 1E.



Fig.1E. Fotografia del sòl descontaminat apilat al parc industrial de Botany. Font: www.orica.com

1.3.2. Contaminació per mercuri

L'antiga planta Chloralkali d'Orica, anomenada Former Chloralkali Plant i que va estar en ús des del 1944 fins el 2002, utilitzava mercuri en comptes de la tecnologia de membranes de la nova planta. Com a conseqüència, es van contaminar el sòl i l'aqüífer de la zona, fet que es va descobrir durant uns anàlisis ambientals del 2006-2009. El mercuri s'ha trobat tan dissolt com adherit a partícules en suspensió de l'aqüífer però, segons dades d'Orica, la contaminació no ha arribat ni als canals d'aigua Springvale Drain i Floodvale Drain ni a l'estuari de Penrhyn. Contràriament, segons dades de la Environmental Protection Agency de l'estat de Nova Gal·les del Sud (EPA NSW), estudis previs van detectar mercuri als sediments de Penrhyn Estuary a la Badia de Botany. La contaminació va ser eliminada de l'estuari però des de l'episodi de contaminació per organoclorats, la prohibició de la pesca segueix vigent. D'altra banda, asseguren que la zona de l'aqüífer que es va contaminar amb mercuri pertany a l'àrea d'exclusió d'extracció d'aigua subterrània, ja delimitada anteriorment.

Actualment, Orica portarà a terme dos plans d'acció de remeiació, un per a la zona més contaminada amb mercuri i l'altre per a la menys contaminada. La zona més contaminada correspon al bloc G de la figura 1F, i la menys contaminada als blocs A i M. Els tres punts corresponen a parts de l'antiga Former ChlorAlkali Plant i estan situats al parc industrial de Botany.

Pel que fa als blocs A i M, es preveu excavar els materials contaminats i reemplaçar-los per sòl no contaminat. Pel que fa al bloc G, la remeiació es farà *in situ* i es construirà una barrera de contenció per evitar l'escapament de vapors de mercuri i també per aïllar els materials contaminats de les aigües subterrànies. Actualment, però, només s'ha construït un edifici que cobreix el bloc G per evitar temporalment les emissions de mercuri a l'exterior fins que es porti a terme la remeiació planejada.



Fig.1F. Fonts de contaminació per mercuri al Botany Industrial Park. Font: www.oricabotanytransformation.com

D'altra banda, durant els anys 2011 i 2012 s'han produït dos episodis de contaminació de l'atmosfera amb vapor de mercuri i en una de les dues vegades, la concentració era el doble de la permesa. A més, el juliol del 2013 es publicava al diari Sun Herald la possible contaminació d'un parc infantil del barri de Hillsdale, anomenat Grace Campbell Reserve (situat al mapa 1 de l'annex), amb HCB, mercuri i altres metalls. Publicacions posteriors, però, van confirmar que els nivells d'aquests tòxics es trobaven sota els límits legals.

1.4.El magatzem de residus de HCB

D'entre tots els problemes que ha causat Orica, un dels més importants és el magatzem de residus d'hexaclorobenzè (HCB). Aquest magatzem, situat al BIP, conté aproximadament 15.000 tones de residus tòxics compostos majoritàriament pels hidrocarburs halogenats hexaclorobenzè, hexacloroetà i hexaclorobutadiè. Segons la literatura, es tracta del magatzem de HCB més gran del món i, com ja s'ha vist en apartats anteriors, està envoltat d'àrees residencials i ecosistemes sensibles.

1.4.1.Origen

Durant més de vint anys, entre 1964 i 1991, Orica Australia Pty Ltd, llavors anomenada ICI Australia, es va dedicar a la producció de solvents clorats com el percloroetilè (PCE) i el tetraclorur de carboni (CTC). La producció d'aquests dos compostos comportava una reacció entre propilè i clor que, d'una banda, donava lloc als productes desitjats (fluids per neteja en sec) i de l'altra, tot un còctel de residus organoclorats. D'entre aquests subproductes, els quals Orica mai va comercialitzar, destacaven l'hexaclorobenzè (HCB), l'hexacloroetà (HCE) i l'hexaclorobutadiè (HCBD).

Al 1977, mentre encara durava la producció de solvents clorats, es va fer un tractament dels residus de HCB per reduir-ne el volum. En aquest procés es cristal·litzava el HCB per separar-lo dels compostos líquids HCBD i HCE. D'aquesta manera, el HCBD i HCE s'incorporaven novament a la cadena de producció i el residu que s'emmagatzemava era majoritàriament HCB, que és el que s'anomena actualment residu de HCB. Aquests residus es van anar emmagatzemant i, fins el dia d'avui, encara no s'han pogut eliminar.

Avui dia, aquests residus, que s'emmagatzemen en bidons segellats, s'han de canviar de contenidor periòdicament, ja que es degraden amb el temps. Això fa que, encara que la producció s'hagi parat, el seu volum segueixi creixent, ja que tots els bidons contaminats, uniformes per als treballadors i d'altres materials utilitzats, també s'hauran de descontaminar.

D'altra banda, al 1997 es va formar un comitè de la comunitat anomenat Community Participation & Review Committee (CRPC) format per la comunitat de veïns, experts i les indústries i el govern local amb l'objectiu d'afavorir la participació ciutadana en les decisions relacionades amb la gestió dels residus de HCB.

1.4.2.Composició

Els residus de HCB contenen, en mitjana, un 53% de HCB, un 27% de HCBd i un 15% de HCE. Tot i això, la concentració dels components a cada barril és molt variable, donant lloc a residus amb textures més enganxoses (fig.1G) i residus amb textures més sòlides (fig.1H). A part, també contenen impureses d'octacloroestirè (OCS), CTCs i PCEs. Totes aquestes substàncies es caracteritzen per ser hidrocarburs halogenats que no es troben a la natura i que són tòxics per a la salut. A continuació es descriuen en detall els dos compostos químics predominants del residu i dels que es parlarà posteriorment en la part experimental.



Fig.1G. Residu de HCB més concentrat en HCE i HCBd. Font: pàgina web del National Toxics Network.



Fig.1H. Residus de HCB més concentrats en HCB. Font: pàgina web del National Toxics Network.

1.4.2.1.HCB

L'hexaclorobenzè és un hidrocarbur aromàtic que a temperatura ambient es presenta en forma de cristalls sòlids. La seva solubilitat en aigua és negligible, sent més soluble en compostos orgànics com el cloroform. Donada la seva estabilitat química i la seva resistència a ser biodegradat es considera un dels compostos més persistents que existeixen a nivell global,

raó per la qual forma part de la llista dels 12 POPs (persistant organic pollutants) més rellevants segons la Convenció d'Estocolm sobre contaminants orgànics persistents (2001).

El HCB es va començar a utilitzar com a pesticida al 1945 arreu del món i, més tard, per a la manufactura de materials pirotècnics, bales, com a protector de fusta i en la producció de gomes i aluminis. Cap al 1950, van començar a aparèixer casos d'intoxicació de tota mena, especialment en dones embarassades, que donaven llum a nadons amb una patologia anomenada *pembe yara* que els provocava la mort durant el primer any de vida.

Pocs anys més tard, donada l'evidència creixent de la toxicitat d'aquest compost, alguns països el van començar a prohibir. El primer va ser l'Argentina, que al 1963 va prohibir-lo com a insecticida a algunes zones del país. Més tard, Hongria que, com a conseqüència d'estudis que mostraven HCB en teixits humans, va prohibir l'ús de tota mena de pesticides que continguessin HCB. A partir d'aquest moment es va començar a prohibir a molts països europeus i finalment a tota Europa amb la Directiva 79/117/EEC del 1978.

El HCB és tòxic per totes les vies d'exposició i, segons estudis de toxicitat en animals, en exposicions cròniques pot provocar desordres al fetge, al sistema nerviós, a les tiroides, als ossos, als ronyons, a la sang i al sistema immunitari i endocrí. Pel que fa als efectes en exposicions agudes destaquen les alteracions als ronyons, fetge, sistema nerviós central, sistema circulatori i problemes de respiració. L'Agència Internacional per a la Recerca en Càncer (IARC) l'ha classificat a la categoria 2B (possible carcinògen) i Austràlia el considera com un residu urgent d'eliminar ja que és orgànic, resistent a la degradació de tot tipus, bioacumulatiu i tòxic pels humans, la vegetació i la vida aquàtica.

D'altra banda, la seva poca solubilitat en aigua fa que s'acumuli a la superfície, afectant peixos, mamífers marins i ocells, i la seva facilitat per adherir-se al sòl afecta a les plantes i als cultius. La biodegradació del HCB al medi natural només és coneguda sota condicions anaeròbies, mentre que els benzenès amb menys de quatre clors es poden mineralitzar en condicions aeròbies.

Igual que en el cas del DDT, avui dia, tot i que el HCB està prohibit gairebé a tots els països del món, encara es troben traces a llet materna, sang i greixos humans i animals.

1.4.2.2.HCBD

L'hexaclorobutadiè és un compost alifàtic clorat usualment utilitzat com a solvent d'altres compostos clorats, en la producció de lubricants, com a fluid per giroscopis, com a líquid transfusor de calor, en fluids hidràulics i com a intermediari en la manufactura de productes de goma. Va ser també utilitzat com a fungicida i herbicida i es produeix normalment com a subproducte de la producció de CTC, TCE i TeCE.

A temperatura ambient es presenta com un líquid incolor, amb una densitat més alta que l'aigua d' 1,665 g/mL a 25°C, una massa molecular força elevada (260.76 uma) i una olor característica a trementina. La seva solubilitat en aigua és molt baixa (2,5 mg/L a 20°C o 9,6

μM), sent molt més soluble en alcohols i èters, com ja revela el seu coeficient de partició octanol/aigua ($\log K_{ow}$: 4.78). S'adhereix al plàstic i als materials de goma i és força volàtil, amb una constant de Henry adimensional $H_c = 0,251$ a 21°C .

Quant a la seva toxicitat, l'American Conference of Industrial Hygienists (ACGIH) l'ha classificat en la categoria A3 (carcinogen confirmat en animals però amb rellevància desconeguda en humans), la IARC l'engloba al Grup 3 (no classificable en termes de carcinogènia en humans) i l'EPA al Grup C (possible carcinogen humà).

Com molts compostos apolars, amb estructura química simètrica i solubles en solvents orgànics, l'hexaclorobutadiè és perillós per la seva forta absorció als lípids i la seva baixa excreció un cop dins el cos, bioacumulant-se. Així, s'adhereix preferiblement als greixos i als òrgans de filtració del cos com el fetge, els ronyons, el sistema limfàtic o l'intestí gros.

Segons dades de la World Health Organization, el HCB és fàcilment absorbit i metabolitzat a través de la seva conjugació amb el glutatió (antioxidant intracel·lular). Aquesta conjugació es metabolitza donant lloc a un derivat nefrotòxic, el qual s'ha relacionat amb tumors al ronyó en un estudi d'exposició oral crònica amb ratolins. Altres estudis en animals han observat efectes en fetge com a conseqüència de l'exposició oral crònica, com també efectes aguts en ronyons i sistema respiratori per inhalació. Quant a altres tipus de càncer, no s'ha trobat cap associació amb el HCB per cap via d'exposició. Tampoc s'han observat efectes teratògens però sí disminució de la fertilitat i del pes del fetus en animals, segons dades de l'EPA.

La concentració letal pel 50% de la població (LC_{50}) en ratolins exposats per inhalació del compost es troba al voltant dels $370 \text{ mg d'HCB}/\text{m}^3$, mentre que el valor de NOAEL (no-observed-adversed-effect-level) és $107 \text{ mg}/\text{m}^3$. D'altra banda, la concentració mitjana de HCB en aire al medi s'estima en 0.003 ppb , mentre que nivells molt més alts han estat mesurats prop d'indústries relacionades amb la manipulació de HCB (d'entre 0.022 i 43 ppb). Tot i això, els nivells són significativament inferiors dels nivells als que s'han observat efectes en animals.

D'altra banda, les seves propietats lipofíliques el fan especialment tòxic als medis aquàtics on es bioacumula en el teixit adipós dels peixos. Per aquest mateix motiu és difícilment biodegradable per bacteris i encara no s'ha trobat cap cultiu pur que el pugui degradar. Com que els seus carbonis estan en estat oxidat i els seus halògens són molt electronegatius (clors), és més probable que la biodegradació pugui ocórrer en condicions anaeròbies.

1.4.3.Regulació nacional i internacional

Com ja s'ha explicat, el HCB forma part de la llista de contaminants orgànics persistents de la Convenció d'Estocolm (Programa Ambiental de les Nacions Unides), tractat que pretén eliminar i limitar l'ús de dotze compostos tòxics molt persistents. D'altra banda, també es veu afectat per la Convenció de Basel, desenvolupada també per Nacions Unides, que estableix el control sobre els moviments transfronterers de residus perillosos i el seu emmagatzematge (1989). Aquesta convenció inclou tres principis:

- 1) Principi d'autosuficiència: els residus s'han de gestionar i emmagatzemar al país on van ser creats, sempre que sigui possible.
- 2) El principi de proximitat: el magatzem dels residus s'ha de fer tan a prop del punt de formació com sigui possible.
- 3) El menor moviment transfronterer possible: els moviments de residus a nivell internacional s'han de reduir al mínim.

L'article 4 de la Convenció de Basel tracta concretament el cas d'Austràlia i exposa que s'han de prendre les mesures adequades per assegurar la disponibilitat d'instal·lacions adequades per a l'emmagatzematge de residus, tant per a residus perillosos com per a altres residus.

Pel que fa a nivell nacional, al 1993 el Consell de Medi Ambient i Conservació de Nova Zelanda i Austràlia (ANZECC) va publicar l'Estratègia Nacional per la Gestió del Residu Urgent, en referència als residus de HCB i, al 1996, el Consell Nacional Australià (NAB) va dissenyar el Pla Nacional per a la Gestió de l'hexaclorobenzè. En aquest últim document, que encara regula tota la gestió dels residus, s'anunciava que Austràlia tenia la obligació moral de tractar amb el seu propi residu i que no hauria de carregar les seves responsabilitats a altres països. El pla recomanava que el HCB es tractés tan a prop de la font de producció com fos possible, fent referència al risc inacceptable que suposaria transportar-lo i a la capacitat confirmada d'Austràlia per fer front al seu tractament d'una manera ambientalment responsable.

1.4.4.Necessitat de tractament

Tant des de l'àmbit internacional com nacional, Orica té la obligació de destruir els residus de HCB. Durant tots aquests anys, se li ha exigint que busqués una solució per als residus i, generalment, aquesta s'ha centrat més en l'exportació que no pas en el tractament a Austràlia, contradient la convenció de Basel anomenada anteriorment. Així doncs, en aquest apartat es descriu la història de les diferents opcions de destrucció del residu que s'han considerat al llarg dels anys i se n'explica la situació actual.

Inicialment, a la dècada dels vuitanta, es va començar a investigar la possibilitat de construir un incinerador d'alta temperatura (HTI) que tractés els residus a Austràlia. Aquesta tecnologia, però, no assegurava la destrucció del HCB, ja que aquest compost pot mantenir-se estable fins i tot als 1000°C, i la seva combustió crearia dioxines i furans, algunes de les substàncies més tòxiques que es coneixen. Per aquests motius, la proposta no va convèncer a grups ecologistes ni tampoc a les comunitats locals i, al 1992, el govern australià la va desestimar.

Al 2003 es va crear el Panell de Consulta Independent (IRP) per investigar les possibilitats de tractament. D'entre les diferents opcions, es van considerar el tractament a Austràlia (a una zona aïllada de l'estat de NSW o *in situ*), l'emmagatzematge permanent i l'exportació a l'estranger. D'aquestes tres possibilitats, al 2004 el IRP va considerar que la més adequada era el tractament en una zona aïllada de NSW i així es va transmetre al govern. Com a conseqüència, al 2005, Orica va començar a buscar possibles zones aïllades a NSW per al tractament dels residus, però al 2006 el IRP ja anunciava el fracàs en la recerca com a conseqüència del rebuig dels agricultors i la falta d'infraestructures adequades.

Un cop descartat el tractament a NSW, el IRP va recomanar l'exportació del residu i, durant el mateix any, Orica ja va presentar una sol·licitud a una planta incineradora d'altres temperatures (HTI) d'Alemanya. Al 2007, però, Alemanya va denegar l'exportació, fent referència a la obligació d'Austràlia per tractar els seus propis residus (Convenció de Basel) i exposant que el rebuig social no era motiu suficient per a l'exportació.

Orica, però, va seguir considerant l'exportació i, al 2008, va sol·licitar a l'EPA danesa el tractament dels residus a una planta HTI a Dinamarca. Per justificar el compliment de la Convenció de Basel, al 2009, el govern australià va presentar un estudi independent que va concloure que Austràlia no comptava amb tecnologies adequades pel tractament del HCB. Així doncs, tot i que a l'inici Dinamarca estava disposada a rebre els residus, la pressió social i l'oposició de grups ecologistes com Greenpeace, que argumentaven que el transport comportava un risc inacceptable a nivell global, va acabar provocant que Dinamarca rebutgés el tractament dels residus.

Encara actualment, Orica considera l'exportació dels residus com una de les primeres opcions. Notícies recents informen que al mes de maig d'aquest any 2014 s'ha sol·licitat novament l'exportació dels residus, aquesta vegada a França. Segons Orica, el residu s'enviaria a l'empresa gestora francesa anomenada Tredi, situada a prop de Lyon, la qual compta amb una planta HTI.

Tot i així, però, al 2012, Orica va començar a invertir en la investigació d'un tractament alternatiu anomenat bioremeiació, finançant al Helmholtz-Zentrum für Umwelt Forschung - UFZ de Leipzig (Alemanya) i a la University of New South Wales de Sidney per a que col·laboressin l'un amb l'altre en la recerca. Aquesta recerca encara continua a l'actualitat. A l'apartat següent s'explica el funcionament i els avantatges i inconvenients d'aquesta tecnologia.

1.4.4.1. Bioremeiació

Segons el Environment Engineering Dictionary, la bioremeiació és un tractament que utilitza organismes vius per transformar substàncies perilloses en compostos menys tòxics o, fins i tot, no perjudicials per a la salut. Aquests organismes poden ser plantes (fitoremeiació), fongs (micoremeiació) o bacteris, i tots ells tenen en comú la característica de degradar compostos tòxics metabòlica (utilitzant-los per al seu creixement) o cometabòlicament (no utilitzant-los per cap funció). Un exemple d'aquests organismes és el cas dels fongs ligninolítics, que són capaços de degradar hidrocarburs aromàtics policíclics (PAHs), compostos carcinògens que es troben en grans proporcions als combustibles fòssils com el petroli (Marco-Urrea et al., 2012).

En l'últim segle, la bioremeiació s'ha aplicat en espais contaminats d'arreu del món, com per exemple a Estats Units, Europa i Japó. Un dels avantatges d'aquesta tecnologia és el baix cost econòmic en relació a altres tractaments com per exemple la incineració a plantes HTI, que consumeix grans quantitats d'energia. D'altra banda, la bioremeiació es caracteritza per ser respectuosa amb el medi ambient, ja que, d'una banda, possibilita la degradació de

contaminants *in situ* amb organismes, molt sovint, propis de la mateixa zona, i de l'altra, si aquests organismes degraden el compost tòxic d'interès de forma metabòlica, un cop han consumit tot el compost i bioremeiat l'espai d'interès, moren i, per tant, no causen cap inconvenient.

En el present document, s'estudia la possibilitat de biodegradar els residus d'Orica utilitzant una soca bacteriana. L'organisme degradador que s'està investigant és el bacteri *Dehalococcoides mccartyi* soca CBDB1, un bacteri descobert a Alemanya i utilitzat als laboratoris del centre de recerca Helmholtz Zentrum für Umweltforschung UFZ de Leipzig. Com s'explica a continuació, aquesta soca utilitza el HCB en el seu metabolisme i, per tant, podria ser una possible solució per a l'eliminació dels residus de HCB d'Orica.

1.4.4.2. *Dehalococcoides mccartyi* soca CBDB1

Dehalococcoides mccartyi soca CBDB1 és un bacteri anaerobi estricte descobert i aïllat per Lorenz Adrian durant la realització de la seva tesi doctoral l'any 2000. Ha estat el primer bacteri descrit amb la capacitat de degradar clorobenzenès en cultiu pur i utilitzar aquests compostos com a font d'energia pel seu creixement (Adrian et al., 2000). L'espècie *Dehalococcoides mccartyi* soca CBDB1 pertany al fílum *Chloroflexi* (Adrian et al., 2009) i, com el seu nom indica (*Chlorinated benzenes Dehalorespiring Bacteria 1*) és capaç de declorar benzenès clorats de forma metabòlica (Jayachandran et al., 2003) però també s'ha descrit la seva capacitat per degradar altres compostos halogenats com el percloroetè (Rosenthal et al., 2003), diversos bromobenzenès (Wagner et al., 2012), i algunes de les substàncies més tòxiques que existeixen: les dioxines clorades o policlorodibenzodioxines (Bunge et al., 2003). Així doncs, aquest bacteri és d'especial interès en estudis de biodegradació de compostos halogenats i especialment en investigació sobre bioremeiació d'espais contaminats. És per això que actualment diversos laboratoris del món investiguen sobre les seves característiques i capacitats de degradació, com per exemple, el laboratori del Dr. Mike Manefield de la Universitat de Nova Gal·les del Sud a Sidney.

A continuació s'adjunta una figura amb la via de degradació de HCB de la soca CBDB1 (fig.11).

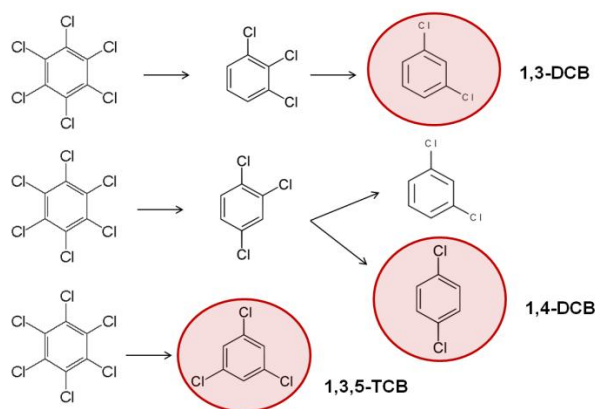


Fig.11. Via de degradació del HCB per la soca CBDB1. Els compostos encerclats són els productes finals de CBDB1. (Lorenz et al., 2002)

1.4.4.2.1.Fisiologia

Es tracta d'un bacteri de forma cocoide i d'aproximadament 1 µm de diàmetre. És gramnegatiu (no presenta paret cel·lular) i per tant no es veu afectat per antibiòtics que ataquen la paret cel·lular com és el Vancomycin. El seu embolcall és com una capa S o similar, irregular i amb escletxes (Adrian et al, 2002).

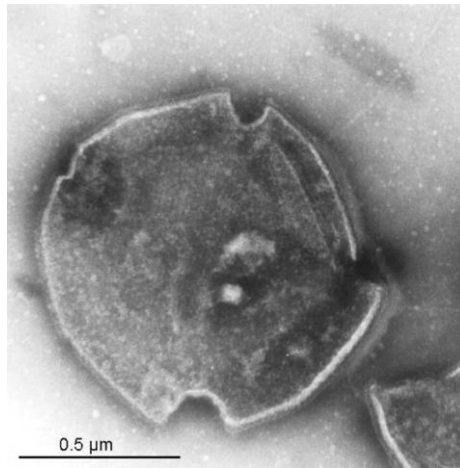
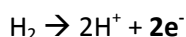


Fig.1J. Fotografia de la soca CBDB1 amb microscopi electronic. Font: Adrian et al, 2000.

1.4.4.2.2.Metabolisme

Com tots els éssers vius, els bacteris respiren per obtenir energia que emmagatzemen en forma d'ATP. A diferència dels eucariotes, els bacteris poden utilitzar diferents substàncies com acceptors i donadors d'electrons i és per això que són ubics. Així doncs, la soca CBDB1 no utilitza oxigen com a últim acceptor d'electrons en la seva cadena respiratòria sinó compostos halogenats. Tot i així, el funcionament és molt similar al nostre, doncs compta amb un donador d'electrons (que en el nostre cas seria el NADH i FADH₂ que resulten de la degradació de compostos orgànics en el cicle de Krebs) i un acceptor terminal d'electrons.

La seva cadena de transport d'electrons, que en bacteris es produeix a la membrana cel·lular en comptes de al mitocondri, es basa en la presència de la proteïna de membrana Hidrogenasa (H₂ase) que utilitza hidrogen (donador d'electrons) i l'oxida a protons (Jayachandran et al., 2004). En aquesta reacció redox s'alliberen dos electrons que, d'una manera encara desconeguda (transportador desconegut), es transfereixen a la proteïna Dehalogenasa Reductiva (RdhA), que pren un clor de la molècula halogenada i el substitueix per un hidrogen (Adrian et al., 2007). A continuació es mostren les dues reaccions redox:



L'energia alliberada que es produeix en l'oxidació dels compostos de la cadena de transport d'electrons s'utilitza per bombejar protons cap a l'exterior. Aquest fet genera un gradient electroquímic i els protons tornen a favor de gradient cap al citoplasma possibilitant la

formació d'ATP a partir d'ADP, Pi i l'ATP-sintetasa. A la figura 1K es mostra un esquema de les reaccions que tenen lloc a la membrana cel·lular.

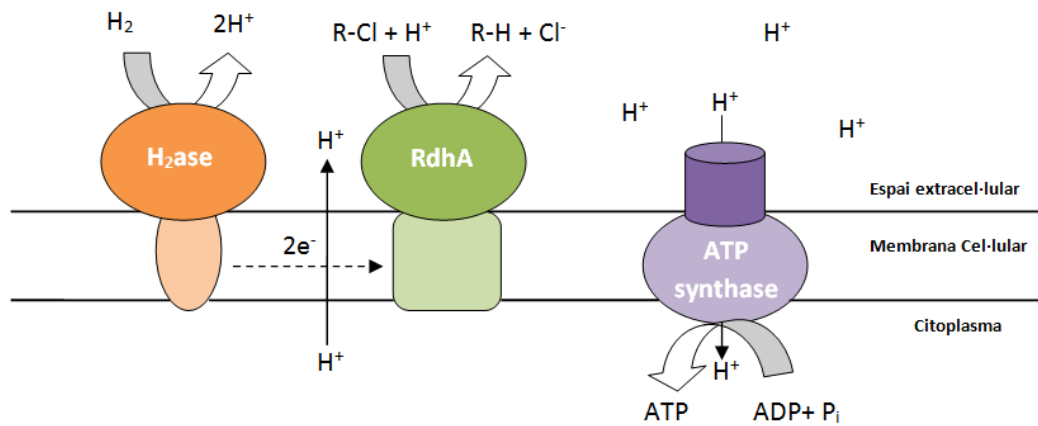


Fig.1K. Esquema de la cadena de transport d'electrons de CBDB1. Font: realització pròpia a partir d'uns apunts propietat d'Anja Kublik al Helmholtz Zentrum für Umweltforschung UFZ, Alemanya.

D'altra banda, la soca CBDB1 utilitza acetat com a font de carboni, és a dir, que, resumint, requereix de tres compostos: acetat com a única font de carboni, hidrogen com a exclusiu donador d'electrons i un compost halogenat d'entre tres i vuit carbonis dels que ja s'han anomenat anteriorment (Schipp et al., 2013).

La soca CBDB1 també necessita del subministrament extern de vitamina B12 o cobalamina, corrinòide que actua com a cofactor per al funcionament de les Dehalogenases Reductives i que la soca CBDB1 no pot produir per si mateixa (Schipp et al., 2013). Tots aquests compostos, en cultiu mixt a la natura són adquirits de l'activitat d'altres bacteris. D'altra banda, la soca CBDB1 no tolera la presència d'oxigen per la qual cosa és necessari el cultiu anaerobi.

2.JUSTIFICACIÓ

El magatzem de residus de l'empresa Orica de Sidney, Austràlia, és el magatzem d'hexaclorobenzè (HCB) més gran del món. EL HCB és un dels compostos més tòxics i persistents que es coneixen, i està inclòs a la llista de la Convenció d'Estocolm sobre contaminants orgànics persistents (POPs).

Aquest magatzem està situat al sud de Sidney, en un polígon industrial envoltat de zona residencial i d'ecosistemes sensibles amb espècies de fauna i flora amenaçades. D'altra banda, segons estudis d'Orica i de la Oficina d'Aigües del Departament d'Indústries Primàries de l'estat, la permeabilitat del sòl i l'alt nivell freàtic de l'aquífer fan que la zona sigui molt vulnerable a la contaminació i, segons dades de Geociència del govern australià, tot i que el risc sísmic és molt baix, en cas de produir-se un terratrèmol la zona del magatzem de residus seria la més afectada de Sidney. A més el polígon està situat molt a prop de la costa i, per tant, qualsevol vessament que arribés al mar, provocaria la bioacumulació d'aquests tòxics en els ecosistemes marins.

Durant molts anys, Orica ha intentat exportar els seus residus a diversos països d'Europa: primer a Alemanya, després a Dinamarca i actualment a França. El transport dels residus, però, comporta un risc inacceptable des del punt de vista ambiental, va en contra de la Convenció de Basel de les Nacions Unides i, a més a més, el tractament que s'utilitzaria no asseguraria la destrucció del compost principal HCB i podria produir alguns dels compostos més tòxics que es coneixen: les dioxines i furans.

Així doncs, un tractament alternatiu com la bioremeiació podria ser una solució més segura, econòmica i ambientalment responsable. En concret, *Dehalococcoides mccartyi* soca CBDB1 podria ser l'organisme adequat per a la bioremeiació dels residus, ja que és un bacteri reconegut per la seva capacitat d'utilitzar únicament compostos halogenats com acceptors d'electrons.

Tanmateix, tot i que la soca CBDB1 pot degradar el HCB, es desconeix si els altres components del residu d'Orica, principalment els hidrocarburs clorats hexacloroetà (HCE) i hexaclorobutadiè (HCBd), afectarien al creixement del bacteri.

Per tal de comprovar si la soca CBDB1 creixeria en el residu d'Orica, s'ha fet un estudi de toxicitat del HCBd amb la soca CBDB1.

D'altra banda, la magnitud del problema i el fet que es trobés envoltat de zona residencial va despertar l'interès per conèixer el grau de coneixement i preocupació de la població de la zona. Així doncs, es va fer un estudi de percepció social en un radi d'1 km al voltant del polígon industrial.

3.OBJECTIUS

Els dos objectius principals d'aquest estudi són:

- Determinar si la soca *Dehalococcoides mccartyi* CBDB1 pot créixer en presència de HCBD o si és inhibida per aquest i, per tant, si, com a conseqüència, hi ha alguna possibilitat d'utilitzar el bacteri per a la biodegradació del residu de HCB d'Orica.
- Estudiar el grau de preocupació i de coneixement de la població envers el magatzem de residus de HCB i els episodis ambientals causats per Orica durant les últimes dècades.

4. MATERIALS I MÈTODES

4.1. Estudis amb la soca *Dehalococcoides mccartyi* CBDB1

En aquest apartat es resumeixen les tècniques de cultiu de la soca CBDB1 i s'expliquen els mètodes de mesura de l'activitat i del creixement del bacteri.

4.1.1. Tècniques de cultiu

I. Preparació de medi de cultiu

La soca CBDB1 creix en un medi totalment sintètic compost pels requeriments essencials: aigua bidestil·lada, font de carboni (acetat), sals minerals (solució Widdel), elements traça (solució SL-9), solució de selenita-tungstat (solució Se-W) i unes gotes de Resazurina (indicador redox i de pH per controlar l'estat del cultiu). La composició del medi es descriu a la taula 4A.

Taula 4A. Composició del medi de creixement de la soca CBDB1 (1 L). Font: Adrian, 1999.

Aigua bidestil·lada	800 mL
Acetat de sodi	0.416 g
Solució Widdel (macronutrients)	20 mL
Solució SL-9 (micronutrients) (10x)	10 mL
Solució Se-W (2x)	0,5 mL
Aigua bidestil·lada	Fins a enrasar
Resazurina (1mg/ml)	5-7 gotes

La resazurina és un indicador redox molt útil en microbiologia anaeròbia. Com es veu a la figura 4A, segons el seu color es pot saber quines són les condicions del medi.

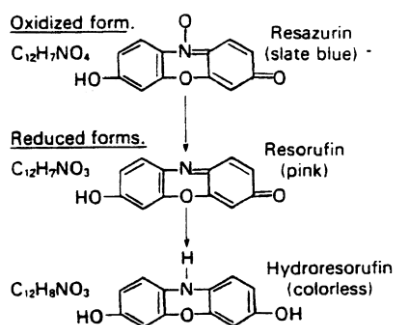


Fig.4A. Formes oxidades i reduïdes de l'indicador redox resazurina. Font: <http://www.google.com/patents/EP0505023B1?cl=en>

Així doncs, quan s'afegeix la resazurina al medi encara aeròbic, el color que es veu és el blau, que indica presència d'oxigen. Tanmateix, després de tornar el medi anaeròbic, el medi perd tot l'oxigen i la resazurina adopta un color transparent. En cas, però, que el medi deixés d'estar reduït com a conseqüència de la presència d'oxigen, la resazurina passaria a color rosa estrident, color que ja no canviaria a blau, doncs és irreversible. Quan el medi es torna rosa, l'oxigen és present i els cultius anaerobis estrictes com la soca CBDB1 no hi poden sobreviure.

S'ha de tenir present, però, que en aquest estudi s'utilitza un reductor del medi de color negre (explicat al punt VI d'aquest apartat) que fa canviar el color transparent a color púrpura-grisós, com el que es veu en la figura 4B.



Fig.4B. Fotografia de cultius esmenats amb resazurina i agent reductor citrat de titani (III).

La composició de les solucions que s'utilitzen per a la preparació del medi es descriu a les taules 4B, 4C i 4E.

Taula 4B. Mètode de preparació de la solució de macronutrients. Font: Tschech i Pfennig, 1984.

KH_2PO_4	0,2 g/L
NH_4Cl	0,25 g/L
NaCl	7,2 g/L
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1,2 g/L
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,15 g/L
KCl	0,5 g/L
-Esterilització amb autoclau	

Taula 4C. Mètode de preparació de la solució de micronutrients. Font: Tschech and Pfennig, 1984.

Àcid Nitilotriacètic	12,8 g/L
FeCl ₂ ·4H ₂ O	2 g/L
CoCl ₂ · 6H ₂ O	190 mg/L
MnCl ₂ · 2H ₂ O	100 mg/L
ZnCl ₂	70 mg/L
H ₃ BO ₃	6 mg/L
NiCl ₂ · 6H ₂ O	24 mg/L
CuCl ₂ · 2H ₂ O	2 mg/L
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	36 mg/L
-Esterilització amb autoclau	

Taula 4D. Mètode de preparació de la solució de selenita-tungstat (2x) Font: Tschech and Pfennig, 1984.

NaOH	1 g/L
Na ₂ SeO ₃ ·5H ₂ O	6 mg/L
Na ₂ WO ₄ · 2H ₂ O	8 mg/L
-Esterilització amb autoclau	

II. Disposició del medi

Es van utilitzar ampolles de vidre de 30 mL de capacitat i s'hi van abocar 18 mL de medi a cadascuna d'elles, respectant la *ratio* aconsellada entre el líquid i el gas ($V_{\text{líquid}}/V_{\text{gas}} = 18/12 = 1,5$).

III. Addició de HCB (acceptor d'electrons)

El HCB és un compost resistent a altes temperatures, així que es pot afegir abans d'esterilitzar el medi amb autoclau. En aquells experiments que incloguin HCB, s'afegirà en forma de cristalls, ja que segons la literatura la soca CBDB1 no el pot degradar aplicat en dissolució amb hexadecà. En aquest estudi és important que tots els cultius tinguin la mateixa quantitat de HCB inicial (vegeu apartat 5.1.1) i per aquest motiu es van afegir 5 mg de HCB a cadascun, pesats amb balança de precisió.

IV. Pas a condicions anaeròbies

Un cop afegits el medi i el HCB a les ampolles de cultiu, es va passar a condicions anaeròbies. Per fer-ho, es va bombejar nitrogen al líquid durant vint minuts. Seguidament, es van segellar les ampolles utilitzant septes de tefló i taps d'alumini. A

continuació, es va bombejar nitrogen a la fase gasosa durant deu minuts, utilitzant una segona agulla per deixar sortir el gas. D'aquesta manera, el nitrogen (gas molt inert i que es dissol poc al medi), substitueix l'oxigen completament.

V. Esterilització

El següent pas després de passar el medi a anaerobi és esterilitzar. L'esterilització es va dur a terme mitjançant autoclau (121 °C, 15 minuts).

VI. Addició del hidrogencarbonat de sodi, del citrat de titani (III) i de la vitamina 7.

Al dia següent, quan el medi ja s'havia refredat, s'hi van afegir els compostos que no es poden esterilitzar amb autoclau. Per fer-ho, es van utilitzar filtres de 0,22 µm, flames bunsen i una *cleanbench*. La *cleanbench* filtra l'aire de l'exterior de manera que l'aire que circula per sobre la superfície de treball és estèril. A continuació se'n mostra una fotografia (fig. 4C).



Fig.4C. *Cleanbench*. Font: http://www.osaka-med.ac.jp/deps/kik/4_cell.htm

Primer de tot, s'afegeix el hidrogencarbonat de sodi (NaHCO_3). Aquest compost fa de solució tampó, ja que els bacteris en créixer i dechlorar produeixen àcid clorhídric, que disminueix el pH del medi. Així doncs, utilitzant el hidrogencarbonat de sodi es manté sempre el pH desitjat, al voltant de 7,2. Se n'afegeix un 1% en volum d'una solució 1M als cultius, en aquest cas 0,2 mL. El protocol de preparació es mostra a la taula 4E.

Taula 4E. Mètode de preparació de la solució tampó de hidrogencarbonat de sodi 1M en condicions anaeròbies. Font: apunts propis de l'estància al centre d'investigació de medi ambient Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung- UFZ.

- Pesar 7,06 g NaHCO_3
- Dissoldre en 84 mL d'aigua MilliQ, estèril i anaeròbia.
- Agitar vigorosament i aplicar-hi CO_2 durant 10 segons (el CO_2 manté en equilibri el carbonat).
- Segellar
- Esterilització amb autoclau

El citrat de titani (III), en presència d'oxigen, s'oxida a citrat de titani (IV) i redueix l'oxigen. D'aquesta manera, s'assegura que els cultius romanen anaerobis, com a mínim, fins que tot el citrat de titani (III) s'hagi oxidat. D'aquest compost també se'n va afegir un 1% en volum (0,2 mL). El protocol de preparació s'explica a la taula 4F.

Taula 4F. Mètode de preparació de l'agent reductor citrat de titani 15% (200 mL). Font: apunts de l'estància al centre d'investigació UFZ, Alemanya.

- Dissoldre 11,764 g de $\text{C}_6\text{H}_7\text{NaO}_7$ en 40 mL d'aigua destil·lada estèril i anaeròbia.
- Connectar un recipient de dos braços a una font de N_2 per mantenir la solució anaeròbia.
- Afegir 120 mL d'aigua bidestil·lada al recipient.
- Afegir 20,6 mL de TiCl_3 .
- Abocar la solució de $\text{C}_6\text{H}_7\text{NaO}_7$ en 40 mL al recipient de dos braços.
- Enrasar amb aigua estèril i anaeròbia fins a 200 mL
- Ajustar el pH a 7 amb carbonat de sodi
- Dispensar en ampolles anaeròbies i estèrils fent ús de filtres. Segellar-les i emmagatzemar-les a la foscor o protegir-les amb paper d'alumini ja que és sensible a la llum.

Per últim, s'afegeix la solució de vitamina 7 (100x). Aquesta solució és un conjunt de diferents vitamines. Una d'elles, la B12, és molt important ja que sense ella la soca CBDB1 no podria créixer ni declorar els compostos halogenats. Això és degut a que aquesta vitamina fa de cofactor a les Dehalogenases Reductives. La soca CBDB1 no la sintetitza, però en el medi natural s'aprofita de la producció d'aquesta per part d'altres

bacteris. Se n'aplica un 1% en volum al medi (0,2 mL). La seva composició es mostra a la taula 4G.

Taula 4G. Mètode de preparació de la solució de vitamina 7 1000x (200 mL). Font: Adrian, 1999.

Vitamina 7 1000x: 100 mL de vitamina I + 100 mL de vitamina B12	
<u>Vitamina I</u>	
Aigua MilliQ, anaeròbia, estèril.	100 mL
D (+) – Biotina	1 mg
4-Aminobenzoat	4 mg
Àcid nicotínic	10 mg
Ca-D(+)- Pantotenat	5 mg
Hidroclorur de Piridoxina	15 mg
di- hidroclorur de clorotiamina	10 mg
<u>Vitamina B12</u>	
Aigua MiliQ, anaeròbia, estèril	100 mL
Cianocobalamina	10 mg
-Dispensar en ampolles, recobrir amb paper d'alumini i refrigerar.	
- Diluir fins 100x en aigua estèril i anaeròbia i emmagatzemar en les mateixes condicions.	

VII. Inoculació

Al dia següent de l'aplicació del citrat de titani (III), de la solució tampó i les vitamines, es va inocular la soca CBDB1.

Per fer-ho, es va utilitzar un cultiu pare amb una densitat cel·lular prou alta (de l'ordre de 10^7 cèl·lules/mL) i se'n va inocular al 8% en volum, és a dir, es van afegir 1,6 mL de cultiu pare a cada ampolla.

La inoculació és un procés clau en el cultiu ja que en bacteris anaerobis estrictes el mínim contacte amb l'oxigen pot suposar la mort. A més, s'ha de tenir en compte que la soca CBDB1 és un cultiu pur i, per tant, cal fer servir moltes mesures per evitar la contaminació.

Així doncs, per evitar la contaminació, la inoculació es realitza a la *cleanbench*, ja explicada anteriorment, utilitzant també el bunsen per esterilitzar septes i agulles.

Per evitar l'entrada d'oxigen als cultius, s'ambienten les xeringues amb aigua anaeròbia, estèril i reduïda amb un 1% de citrat de titani (III) 15%. És molt important

que el cultiu pare tingui sobrepressió i, per tant, s'hi ha d'anar afegint gas (20% CO₂ en nitrogen) durant la inoculació.

VIII. Aplicació de Gasos

En finalitzar la inoculació s'afegeixen els gasos necessaris per al creixement del bacteri. En aquest cas són: 1) un gas format per 20% de CO₂ en nitrogen (que a vegades anomenem *biogon*), que en tenir diòxid de carboni té la funció d'equilibrar la solució tampó, i 2) l'hidrogen, que és el donador d'electrons de la soca CBDB1.

S'injecten, primerament, 0,3 bars de *biogon* i posteriorment, 0,4 bars d'hidrogen. També es pot substituir la pressió de 0,4 bars per 0,5 bars d'hidrogen, però se sap que la soca CBDB1 creix en concentracions més baixes d'hidrogen que molts altres bacteris, fet que la fa més competitiva en pressions baixes d'hidrogen i fa menys viable la proliferació de bacteris en cas de contaminació.

Els gasos, és clar, també s'han d'aplicar utilitzant filtres i bunsens per evitar la contaminació, però tenint especial cura amb l'hidrogen, ja que és un gas inflamable.

IX. Aplicació del HCBD

Després de la esterilització es va afegir HCBD als experiments que es volia. Tot i que aquest és resistent a la temperatura d'autoclau, es va preferir afegir-lo després. Els cultius van ser esmenats amb HCBD pur. L'aplicació del HCBD es va realitzar mitjançant xeringues Hamilton de vidre. No es van utilitzar filtres ja que es va assumir que cap bacteri podia créixer en HCBD pur.

El volum final dels cultius va ser de 20,2 mL (excepte en els controls químics sense inoculació).

X. Incubació

Un cop finalitzat el procés de preparació de cultius, cal incubar-los a 30°C, doncs la soca CBDB1 és un organisme mesòfil i el seu creixement és òptim a aquesta temperatura. La incubació es fa en càmeres termostatitzades. En aquest estudi, es va cometre un error i es van incubar els cultius en una càmera de 36 °C durant els primers quinze dies després de la inoculació.

L'anàlisi dels productes de degradació de HCB i HCBD formats per la soca CBDB1 es va realitzar periòdicament mitjançant cromatografia de gasos, mentre que el creixement es va mesurar amb microscopia de fluorescència, com s'explica a continuació.

4.1.2. Tècniques Analítiques

L'anàlisi dels productes de degradació de HCB i HCBD es va fer a 21°C i mitjançant cromatografia de gasos amb detector d'ionització en flama (GC-FID). S'extreien 100 µL de la fase gasosa dels cultius i s'injectaven a un GC Agilent Technologies 7890A equipat amb una columna DB-624 (29 m x 0,39 mm, 1,8 µm, Agilent J&W GC Columns). L'injector es va mantenir a 250°C i es va utilitzar una *split ratio* de 1:10. El programa de temperatures va ser el següent:

1 min. a 100°C, 20°C min⁻¹ fins 230°C. El FID va ser ajustat a 250°C. Es va utilitzar Heli com a gas portador amb un flux de 0,8 mL/min. El temps de cada anàlisi eren 7,5 minuts.

A continuació es mostra una imatge d'un exemple de cromatograma, on es poden veure tots els pics d'interès separats (fig.4D).

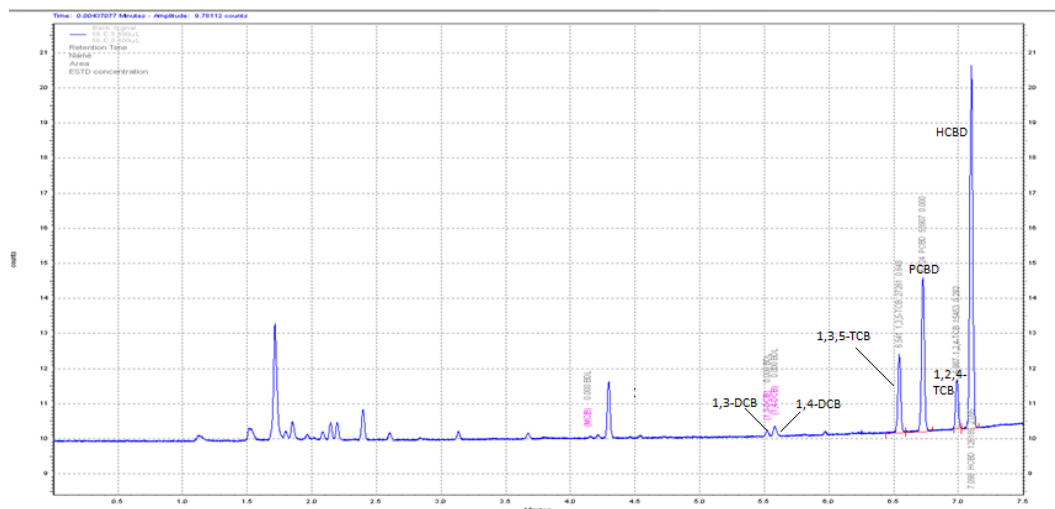


Fig. 4D. Cromatograma obtingut en un medi de cultiu on s'ha afegit HCB i HCBd utilitzant el mètode d'anàlisi descrit en aquest apartat. S'observa l'aparició dels següents productes: 1,3-DCB (temps de retenció: 5,52 min.), 1,4-DCB (temps de retenció: 5,58 min.), 1,3,5-TCB (temps de retenció: 6,54 min.), PCBD (temps de retenció: 6,72 min.), 1,2,4-TCB (temps de retenció: 6,99 min.) i HCBd (temps de retenció: 7,09 min.)

Aquest mètode té l'avantatge de separar tots els compostos d'interès en un temps d'anàlisi curt. Aquesta columna, a més a més, separa els isòmers 1,3-DCB i 1,4-DCB de manera que es poden quantificar separatament, a diferència d'altres columnes amb les que també s'hi va intentar treballar.

Pels calibratges del cromatògraf es va haver d'utilitzar la llei de Henry. L'aplicació d'aquesta llei i les corbes de calibratge es troben a l'annex.

4.1.3. Microscopia de fluorescència

El creixement de la soca CBDB1 es va mesurar mitjançant el recompte de cèl·lules per microscopia de fluorescència. La visualització de les cèl·lules per fluorescència és possible gràcies a l'addició del tint SYBRgreen que, com el seu nom indica, és un compost que presenta fluorescència verda quan és il·luminat amb llum ultraviolada. El SYBRgreen és una substància que interactua amb els àcids nucleics de l'ADN, de manera que només les estructures vives es mostren de color verd. A més, permet distingir la fisiologia de les cèl·lules. A continuació s'adjunta una fotografia d'una imatge de microscopi utilitzant SYBRgreen (fig.4E).

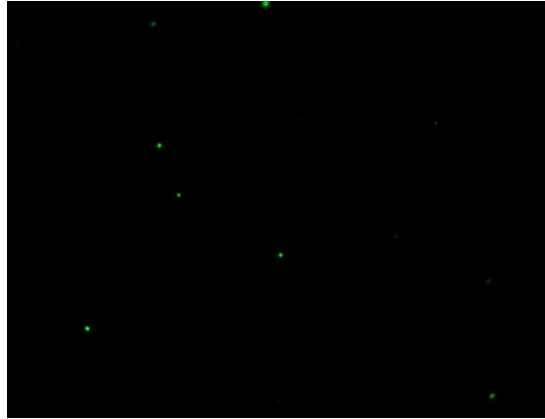


Fig.4E. Soca CBDB1 tenyida amb el tint SYBRgreen a través del microscopi de fluorescència.

Tot seguit es descriu el protocol de la tècnica de microscopia de fluorescència:

- Extracció de 0,2 mL de cada cultiu
- Transferència de 20 μ L a un altre tub Eppendorf.
- Addició d'1,3 μ L de SYBRgreen diluït 1:100 en solució tampó Tris-EDTA.
- Incubació a les fosques durant mínim 10 minuts.
- Transferència de 18 μ L de la mescla a un portaobjectes.
- Visualització i captura aleatòria d'imatges per microscopi.
- Recompte manual de cèl·lules de les imatges.

A continuació s'explica el mètode de càlcul de la densitat cel·lular a partir de les imatges capturades amb el microscopi.

Primerament, s'ha de calcular l'àrea de l'objectiu. En aquest cas s'ha calculat mitjançant una quadrícula amb dimensions conegudes com la que es mostra a la figura 4F .

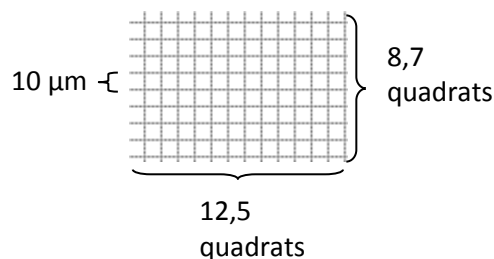


Fig.4F. Dimensions de l'objectiu del microscopi.

$$\text{\u00c0rea de l'objectiu} = (12,5 \times 10 \mu\text{m}) \times (8,7 \times 10 \mu\text{m}) = 0,011 \text{ mm}^2 \quad (1)$$

Seguidament, s'ha de calcular l'\u00e0rea del cobreobjectes que s'utilitza. La figura 4G mostra un esquema de les dimensions del cobreobjectes.

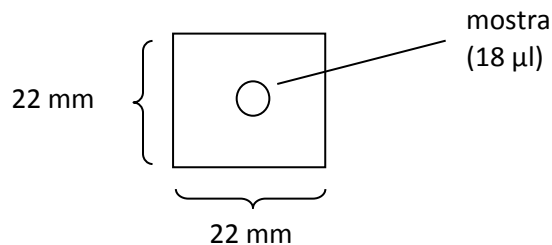


Fig.4G. Dimensions del cobreobjectes.

$$\text{\u00c0rea del cobreobjectes} = 22 \text{ mm} \times 22 \text{ mm} = 484 \text{ mm}^2 \quad (2)$$

A partir dels resultats de les equacions (1) i (2) es calcula el volum de mostra que hi ha a l'objectiu de la c\u00e0mera.

$$\text{Volum de mostra a l'objectiu} = \frac{18 \mu\text{l}}{484 \text{ mm}^2} \times 0,011 \text{ mm}^2 = 0,409 \text{ nL}$$

Dividint la mitjana de c\u00e8l\u00b7lules comptades a les imatges per aquest volum, s'obté la densitat cel\u00b7lular, que s'expressa en c\u00e8l\u00b7lules/mL.

4.2. Estudi de percepci\u00f3 social

El fet que el magatzem de residus de HCB de Botany es trob\u00e9s enmig d'una \u00e0rea residencial d'alta densitat va despertar l'inter\u00e8s per con\u00e8ixer la opini\u00f3 dels residents de la zona, la seva preocupaci\u00f3 pel tema i el seu nivell de coneixement. Per aquest motiu es va realitzar un estudi observacional basat en la recollida d'enquestes, el qual s'explica a continuaci\u00f3.

4.2.1. Definici\u00f3 de la poblaci\u00f3 d'estudi

Primerament, per dur a terme un estudi observacional cal definir la poblaci\u00f3 d'estudi. En aquest cas, aquesta es va descriure com la poblaci\u00f3 major de 18 anys que vivia a 1 Km al voltant del pol\u00edgon industrial on es troba Orica. Els barris inclosos en aquesta \u00e0rea s\u00f3n Hillsdale, Matraville, Banksmeadow, Pagewood, Eastgardens, Maroubra i Botany.

Així doncs, la població d'estudi va ser la que en aquell moment vivia en l'àrea delimitada de la següent figura 4F.

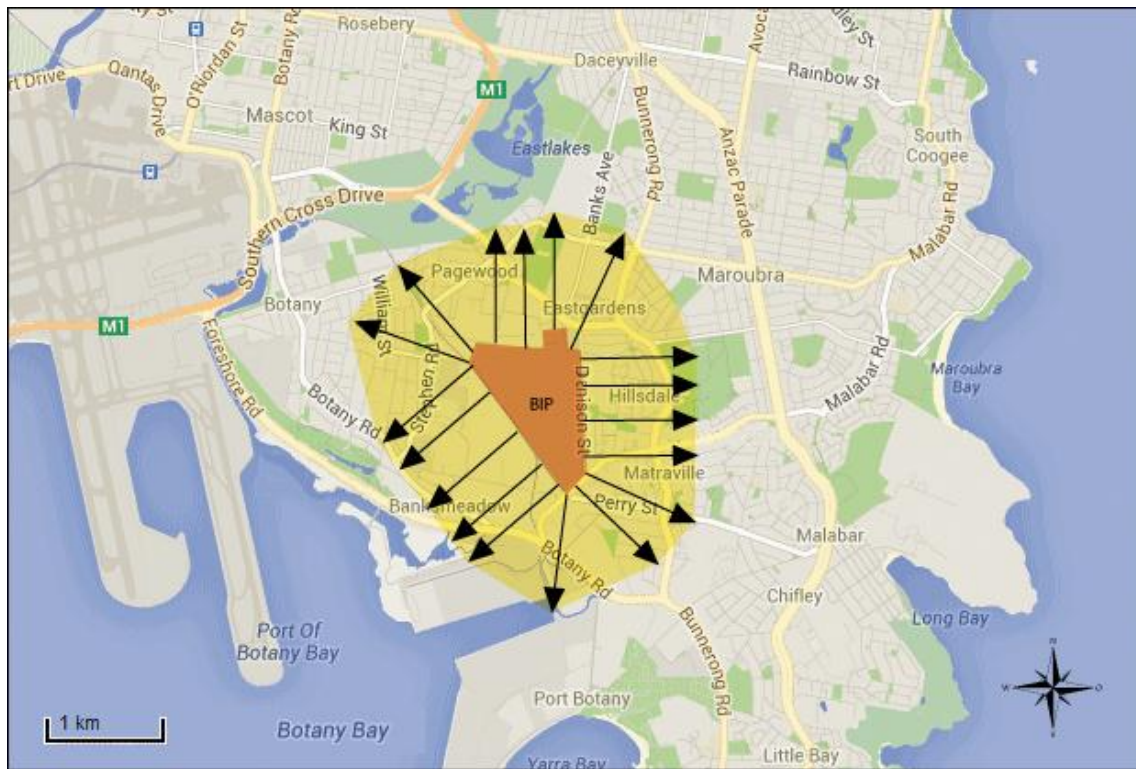


Fig.4F. Àrea inclosa a l'estudi social. Modificació de Google Maps.

4.2.2. Càlcul de la mida de la mostra

La segona qüestió a considerar és la mida de la mostra representativa de la població. Aquest número dependrà de l'error que es vulgui assumir en els resultats i de l'esforç de mostreig que es vulgui fer. Es calcula amb la següent equació estadística:

$$n = \frac{N}{1 + \frac{e^2(N-1)}{z^2 pq}}$$

On n és el tamany de la mostra, N el tamany de la població, e és l'error mostral o l'error que s'accepta quan s'extrapol·la, z correspon al nivell de confiança desitjat i pq la variança en la opinió.

Explicat amb més detall, l'error mostral quantifica la diferència que hi pot haver en els resultats de l'estudi si es pregunta a una mostra de població respecte de si es fa a la població sencera. Així, un valor de 0,05 implicarà un 5% d'error a considerar. Com més petit el valor, millor aproximació a la realitat però també més esforç de treball. És per això que generalment s'agafa un valor de 0,05.

D'altra banda, z té a veure amb el nivell de confiança que es vol assumir. Normalment, perquè l'estudi sigui fiable, s'agafa un valor de 95,5% de confiança, que correspon a $z=1,96$. Això vol dir que amb la mida mostral calculada hi haurà un 95% de probabilitat que els resultats siguin encertats.

Pel que fa al producte pq , p és la proporció d'individus que posseeixen la característica d'estudi, mentre que q és la fracció restant, els que no la posseeixen. Com que aquesta proporció no s'acostuma a saber, ja que és l'objectiu de l'enquesta en si mateixa, es fa servir $p = q = 0,5$.

Així doncs, per poder utilitzar la fórmula, la única dada que falta per saber és la població total. Aquesta s'ha calculat a partir de dades del cens poblacional de Sidney del 2011 extretes de la pàgina web de l'Australian Bureau of Statistics.

Donat que les dades de cens estan organitzades per barris i que la superfície de mostreig és menor que la superfície total d'alguns d'ells, s'ha fet un càlcul aproximat de la població total d'estudi, considerant homogènia la distribució de la població i tenint en compte els usos del sòl de cada zona residencial (mapa 3 de l'annex). També s'han exclòs les persones menors de divuit anys en el càlcul. A continuació es mostren les zones on s'ha realitzat l'estudi i la població estimada.

Maroubra: la població total major de 18 anys censada l'any 2011 és de 23.989 persones. A continuació s'adjunta una imatge de l'àrea censada pertanyent a Maroubra, on també s'indica l'àrea que pertany a la zona del present estudi (fig.4G).



Fig.4G. Delimitació del barri de Maroubra. Marcat en vermell, l'àrea que comprèn l'estudi. Font: pàgina web de l'Australian Bureau of Statistics.

En blau es mostra l'àrea que comprèn el cens de població de Maroubra. En vermell, l'àrea que s'inclou a l'estudi.

S'ha aproximat l'àrea d'estudi a una setena part de l'àrea del cens. Així doncs, la població de Maroubra que s'inclou a l'estudi és de 3.427 persones.

Pagewood: la població total major de 18 anys de Pagewood segons el cens del 2011 és de 2.813 persones. A continuació es mostra una imatge de l'àrea que comprèn el cens, que, en aquest cas, és la mateixa àrea d'estudi (fig.4H)

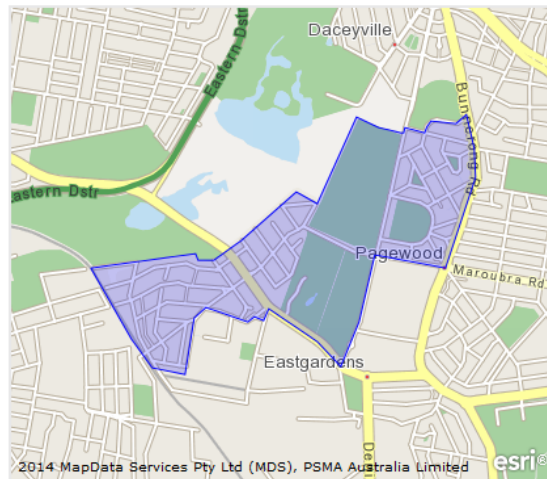


Fig.4H. Delimitació del barri de Pagewood. Font: pàgina web de l’Australian Bureau of Statistics.

Botany: la població total major de 18 anys de Botany segons el cens de 2011 és de 6.673 persones. A baix s’adjunta el mapa de localització del barri, així com també s’hi marca la part que engloba l’estudi (fig.4I).



Fig.4I. Delimitació del barri de Botany en blau, i en vermell, l’àrea inclosa a l’estudi. Font: pàgina web de l’Australian Bureau of Statistics.

En blau es mostra l’àrea que compren el cens de població de Botany i en vermell, l’àrea que s’inclou al present estudi.

S’ha aproximat l’àrea d’estudi de Botany a la meitat de l’àrea del cens. Així doncs, la població de Botany que s’inclou a l’estudi és de 3.337 persones.

Hillsdale: la població total major de 18 anys de Hillsdale segons el cens de 2011 és de 3.917 persones. A la imatge es pot veure l’àrea que compren el barri i que s’inclou a l’estudi (fig.4J)



Fig.4J. Delimitació del barri de Hillsdale. Font: pàgina web de l'Australian Bureau of Statistics.

Banksmeadow: la població total major d'edat de Banksmeadow és de 12 persones. Aquest suburbi s'inclou completament dins l'àrea d'estudi. L'àrea es mostra a la figura 4K.

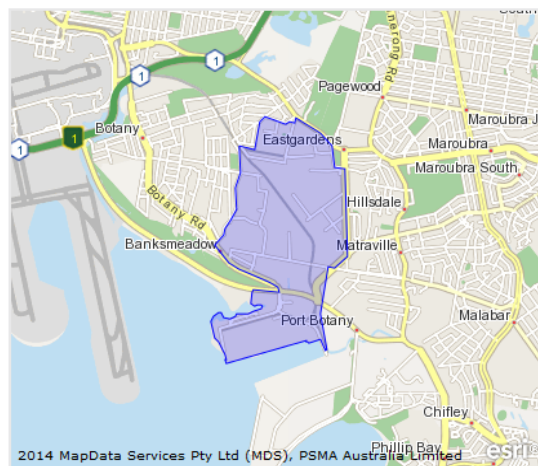


Fig.4K. Delimitació del barri industrial de Banksmeadow. Font: pàgina web de l'Australian Bureau of Statistics.

Matraville: al 2011 Matraville comptava amb 6.962 adults. En aquest mapa es marca l'àrea que aquest barri compren i també l'àrea on s'hi ha estudiat la població (fig.4L).

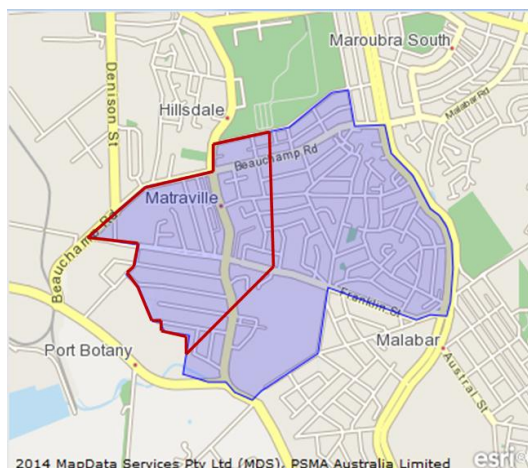


Fig.4L. Delimitació del barri de Matraville i, en vermell, l'àrea inclosa a l'estudi. Font: pàgina web de l'*Australian Bureau of Statistics*.

Pintat de blau, es mostra el barri de Matraville segons el cens de població i de vermell, la zona que s'inclou dins el diàmetre d'1 Km de distància al polígon industrial.

S'ha considerat que l'àrea que s'inclouria a l'estudi representa la meitat de l'àrea total del barri. Així doncs, la població de Matraville que es considera per l'estudi és 3.481 persones.

Eastgardens: Aquest barri té una població total de 657 persones. En aquest estudi es considera la plenitud d'aquest barri. A continuació se'n mostra la delimitació (Fig.4M)



Fig.4M. Delimitació del barri de Eastgardens. Font: pàgina web de l'*Australian Bureau of Statistics*.

A partir d'aquestes aproximacions s'obté que la població d'estudi total és 17.644 persones. Com ja s'ha vist, aquest número és una aproximació a l'alça.

Per saber el número de persones que s'han d'enquestar s'utilitza aquest número i l'equació explicada a l'inici d'aquest apartat. El resultat és el següent:

$$n = \frac{17644}{1 + \frac{0,05^2(17644 - 1)}{1,96^2(0,5 \cdot 0,5)}} = 376 \text{ persones}$$

Així doncs, s'hauran d'enquestar un mínim de 376 persones per a que l'estudi sigui representatiu de la població

4.2.3.Mètode de recollida d'enquestes

Per la recollida d'enquestes es va comptar amb l'ajuda de Diana Sánchez Espinoza. El contacte amb les persones va ser principalment mitjançant visita a domicili. Es visitava sobretot a les tardes però també s'hi va anar alguns matins, ja que així s'hi trobava gent gran. Sempre s'assegurava que la persona enquestada visqués a l'habitatge. Els habitatges eren escollits aleatòriament, però, com que normalment es treballava quan ja era fosc, els habitatges visitats van ser generalment els que tenien els llums encesos.

D'altra banda, també es va enquestar gent al carrer i als parcs de la zona. En aquests casos se'ls demanava l'adreça.

4.2.4.Disseny i descripció de l'enquesta

L'enquesta es va dissenyar de manera que fos fàcil i curta, doncs així s'augmentaria el percentatge de resposta i es requeriria menys esforç. Així doncs, es van escriure preguntes tancades i mixtes, normalment dicotòmiques però també amb alguna pregunta de resposta múltiple. Es va intentar formular preguntes concretes que no induïssin cap resposta. A l'annex s'adjunta el model d'enquesta.

Al principi de l'enquesta, es recullen les dades personals que es creu que poden estar associades amb el tema de l'entrevista. Així doncs, s'han considerat dades imprescindibles l'edat, el sexe, l'adreça i els temps que es porta vivint a l'habitatge. El nivell d'estudis no s'ha considerat rellevant.

A continuació, amb la pregunta 1 es determina si la persona té constància del problema de residus o de contaminació d'Orica. Aquest concepte es defineix àmpliament ja que, com s'ha vist a la introducció, el magatzem de residus de HCB no és l'única qüestió d'interès públic relacionada amb aquesta empresa, sinó que també hi ha la contaminació de sòls i aigües subterrànies de la zona. Com es va preveure i comprovar posteriorment, moltes vegades els enquestats no sabien diferenciar els problemes l'un de l'altre, de manera que es va fer una pregunta general que els englobés tots. Així doncs, si la resposta d'aquesta pregunta era positiva, es continuava amb les altres preguntes del qüestionari, mentre que si era negativa es parava el qüestionari. Aquesta resposta no es va considerar afirmativa si els enquestats responien en relació a la contaminació atmosfèrica pels fums de la indústria.

A la pregunta 2 es demana a l'entrevistat que defineixi el seu nivell de preocupació sobre els residus/contaminació d'Orica de l'1 al 5, on 5 és el nivell més alt.

La pregunta 3 és una pregunta subjectiva on se'ls demanava que descriguessin el seu nivell de coneixement sobre el tema. Aquesta resposta es relacionaria amb la de la pregunta 2.

A continuació, a la pregunta 4 es determinava si la persona enquestada havia assistit alguna vegada a les reunions periòdiques on els comitès locals CPRC i CLC expliquen la situació dels diferents projectes de transformació d'Orica i incentiven la participació ciutadana.

Finalment, a la última qüestió es preguntava la font d'informació de l'entrevistat. Aquesta pregunta era de resposta múltiple.

4.2.5. Tractament de les dades

Un cop recollides totes les enquestes necessàries, es van processar les dades utilitzant el programa IBM SPSS Statistics 21.

5. RESULTATS I DISCUSSIÓ

A continuació s'exposen els resultats de l'estudi experimental i, posteriorment, de l'estudi observacional social.

5.1. Estudi de toxicitat del HCBD

Aquest apartat es divideix en tres parts. D'una banda s'expliquen els experiments amb la soca CBDB1 i, de l'altra, dos experiments abiòtics amb HCBD.

5.1.1. Estudi de la interacció entre HCB i HCBD

Com ja s'ha esmentat a la introducció, una de les aplicacions del HCBD és el seu ús com a solvent d'altres substàncies clorades. És per això que, prèviament a la preparació dels cultius amb la soca CBDB1, va ser necessari realitzar un petit estudi de la interacció entre el HCB i el HCBD, amb l'objectiu de comprovar que no tot el HCBD es quedava adherit al HCB.

Els experiments es van fer en ampolles de 20 mL de capacitat i no es van fer per replicat. Es va utilitzar aigua en comptes de medi i es va aplicar una concentració exacta de HCBD a partir d'una solució estoc de 20000 μM de HCBD en metanol. Les ampolles es van segellar però les condicions es van mantenir aeròbies. A la taula 5A es resumeix la preparació dels experiments.

Taula 5A. Síntesi de la composició dels experiments abiòtics 1 i 2 d'interacció entre HCB i HCBD.

Components	Codi de l'experiment	
	1	2
Aigua bidestil·lada (mL)	15	15
HCBD (μM)	13,3	13,3
HCB (mg)	5	0

Després de tres dies de repòs, es va suposar que el HCBD dels experiments havia arribat a l'equilibri i es van analitzar amb cromatografia de gasos. Els resultats es mostren a la figura 5A.

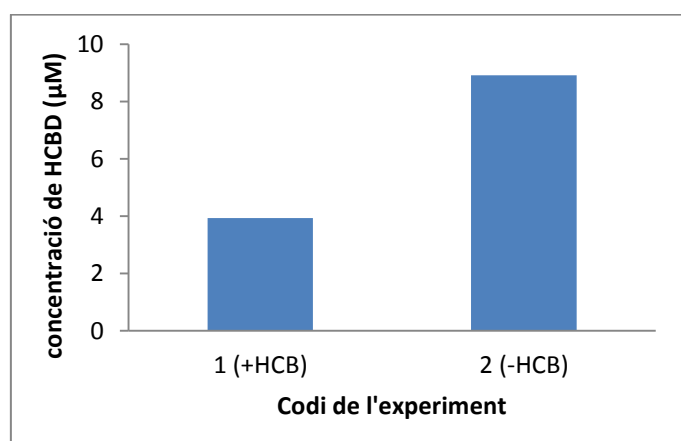


Fig.5A. Concentració d'HCBD dels experiments 1 i 2 després de tres dies de ser preparats.

Segons aquests resultats, hi ha un 40% menys de HCBD dissolt en l'experiment amb HCB que a l'experiment sense HCB. En conclusió, en els cultius amb HCBD i HCB, és possible que la

concentració real de HCBBD sigui menor que la teòrica. Tot i així, per concloure-ho caldria un estudi més exhaustiu que no es va poder realitzar per falta de temps.

5.1.2. Creixement de la soca CBDB1 amb HCBBD

Tal com s'ha explicat anteriorment, se sap que la soca CBDB1 pot declarar el HCB. És per això que es creu que el disseny d'un reactor biològic podria ser la solució al problema del magatzem de residus de HCB d'Orica. L'inconvenient, però, és que aquests residus no contenen només HCB sinó que també són rics en altres substàncies. Una d'aquestes substàncies és el HCBBD, i és per això que s'ha dut a terme un estudi sobre la toxicitat que aquest compost comporta per a la soca CBDB1.

Tot i que inicialment es van preparar 11 experiments (33 cultius), només s'explicaran els quatre més rellevants. A continuació es mostra el disseny experimental (fig.5B).

Taula 5B. Disseny experimental. Tots els experiments es van preparar per triplicat. Els codis dels experiments no són els originals i s'han modificat per facilitar la comprensió.

Codi de l'experiment	HCB	HCBBD	CBDB1
A	+	-	+
B	-	-	+
C	-	1 µL	-
D	+	1,6 µL	+

A és el control positiu estàndard. Això vol dir que les condicions d'aquest experiment són les estàndard utilitzades per al creixement de la soca CBDB1. L'objectiu és controlar que en condicions normals la soca CBDB1 creix, i que, per tant, els experiments s'han preparat correctament.

B és el control negatiu, que controla que no hi hagi creixement de la soca CBDB1 en absència de l'acceptor d'electrons HCB.

C és el control químic de l'experiment, que conté HCBBD però no conté la soca CBDB1. D'aquesta manera es pot observar si hi ha degradació abiòtica del compost.

D és l'experiment amb HCBBD i la soca CBDB1. La quantitat afegida manté la mateixa proporció amb el HCB que en els residus d'Orica. En els residus d'Orica hi ha, en mitjana, un 53% de HCB i un 27% de HCBBD en massa. És a dir que si s'hi afegeixen 5 mg de HCB al cultiu de la soca CBDB1, s'hi hauran d'afegir 2,5 mg de HCBBD, que en volum equivalen a 1,6 µL de HCBBD.

A continuació es presenten els resultats dels anàlisis cromatogràfics i de la microscòpia de fluorescència per a cada experiment.

Experiment A

El control positiu A es va analitzar dues vegades amb cromatografia de gasos. No va ser possible analitzar-lo el primer dia. Els resultats es mostren a la figura 5B.

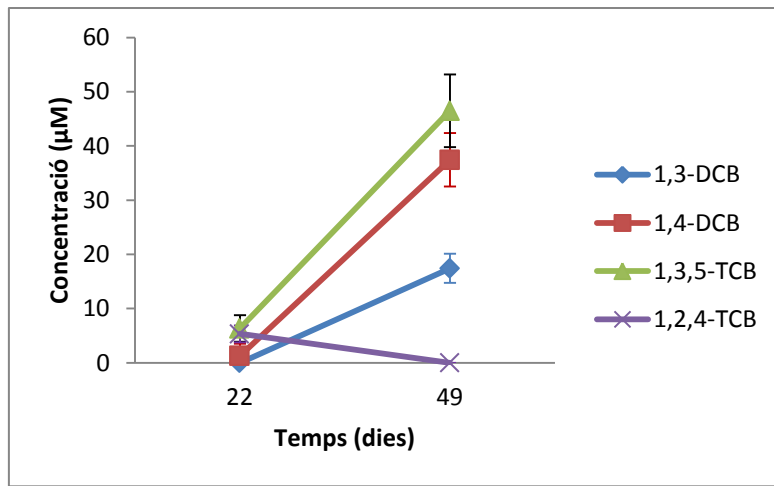


Fig.5B. Experiment A. Concentració dels productes de degradació de HCB en funció del temps. Les barres d'error corresponen a la desviació estàndard (triplicats).

Tal com es mostra a la figura 5B, s'observen productes de dechloració de HCB el dia 49 després de la inoculació. Els productes de dechloració, a més, corresponen als de la ruta de degradació que segueix la soca CBDB1. Així doncs, s'hi observen els productes finals de degradació 1,3,5-TCB, 1,3-DCB i 1,4-DCB. Al mateix temps, també s'hi pot veure la desaparició de 1,2,4-TCB, que dona lloc a l'aparició dels DCBs.

Tot seguit s'adjunta la figura 5C, que fa referència al creixement de la soca CBDB1 a l'experiment A. En aquesta figura s'observa un increment de cèl·lules significatiu cap al dia 56 després de la inoculació. Així doncs, es demostra que l'inòcul de la soca CBDB1 es troba actiu i que el procés de preparació de medi anaeròbic i la inoculació s'han realitzat correctament.

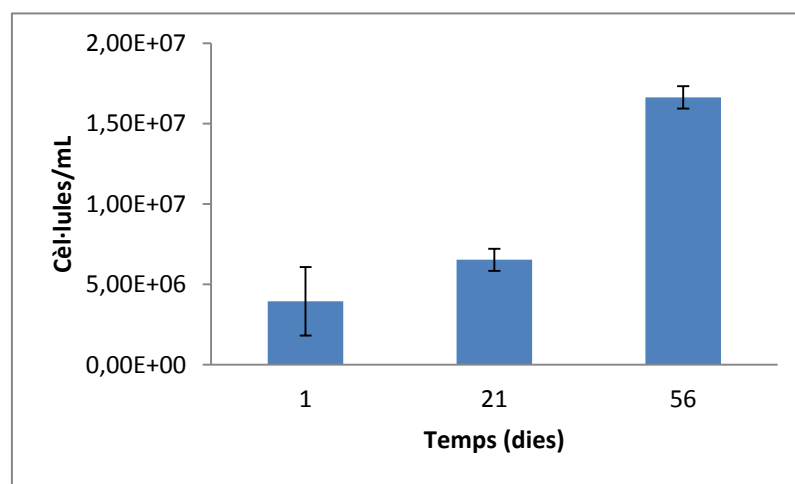


Fig.5C. Experiment A. Densitat cel·lular en funció del temps. El dia 1 es va calcular mitjançant les dades de quatre cultius. Les barres d'error corresponen a la desviació estàndard (triplicats).

Experiment B

L'experiment B correspon al control negatiu. A la figura 5D es mostren les dades de microscopia de fluorescència per a aquest experiment.

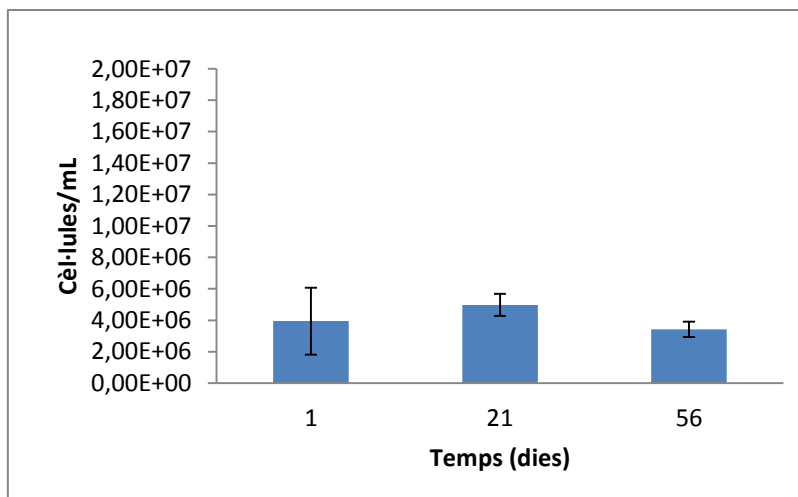


Fig.5D. Experiment B. Densitat cel·lular en funció del temps. Les dades de creixement del dia 1 corresponen a la mitjana de quatre cultius diferents. Les barres d'error corresponen a la desviació estàndard (triplicats).

Com es veu a la figura 5D, la densitat cel·lular de l'experiment B al llarg del temps és estable. En altres paraules, es comprova que la soca CBDB1 no creix en absència d'acceptor d'electrons i que no hi ha cap substància al medi que pugui ser utilitzada com a font d'energia pel bacteri.

Experiment C

L'experiment C correspon al control químic. Com es veu a la figura 5E, després de sis dies d'haver-hi afegit 1 μ L de HCBD, es va observar una disminució de la concentració de HCBD i l'aparició d'un producte de la seva degradació, el pentaclorobutadiè (PCBD). Aquest compost es va poder identificar mitjançant un anàlisi de GC-MS (cromatografia de gasos acoblada a espectrometria de masses). El PCBD no es comercialitza, de manera que no es va poder calibrar el cromatògraf.

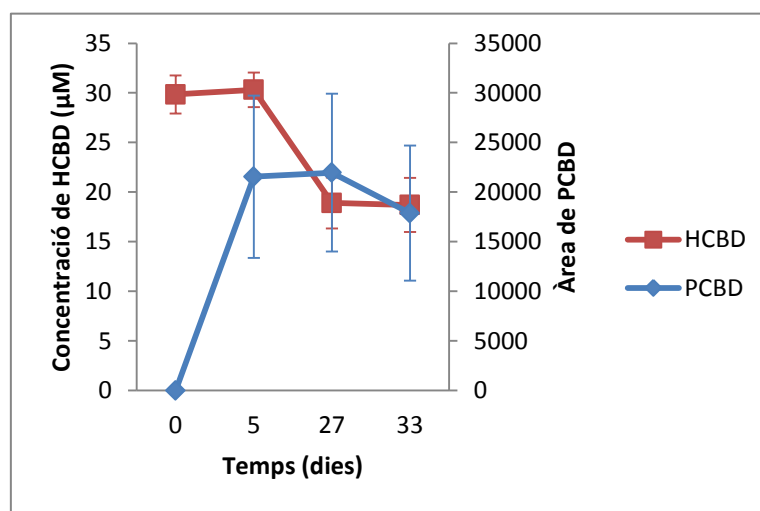


Fig.5E. Experiment C. Variació de la concentració de HCBD i de l'àrea de PCBD amb el temps. Les barres d'error corresponen a la desviació estàndard (triplicats)

En conclusió, la figura 5E mostra degradació abiòtica del compost HCBD després de sis dies.

Experiment D

L'experiment D conté HCBD en saturació i HCB. A la figura 5F es mostren les dades d'aquest experiment obtingudes per microscopia de fluorescència. Com es veu a la figura, la densitat cel·lular no augmenta amb el temps sinó que disminueix. Així doncs, es conclou que la soca CBDB1 és inhibida per la presència de HCBD en saturació.

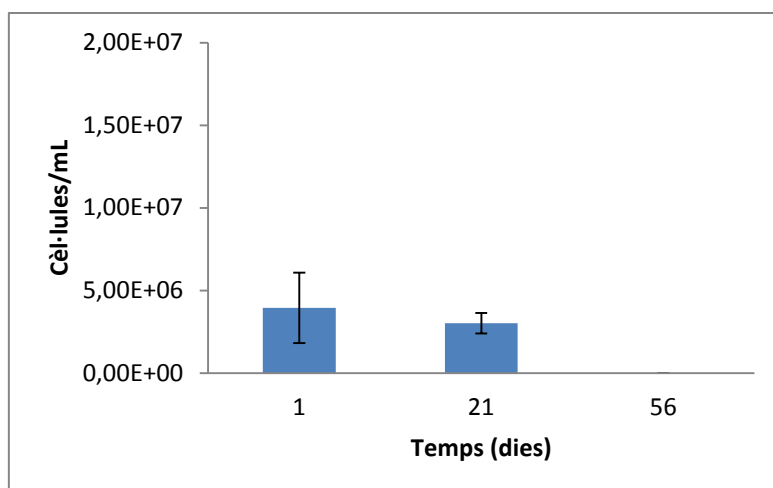


Fig.5F. Experiment D. Densitat cel·lular en funció del temps. Les dades de creixement del dia 1 corresponen a la mitjana de quatre cultius diferents. Les barres d'error corresponen a la desviació estàndard (tríplicats).

Les dades recollides amb cromatografia de gasos no són vàlides, ja que es va extreure volum dels cultius entre diferents dies d'anàlisi i això va provocar pèrdues de productes. Tot i això, en el primer anàlisi cromatogràfic es va observar la presència de PCBD, és a dir, part del HCBD ja s'havia degradat a HCBD. És per aquest motiu que no es pot conèixer la concentració inicial real del HCBD en el medi. Només és possible considerar la concentració teòrica calculada a partir de la solubilitat en aigua, que és aproximadament 10 μM a 20°C però, com s'ha vist a l'apartat 5.1.1, el HCBD podria tenir tendència a adherir-se al HCB, la qual cosa provocaria que la concentració de HCBD en solució fos menor. Tampoc es pot concloure si la inhibició de la soca CBDB1 és conseqüència de la presència de HCBD o de PCBD.

Així doncs, es pot concloure que la soca CBDB1 no pot sobreviure en medi saturat amb HCBD i que, per tant, s'hauria de buscar una manera de separar el HCBD del HCB en el residu d'Orica o investigar sobre concentracions de HCBD que puguin ser acceptables pel bacteri.

5.1.3.Degradació abiòtica del HCBD

Com ja s'ha vist a l'apartat anterior, durant l'anàlisi dels experiments amb HCBD es va observar l'aparició de PCBD. Així doncs, per comprovar que es tractava d'una degradació abiòtica i descobrir-ne l'element del medi que la feia possible es van dur a terme els següents experiments.

Primer de tot, per assegurar que aquest PCBD no provenia de les impureses del HCBD, es va analitzar la composició d'una mostra pura de 10 μL de HCBD amb GC-MS. Els resultats no van mostrar presència de PCBD en el HCBD pur, ni tan sols a concentracions traça.

Un cop aclarit aquest aspecte, es van preparar quatre experiments abiòtics: CC.1, CC.2, CC.3 i CC.4. En la preparació es van seguir les mateixes tècniques de cultiu de l'apartat 4.1.1., excloent-ne el pas de la inoculació. Les característiques de cadascun es mostren a la taula 5C.

Taula 5C. Experiments abiòtics de degradació de HCBD. Tots els experiments es van preparar en 20 mL de medi estèril i anaerobi i no se'n van fer replicats. Els codis dels experiments no són els originals i s'han modificat per facilitar la comprensió.

Codi de l'experiment	SL-9	Vitamina 7	HCB	HCBD (pur)
CC.1	+	+	-	1 µL
CC.2	+	+	+	1 µL
CC.3	-	+	-	1 µL
CC.4	+	-	-	1 µL

Com es veu a la taula, *CC.1* és una repetició del control químic *C* explicat a l'apartat 5.1.1. L'objectiu d'aquest experiment era comprovar que la degradació abiòtica del HCBD es reproduïa.

CC.2 conté HCB. Es va preparar per assegurar que en els cultius on hi havia HCB la degradació de HCBD també era abiòtica.

CC.3, és un control químic però sense afegir-hi solució SL-9 al medi. D'aquesta manera es comprovava si els elements traça del medi tenien alguna relació amb la reacció abiòtica. Es creia que hi podia tenir alguna relació ja que, en experiments d'altres estudiants del laboratori on s'hi treballava, semblava que aquesta degradació abiòtica no es detectava en medi sense solució SL-9.

Per últim, *CC.4* és un control químic sense afegir-hi vitamina 7. L'objectiu d'aquest experiment era comprovar si la solució vitamina 7 estava relacionada amb la degradació abiòtica del HCBD. Aquesta hipòtesi es basava en el fet que a la literatura s'haguessin descrit casos de degradació abiòtica de compostos en presència de vitamina B12.

Els diferents experiments es van mesurar al llarg del temps mitjançant cromatografia de gasos. A continuació es mostren els resultats.

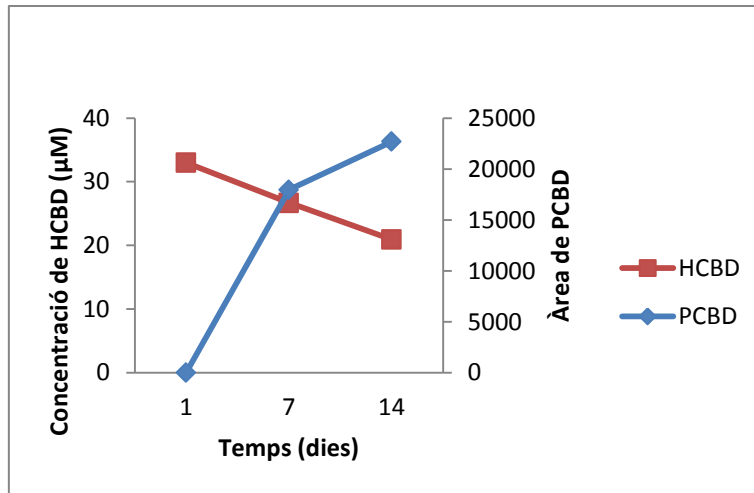


Fig.5G. Experiment CC.1. Concentració de HCBD i àrea de PCBD en funció del temps.

En la figura 5G es representen els resultats de l'experiment CC.1. Com s'observa, hi ha aparició de PCBD després de sis dies d'afegir el HCBD. Així doncs, es confirma que, en condicions anaeròbies, el HCBD es degrada abiòticament a PCBD.

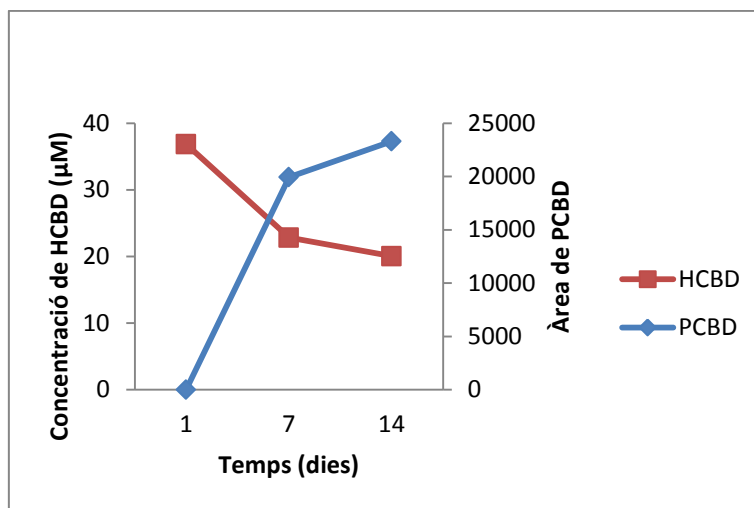


Fig.5H. Resultats de l'experiment CC.2. Concentració de HCBD i àrea de PCBD en funció del temps.

La figura 5H correspon a l'experiment CC.2, que conté HCB. Es pot apreciar un gràfic molt semblant a l'anterior. S'observa l'aparició de PCBD i la conseqüent disminució del HCBD.

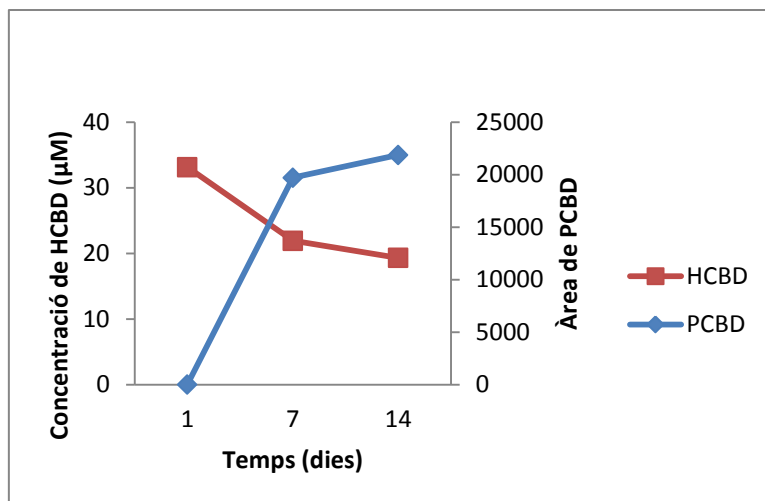


Fig.5I. Resultats de l'experiment CC.2. Concentració de HCBD i àrea de PCBD en funció del temps.

En la figura 5I s'hi representa l'anàlisi de CC.3, l'experiment sense elements traça o solució SL-9. S'observa el mateix patró que en les dues anteriors. Així doncs, es conclou que els elements traça no són un element important en la degradació abiòtica del HCBD.

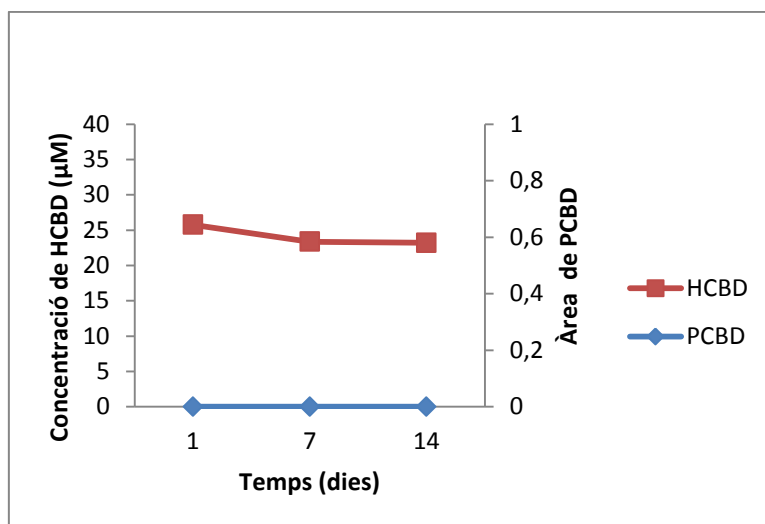
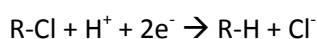


Fig.5J. Experiment CC.1. Concentració de HCBD i àrea de PCBD en funció del temps.

La figura 5J correspon a CC.4, experiment sense vitamina 7. A diferència de les altres figures, no s'hi observa degradació del HCBD a PCBD. La concentració de PCBD és sempre zero i la de HCBD es manté estable.

Amb aquest experiment es demostra que l'element responsable de la degradació abiòtica del HCBD és la solució de vitamina 7. Es creu que la vitamina B12 podria ser-ne la causant, ja que 50 µL/L és una concentració força elevada i la vitamina podria actuar de llançadora d'electrons. Això significa que la cobalamina o vitamina B12 s'oxidaria i transferiria dos electrons per a que la reacció de biodegradació de l'HCBD tingués lloc. La reacció es mostra a continuació:



On *R-Cl*, en aquest cas, seria el HCBD i *R-H* el PCBD.

Com a conseqüència d'aquests experiments, es conclou que 1) el HCBD es degrada abiòticament a PCBD en medi reductor esmenat amb 50 µL/L de vitamina B12 i 2) la soca CBDB1 no creix en cultius de 20 mL si són esmenats amb 1,6 µL de HCBD i s'hi produeix PCBD com a resultat d'una degradació abiòtica.

5.2. Estudi observacional

En aquest apartat es resumeixen els resultats de l'estudi de percepció social.

5.2.1. Resultats de les enquestes

La disposició de la gent per col·laborar va ser sorprenent i el fet que la majoria dels jardins no estiguessin tancats també va facilitar molt la recollida d'enquestes. Tot i això, el fet que moltes cases no disposessin de timbre i que a vegades a les entrades de les cases hi haguessin cartells en contra dels venedors porta a porta, a vegades va dificultar la feina.

En aquest apartat s'expliquen i es discuteixen els resultats de les enquestes.

5.2.1.1. Comparació de la mostra amb la població

Es van recollir un total de 378 enquestes. Un cop es tenien les dades, però, s'havia de comprovar que la mostra fos representativa de la població. Per ser-ho, a part de tenir una mida adequada (ja explicada al capítol 4.2.2), havia de tenir una estructura semblant a la població. Així doncs, es van calcular les proporcions de sexes i edats tant de la població com de la mostra i es van comparar. Els resultats es troben a la taula 5D i a les figures 5K i 5L.

Taula 5D. Proporció d'homes i dones de la població d'estudi i de la mostra. Les dades de la població s'han extret de la pàgina web de *Australian Bureau of Statistics*. Només s'han considerat persones majors de 18 anys i en el cas de la població s'ha considerat només la part dels barris que es va delimitar al capítol 4.2.2., considerant la distribució de gèneres homogènia en el territori.

	Homes (%)	Dones (%)
Població d'estudi	48,5	51,5
Mostra	57,3	42,7

Com es veu a la taula 5D, la mostra està formada per una quantitat més gran d'homes que de dones, mentre que en la població la freqüència d'ambdós gèneres és aproximadament la mateixa. Així doncs, es pot concloure que en la realització d'aquest estudi s'ha produït un esbiaix en la proporció de sexes que s'haurà de tenir en compte en els resultats.

A les figures 5K i 5L es veu l'estructura d'edats de la població i de la mostra, respectivament. Si es comparen aquestes figures, també es pot observar que la proporció d'homes és més gran que la de dones. A més a més, també es veu que la mostra és poc representativa de les persones de 75 anys o més i que, en contrast, conté massa representació del grup de 25 a 34 anys. Tot i això, el fet que no s'hagin pogut entrevistar prou persones majors de 85 anys és habitual i, en general, es pot considerar que l'estructura d'edats de la mostra és força representativa.

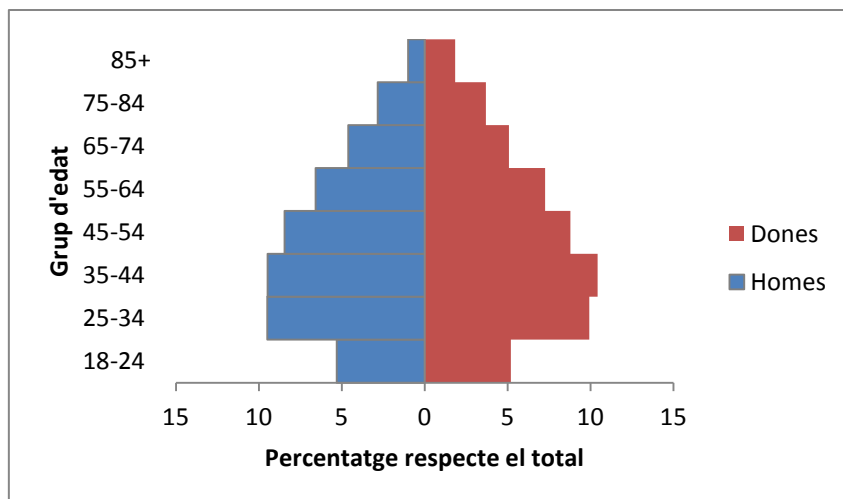


Fig.5K. Piràmide de població (població d'estudi).

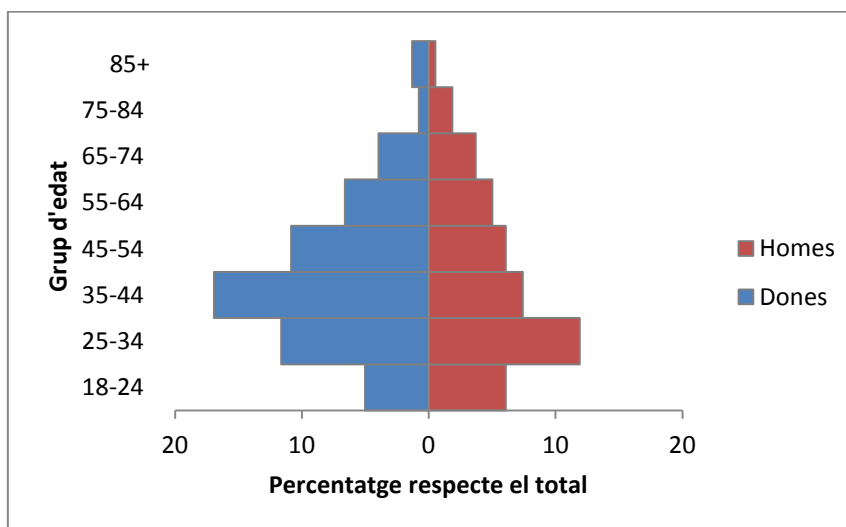


Fig.5L. Piràmide de població (mostra).

5.2.1.2. Grau de coneixement de la població

Per determinar el nivell de coneixement de la població, la primera pregunta de l'enquesta (veure Annexes) feia referència a si es tenia constància dels residus o contaminació d'Orica. A continuació es presenta una taula amb els resultats (taula 5E).

Taula 5E. Resposta de la pregunta número 1 de l'enquesta on es fa referència a si es té constància de la presència dels residus o la contaminació d'Orica. Les dades s'han calculat amb el programa informàtic SPSS Statistics. S'ha de considerar un error del 5% i un nivell de confiança del 95%.

Coneixement			
No		Sí	
Recoppte	%	Recoppte	%
109	28,8	269	71,2

Com es veu a la taula 5E, segons aquest estudi quasi el 30% de la població que viu en un radi d'1 km de la indústria Orica no ha sentit a parlar mai de cap contaminació i/o residu associat a aquesta.

En la figura 5M, però, es mostren les dades segons el temps de residència dels entrevistats. Es pot concloure que les persones que desconeixen el tema són, sobretot, persones que porten vivint com a màxim un any a la zona i que la gent que hi ha residit menys de 10 anys és la que té més desconeixement. A partir dels 10 anys el percentatge de desconeixement s'estabilitza al voltant del 10-15%.

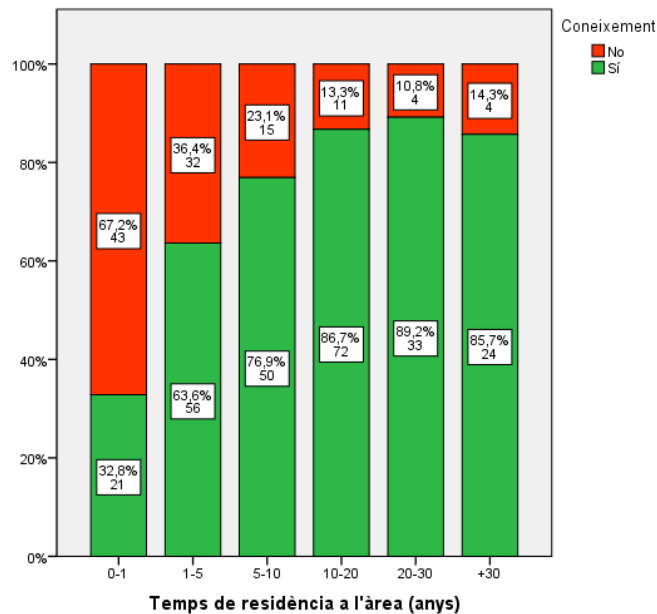


Fig.5M. Dades de coneixement del tema segons temps de residència a la zona. Les dades s'han calculat amb el programa informàtic SPSS Statistics. S'ha de considerar un error del 5% i un nivell de confiança del 95%.

També es va voler estudiar quin era el grau de coneixement subjectiu d'aquelles persones que sí que tenien constància de la qüestió d'Orica (pregunta 3 de l'enquesta). Com es veu a la figura 5N, es poden apreciar diferències entre sexes.

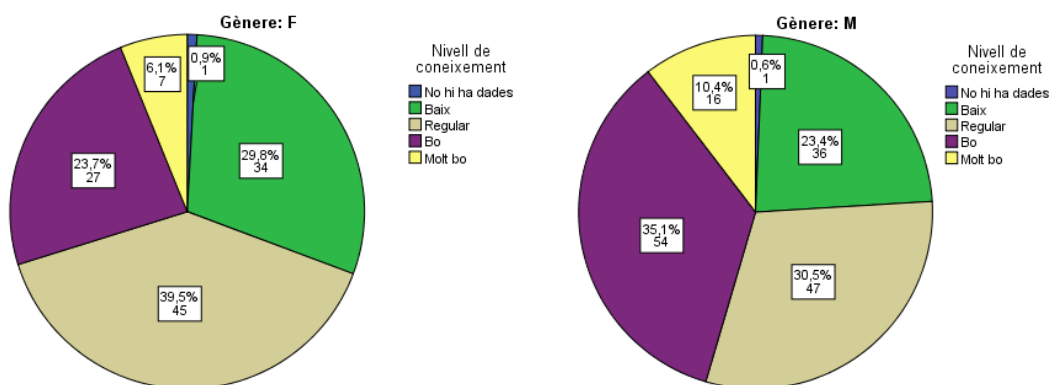


Fig.5N. Nivell de coneixement dels habitants de la zona, per gènere.

Segons la figura 5N, els homes declaren conèixer millor el tema que les dones, ja que el percentatge d'homes que asseguruen tenir un coneixement bo o molt bo supera el 45%, mentre que a les dones no arriba al 30%. D'altra banda, la categoria que predomina més en dones és la de grau de coneixement "Regular", mentre que en homes és la de "Bo". Tot i això, se sap que existeix diferència de percepcions entre sexes i per tant aquests resultats no són inesperats. En general, quasi el 65% de la població considera el seu nivell de coneixement regular o bo, una de cada quatre persones considera que té un nivell de coneixement baix, mentre que menys del 10% declara conèixer molt bé la situació.

5.2.1.3. Grau de preocupació de la població

Un dels objectius principals de l'estudi social era determinar el grau de preocupació de la població en relació al tema d'Orica. A la figura 5N es representa el nivell de preocupació envers el sexe, que es va mesurar en una escala del 1 (cap preocupació) al 5 (molta preocupació). S'ha de tenir en compte que les úniques persones que van contestar van ser aquelles que van afirmar conèixer el tema (269 persones).

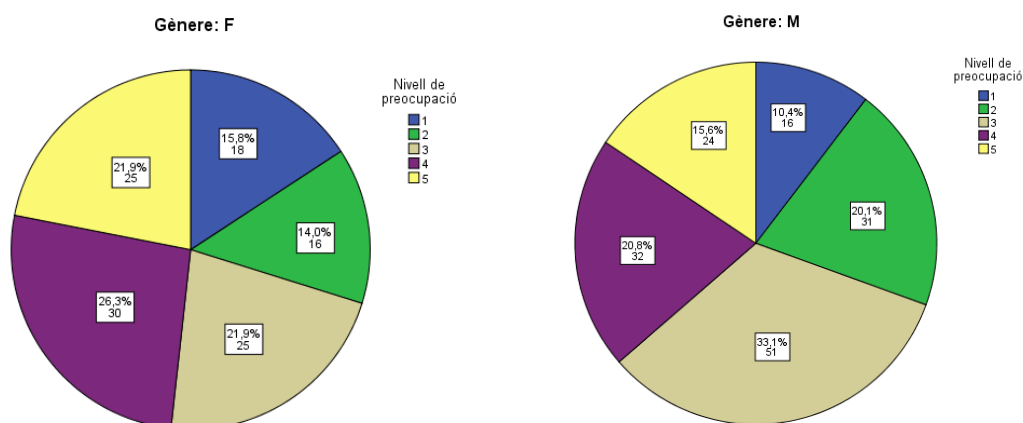


Fig.50. Nivell de preocupació de l'1 al 5 en funció del sexe. Les dades s'han calculat amb el programa informàtic SPSS Statistics. S'ha de considerar un error del 5% i un nivell de confiança del 95%.

Com s'observa a la figura 50, hi ha molta variabilitat de percepcions. Tot i això, es pot concloure que, en el cas dels homes, la categoria 3 (intermitja) de preocupació és la més freqüent (33,1%), mentre que en les dones ho és la categoria 4 (26,3%). D'altra banda, s'observa que en dones hi predominen percepcions més extremes, ja que els nivells 1 i 5 són més predominants que en el cas dels homes. En canvi, si es fa la mitjana ponderada dels nivells, es veu que el nivell de preocupació mitjà de les dones és 3,24 i el dels homes és 3,11, és a dir, que dones i homes tenen aproximadament el mateix nivell de preocupació. En conjunt, es pot afirmar que el 15-20% de la població està molt preocupada, mentre que el 10-15% no ho està gens. En resum, la població està mitjanament preocupada.

Pel que fa al factor de l'edat, no s'ha observat cap relació entre edat i nivell de preocupació.

5.2.1.4. Nivell de preocupació en funció del nivell de coneixement

D'altra banda, es creu que el nivell de coneixement de la població podria estar relacionat amb el nivell de preocupació. Per això, s'ha estudiat la correlació entre aquestes variables. A la figura 5P es representen els diferents nivells de preocupació en funció de cada nivell de coneixement subjectiu.

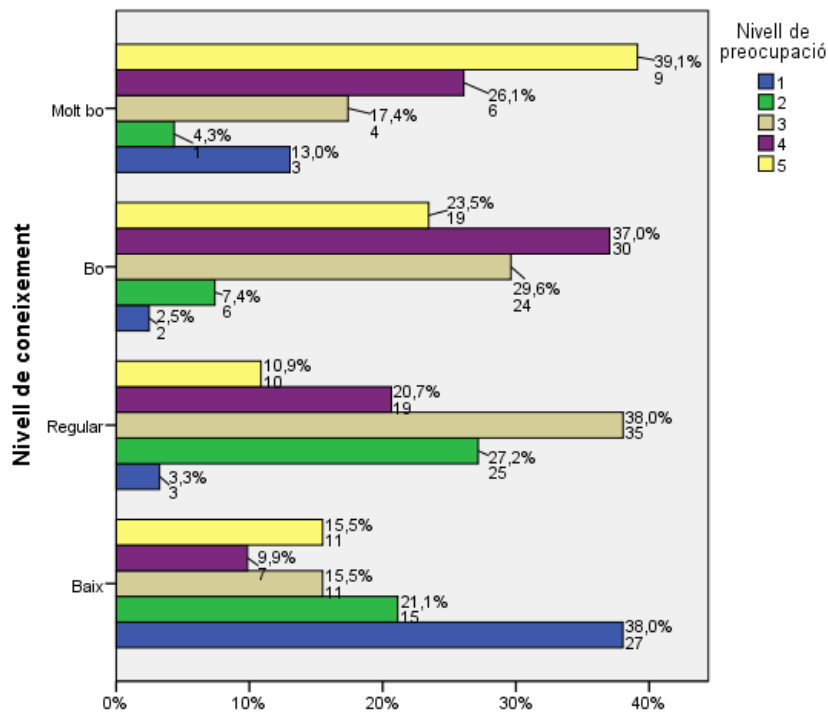


Fig.5P. Nivell de preocupació en funció de nivell de coneixement. Les dades s'han calculat amb el programa informàtic SPSS Statistics. S'ha de considerar un error del 5% i un nivell de confiança del 95%.

A partir de la figura es pot afirmar, d'una banda, que quasi el 40% de les persones que consideren el seu nivell de coneixement baix no està gens preocupat (nivell 1 de preocupació). D'altra banda, el 40% de les persones amb nivell de coneixement regular, estan mitjanament preocupades. Pel que fa a les persones amb nivell de coneixement subjectiu bo i molt bo, tenen nivells de preocupació elevats, de 4 i 5, respectivament. Així doncs, en aquest gràfic es veu clarament que la població que declara tenir més coneixement és també la que està més preocupada i a la inversa.

5.2.1.5. Assistència a les reunions dels comitès CPRC i CLC

Aquests dos comitès, el Community Participation & Review Committee (CPRC) i el Community Liaison Committee (CLC) són dos associacions formades per experts, representants del govern local i de la indústria i veïns afectats, que tenen com a objectiu acostar la discussió dels problemes d'Orica a la comunitat. Es reuneixen dues vegades a l'any amb l'objectiu d'incentivar la participació ciutadana i d'informar sobre la situació vigent. En concret, el CPRC

es centra en el problema dels residus de HCB emmagatzemats i el CLC en els altres projectes de descontaminació d'Orica, com són el del tractament d'aigua subterrània i la remeiació de mercuri associat a la Former Chloralkali Plant. A continuació es mostra la proporció de la població que assisteix a les reunions d'aquestes associacions.

La redacció d'aquesta pregunta no va ser l'adequada, ja que en comptes d'afegir la opció "sempre" s'haurien d'haver preguntat el número de vegades que les persones assistien a les reunions o si ho feien periòdicament. A la taula següent (5F) es mostren els resultats.

Taula 5F. Assistència a reunions dels comitès de la comunitat de veïns. Aquesta taula no contempla les persones que no tenen constància del problema.

Assistència a reunions del CPRC i/o CLC					
No hi ha dades		Mai		A vegades	
Recompte	Percentatge	Recompte	Percentatge	Recompte	Percentatge
1	0,4%	226	84,0%	42	15,6%

Segons aquesta taula, el 15,6% dels enquestats que tenien constància dels problemes de contaminació i de residus tòxics d'Orica assisteix o ha assistit alguna vegada a les reunions del CPRC i/o CLC. Aquest percentatge es considera força alt i demostra l'interès d'algunes persones per mantenir-se informades sobre l'actualitat dels problemes que les envolten.

5.2.1.6. Fonts d'informació consultades

També resultava interessant saber quines eren les fonts d'informació que la població d'estudi consultava per a informar-se sobre el tema. En la següent figura es mostra el percentatge de la població que consulta cada font d'informació.

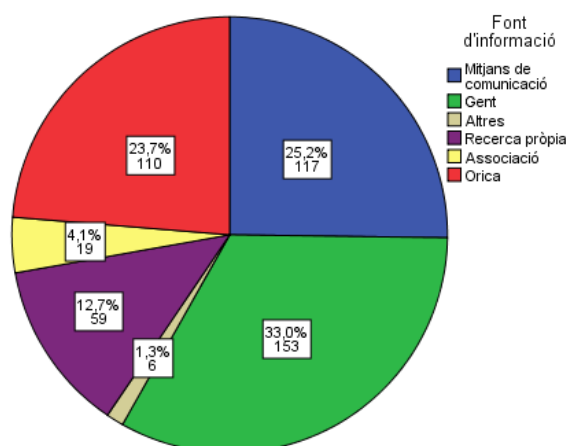


Fig.5Q. Fonts d'informació de la població respecte el problema d'Orica. Les dades s'han calculat amb el programa informàtic SPSS Statistics. S'ha de considerar un error del 5% i un nivell de confiança del 95%.

Segons la figura 5Q, les fonts d'informació principals són la gent (veïns, amics, familiars, persones que assisteixen a les reunions del CPRC o CLC i persones que treballaven a Orica), els mitjans de comunicació (en especial un diari local anomenat Southern Courier, que publica

dades sobre la situació dels residus i la contaminació d'Orica periòdicament) i Orica (que envia cartes informatives als veïns de la zona). D'altra banda, el 12,7% de la població fa recerca pròpia, i només el 4% s'informa a través d'associacions (majoritàriament pels comitès CPRC, CLC però també s'hi inclou Greenpeace i una associació local anomenada Hillsdale-Eastgardens Resident Action Group). Altres (1,3%) fa referència a persones que treballaven a la indústria Orica, a l'antiga ICI o a l'Ajuntament de Botany.

Tot i que Orica resulta ser una de les fonts d'informació predominants, molts entrevistats no la consideren ja que, o bé, no es llegeixen les seves cartes o no es creuen la informació que contenen. El mateix passa amb el CPRC i el CLC. Hi ha persones que no creuen en que aquestes associacions siguin de confiança i, per tant, tot i haver assistit a algunes reunions, no les consideren com a fonts d'informació principals.

5.2.1.7. Fonts d'informació en funció del nivell de preocupació

La consulta de fonts d'informació variades permet a la persona veure diferents punts de vista d'un mateix problema i ser més crític. És per això que es considera rellevant la relació entre les fonts d'informació consultades i el nivell de preocupació de la població. L'objectiu és, primer, estudiar la varietat de fonts d'informació que utilitza la població en funció del seu nivell de preocupació (taula 5G) i, segon, determinar quines fonts d'informació predominen segons el nivell de preocupació (observeu la figura 5Q).

A la taula següent es determinen el número de fonts consultades de cada persona en funció del seu nivell de preocupació. Pel que fa al nivell 1 de preocupació, es veu que totes les persones han consultat una o dues fonts d'informació com a màxim, i que la majoria d'elles (80%) només n'ha consultat una. En general, es pot afirmar que a mesura que les persones consulten més fonts d'informació tenen un nivell de preocupació més elevat. Tot i això, hi ha una excepció i és que, com es pot veure a la taula, hi ha una gran part de les persones molt preocupades (nivell 5) que només ha consultat una font d'informació.

Taula 5G. Número de fonts que consulta cada persona en funció del seu nivell de preocupació. El percentatge representa la proporció de persones amb el mateix nivell de preocupació que han consultat un determinat número de fonts d'informació.

Número de fonts d'informació	Nivell de preocupació				
	1	2	3	4	5
1	80 %	34%	28,9%	3,2%	46,9%
2	20%	57,5%	57,9%	64,5%	20,4%
3	0	8,5%	13,2	24,3%	20,4%
4	0	0	0	8%	10,3%
5	0	0	0	0	2%

A la figura 5R es relacionen les variables de font d'informació amb nivell de preocupació.

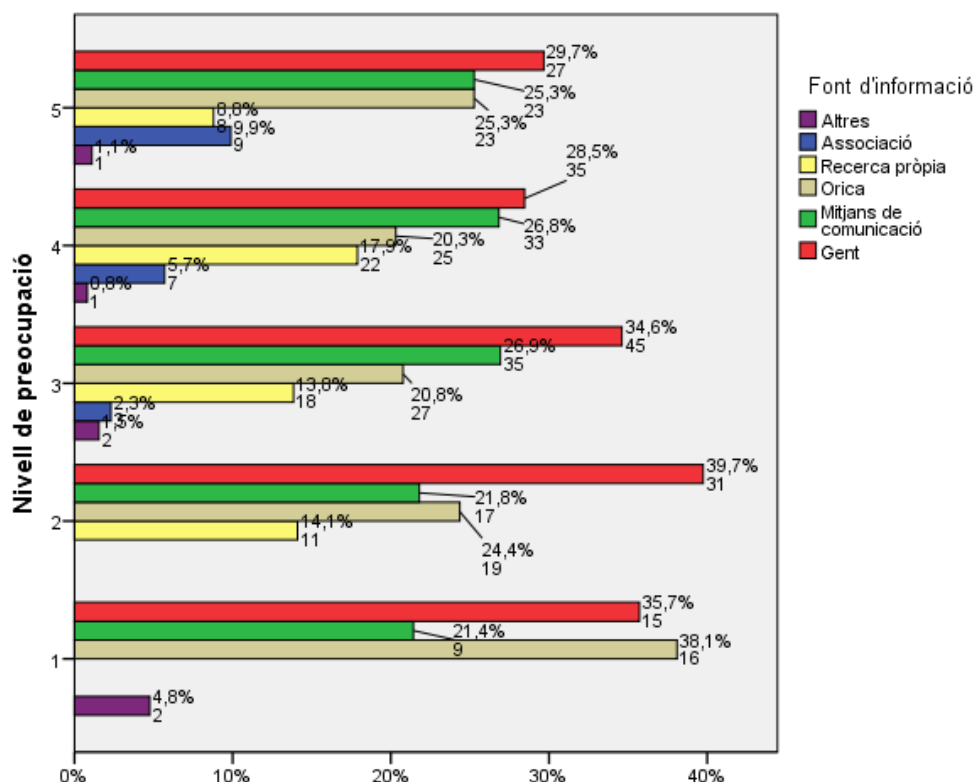


Fig. 5R. Gràfic de la relació entre el nivell de preocupació de la població i les fonts d'informació consultades. Les dades s'han calculat amb el programa informàtic SPSS Statistics. S'ha de considerar un error del 5% i un nivell de confiança del 95%.

En general, a la figura 5R s'observa que tota la població s'informa més o menys en la mateixa proporció a través dels mitjans de comunicació i la gent, mentre que la importància de les altres fonts d'informació varia més en funció del nivell de preocupació de cada persona. Pel que fa a les persones menys preocupades, per exemple, s'informen més a partir de les cartes d'Orica que les altres persones. D'altra banda, curiosament, les persones de la categoria "altres", que són aquelles que han treballat a Orica, tenen percepcions molt variades.

També es pot afirmar que part de la població amb nivells de preocupació entre 3 i 5 s'informa a través d'associacions i que algunes persones, excepte les que no estan gens preocupades, fan recerca pròpia.

5.2.2. Conclusions de l'anàlisi d'enquestes

D'aquestes dades es pot concloure que:

1. El 30% de la població que viu a un radi d'1 km d'Orica no té constància dels problemes de residus i contaminació. Tanmateix, el coneixement de la gent augmenta amb els anys de residència.
2. Quasi el 65% declara tenir coneixement regular o bo sobre el tema, el 25% coneixement baix i el 10% coneixement molt bo. Els homes declaren nivells de coneixement superiors als de les dones.

3. El 15% de la població ha assistit alguna vegada a les reunions dels comitès CPRC i CLC.
4. La gent, els mitjans de comunicació i Orica són les principals fonts d'informació.
5. Les persones amb nivells de coneixement subjectiu més alts són també les que tenen nivells de preocupació més elevats.
6. En general, les persones que tenen un nivell de preocupació baix consulten menys fonts d'informació que les que tenen un nivell de preocupació més alt.
7. Les persones menys preocupades s'informen més a partir de les cartes d'Orica que les que estan més preocupades.
8. Les persones menys preocupades no fan recerca pròpia.
9. Part de la població que està força o molt preocupada (nivells 3-5) s'informa a través d'associacions.

5.2.3. Crítiques a la metodologia

Tot i que l'enquesta es va preparar amb deteniment, algunes preguntes no van ser prou clares i detallades. Detectar les mancances o limitacions de les enquestes és important per a que futurs estudis les tinguin en compte. A continuació es fan algunes crítiques.

D'una banda, pel que fa a la pregunta dels anys de residència, no considera la possibilitat que algunes persones visquessin al mateix barri abans de traslladar-se a l'habitatge actual.

En relació a la pregunta de si tenen constància sobre el tema, és força ambigüa i s'hauria de trobar una manera de poder preguntar a la gent en relació a cada problema per separat. A més, els residus i la contaminació no van ser provocats per Orica pròpiament, sinó per ICI, i això podria confondre a la població.

D'altra banda, com ja s'ha dit abans, a la pregunta relacionada amb les reunions dels comitès s'hauria de fer referència al número de vegades que ha assistit cada persona i a si la seva assistència és puntual o periòdica.

Finalment, hagués sigut interessant tenir dades del nivell d'educació de la població, així com també de la seva procedència i dels anys que han viscut al país.

5.2.4. Altres resultats

Malgrat que les enquestes són bones per generalitzar la tendència poblacional, les opinions o percepcions aïllades no hi queden reflectides. Per això, en aquest apartat es donen a conèixer les percepcions particulars d'algunes persones.

Durant la recollida d'enquestes, es va parlar amb gent que vivia molt a prop de la indústria. Aquestes persones estaven, generalment, més preocupades que les que vivien més lluny. A més, algunes persones d'edat avançada asseguraven que patien o havien patit problemes de salut com a causa de la indústria Orica (per exemple, càncer de ronyó).

Pel que fa als veïns de Hillsdale, molts estaven més preocupats per la pila de sal que hi havia al recinte industrial que pels residus tòxics o la contaminació de l'aigua. Això és degut a que aquesta gran pila de sal es troba just al costat de Denison Street, on comença el barri de Hillsdale, i per tant és molt visible, com es pot veure a la figura 5S. Moltes persones afirmaven

que no creien que aquella pila fos només sal i que tenien por que en dies ventosos s'escampés per les cases dels carrers de més a la vora. També els preocupava molt la notícia que anys enrere s'havia publicat sobre la contaminació amb mercuri d'un parc infantil de la zona de Hillsdale.

Segons els veïns del carrer Denison Street (Hillsdale), anys enrere la indústria alliberava molt males olors. Pel que fa a l'actualitat, les olors han desaparegut però, de tan en quant, es produeixen explosions a la indústria i sonen les alarmes d'emergència. Segons un dels veïns de la zona, una d'aquestes explosions va cobrir la façana d'una casa i el seu jardí d'un polsim negre i Orica va dir als propietaris que si no informaven els veïns o a l'administració local del que havia succeït, els netejarien la casa aquell mateix dia.

Algunes persones asseguraven haver conegut a persones que havien treballat a la indústria, emmalaltit i mort. En general, la població de la zona estava conscienciada sobre la contaminació de l'aigua però no semblaven tenir tan coneixement sobre els residus de HCB emmagatzemats.

D'altra banda, la majoria de gent estava molt interessada en saber quan tancarien la indústria, mentre que una petita proporció de la població assegurava no estar gens preocupada pel tema, ja que, o bé consideraven que vivien prou lluny i no els afectava, o bé pensaven que el problema estava gairebé solucionat.

Amb el present estudi es va motivar, de manera no intencionada, l'interès de moltes persones en començar a fer recerca i participar als comitès, persones que fins llavors no havien considerat que aquest problema fos important.



Fig.55. Pila de sal de la indústria Orica utilitzada en el procés productiu de la Chloralkali Plant (vista des de Denison Street, Hillsdale).

6.CONCLUSIONS

Aquest estudi demostra que la viabilitat de bioremeiació amb la soca CBDB1 no és possible donades les característiques naturals del residu i que s'hauria de fer un tractament previ de separació dels diferents components, o bé, investigar si existeixen concentracions llindar de la toxicitat de HCBd per la soca CBDB1. D'altra banda, al laboratori de Sidney s'estan fent altres estudis de biodegradació amb bacteris autòctons de la zona que semblen donar millors resultats. També s'haurien de fer estudis sobre la degradació abiòtica del HCBd en condicions reductores utilitzant altres llançadors d'electrons més assequibles, ja que aquesta també podria ser una possibilitat per a la destrucció del HCBd.

Pel que fa a l'estudi social, es pot concloure que la població del voltant està mitjanament preocupada i que encara hi ha persones que, tot i que vivint en un radi d'1 km de distància, no coneixen els problemes que ha causat Orica. D'altra banda, també s'ha vist que com més coneixement tenien les persones entrevistades, més nivell de preocupació declaraven i que les persones menys preocupades eren les que s'havien informat més a partir de les cartes que l'empresa Orica els envia periòdicament. A més, es pot afirmar que les persones que tenien nivells de preocupació més elevats havien consultat més fonts d'informació.

Per acabar, es pot concloure que la participació dels veïns en les reunions dels diferents comitès que discuteixen sobre la contaminació de les aigües subterrànies i sobre els residus de HCB és força alta i que, a banda dels resultats de les enquestes, hi ha moltes anècdotes i percepcions personals que són, a vegades, difícils de creure.

7.REFERÈNCIES

Llibres

Adrian, L. (1999). *Reduktive Dechlorierung von Trichlorobenzolen durch anaerobe Mikroorganismen*. Berlin: www.dissertetion.de

Lee, C.C., (2005) *Environmental Engineering Dictionary*, 4th Edition. Oxford: Government Institutes.

Articles científics

Adrian, L., Szewzyk U., Wecke, J. and Görisch, H. (30 de novembre del 2000) Bacterial dehalorespiration with chlorinated benzenes. *Nature*, 408, 580-583.

Marco-Urrea, E., Reddy, C.A. (2012) Degradation of Chloro-organic Pollutants by White Rot Fungi. *Microbial Degradation of Xenobiotics, Springer*, Chapter 2, 31-66.

Jankowski, J. and Beck, P. (2000) Aquifer heterogeneity: hydrogeological and hydrochemical properties of the Botany Sands aquifer and their impact on contamination transport. *Australian Journal on Earth Sciences*, 47, 45-64.

Adrian, L., Görisch, H. (14 de febrer del 2002) Microbial transformation of chlorinated benzenes under anaerobic conditions. *Research in Microbiology*, 153, 131-137.

Jayachandran, G., Görisch, H., Adrian, L. (16 d'octubre del 2003) Dehalorespiration with hexachlorobenzene and pentachlorobenzene by *Dehalococcoides* sp. strain CBDB1. *Archives of Microbiology*, 180, 411-416.

Bunge, M., Adrian, L., Kraus, A., Opel, M., Lorenz, W.G., Andreesen, J.R., Görisch, H. and Lechner, U. (23 de gener de 2003) Reductive dehalogenation of chlorinated dioxins by an anaerobic bacterium. *Nature*, 421, 357-360.

Rosenthal, H., Adrian, L., Steiof, M. (27 de novembre de 2003) Dechlorination of PCE in the presence of Fe⁰ enhanced by a mixed culture containing two *Dehalococcoides* strains. *Chemosphere*, 55, 661-669.

Adrian, L. ERC-group microflex: microbiology of *Dehalococcoides*-like Chloroflexi. 30 de juliol de 2009. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 8, 225-229.

Wagner, A., Cooper, M., Ferdi, S., Seifert, J. and Adrian, L. (2012) Growth of *Dehalococcoides mccartyi* strain CBDB1 by reductive dehalogenation of brominated benzenes to benzene. *Environmental Science and Technology*, 46, 8960-8968.

Schipp, C. J., Marco-Urrea, E., Kublik, A., Seifert, J. and Adrian, L. Organic cofactors in the metabolism of *Dehalococcoides mccartyi* strains. *Philosophical Transactions of the Royal Society, Biological Sciences*. 368.

Adrian, L., Rahnenführer, J., Goborn, J. and Hölscher, T. (12 d'octubre del 2007) Identification of Chlorobenzene Reductive Dehalogenase in *Dehalococcoides* sp. strain CBDB1. *Applied Environmental Microbiology*, 73, 7717-7724.

Jayachandran, G., Görisch, H., Adrian, L. (15 d'octubre de 2004) Studies on hydrogenase activity and chlorobenzene respiration in *Dehalococcoides sp.* strain CBDB1. *Archives of Microbiology*, 182, 498–504.

Tschech, A. and Pfennig, N. (febrer de 1984) Growth yield increase linked to caffeine reduction in *Acetobacterium woodii*. *Archives of Microbiology*, 137, 163-167.

He, J., Ritalahti, K. M., Aiello, M. R. and Löffler, F. E. (1 de Novembre de 2002) Complete Detoxification of Vinyl Chloride by an Anaerobic Enrichment Culture and Identification of Reductively Dechlorinating Population as a *Dehalococcoides* Species. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 996-1003.

Pàgines web

Orica (maig 2014). *Application to export HCB waste for destruction- May 2014*. Consulta de Juny de 2014 de <http://www.orica.com/Locations/Asia-Pacific/Australia/Botany/Botany-Transformation-Projects/Stored-HCB-Waste/application-to-export-hcb-waste-for-destruction-may-2014>

Orica (n.d.). *About Us*. Consulta de juny de 2014 de <https://www.orica.com/About-Us/About>.

Orica (n.d.). *Site Background*. Consulta de juny de 2014 de <http://oricabotanytransformation.com/index.asp?page=3>

Tourism Australia (n.d.). *El tiempo en Sídney*. Consulta de juny de 2014. <http://www.australia.com/es/about/key-facts/weather/sydney-weather.aspx>

Department of Primary Industries, Office of Water. *Botany Sand Beds Aquifer* (n.d.) Consulta del juny de 2014 de <http://www.water.nsw.gov.au/Water-management/Water-quality/Groundwater/Botany-Sand-Beds-aquifer/Botany-Sands-Aquifer/default.aspx>

United Research Services. *Botany Groundwater Cleanup Project – Environmental Impact Statement. Hydrogeology, Chapter 12* (n.d.). Consulta de juny de 2014 de http://www.google.es/url?url=http://www.oricabotanytransformation.com/files/pdf/reports/gw/eis/bgcprojectgp_eis_ch12.pdf&rct=j&frm=1&q=&esrc=s&sa=U&ei=Rm2tU--cFcOQ0AX0rQE&ved=0CCsQFjAE&sig2=lvilrfxRnlqIXOdYiT9Dg&usg=AFQjCNFPL5mRPKw0VtfRr8G9DxUWTEQc7Q

Australian Government, Geoscience Australia (2013) *Earthquake Ground Shaking Susceptibility of the Botany Area, New South Wales*. Consulta de juny de 2014 de http://www.google.es/url?url=http://www.ga.gov.au/corporate_data/75265/Rec2013_026.pdf&rct=j&frm=1&q=&esrc=s&sa=U&ei=I3CtU4CFE6Wc0QXHsoHgBA&ved=0CBYQFjAA&sig2=VsbwDrfLjJCVdMzqnsnBbg&usg=AFQjCNHwCw6lhjpwXUpR-p59iJViku_mtw

Sydney Water (setembre de 2010). *Botany Wetlands*. Consulta de juny de 2014 de https://www.google.es/url?url=https://www.sydneywater.com.au/web/groups/publicwebcontent/documents/document/zgrf/mdq0/~edisp/dd_044106.pdf&rct=j&frm=1&q=&esrc=s&sa=

U&ei=VXGtU5PwONK20QWh84DADw&ved=0CBQQFjAA&sig2=EiGry3VTmheCPTVlqGCOPA&usg=AFQjCNFA0QPnQ5bgaCdbFZjfAtiXBvqGw

Sydney Ports (març de 2009). *History of Penrhyn Estuary*. Consulta de juny de 2014 de http://www.sydneyports.com.au/corporation/news/other_newsletters/pbe_newsletter_mammar_2009/history_of_penrhyn_estuary

Australian Bureau of Statistics (2012). *2011 Census Community Profiles*. Consulta de juny de 2014 de http://www.censusdata.abs.gov.au/census_services/getproduct/census/2011/communityprofile/SSC11112?opendocument&navpos=220

EPA New South Wales (16 de maig de 2014). *Orica Botany*. Consulta de juny de 2014 de <http://www.epa.nsw.gov.au/oricabotanycttee/oricaremediatsoilwater.htm>

Orica (n.d.). *Botany Groundwater Cleanup Project*. Consulta de juny de 2014 de <http://oricabotanytransformation.com/index.asp?page=2>

Orica (n.d.). *Community*. Consulta de juny de 2014 de <http://www.orica.com/Locations/Asia-Pacific/Australia/Botany/Community>

Orica (març de 2014). *Former ChlorAlkali Plant Mercury Remediation Project*. Consulta de juny de 2014 de <http://www.orica.com/Locations/Asia-Pacific/Australia/Botany/Botany-Transformation-Projects/Mercury-Remediation/publications-and-reports#fact>

Orica (n.d.). *Project overview (Car Park Waste)*. Consulta de juny de 2014 de <http://www.orica.com/locations/asia-pacific/australia/botany/botany-transformation-projects/car-park-waste/project-overview/project-overview>

La Perouse (n.d.). *Penrhyn Estuary-Mercury*. Consulta de juny de 2014 de http://laperouse.info/?page_id=3475

EPA New South Wales (maig de 2013). *Botany Mercury Independent Review*. Consulta de maig de 2014 de <http://www.google.es/url?url=http://www.epa.nsw.gov.au/resources/oricabotanycttee/130314oricasow.pdf&rct=j&frm=1&q=&esrc=s&sa=U&ei=cnqtU5u5Feiw0AWMwoBo&ved=0CBQQFjAA&sig2=3MvAb7TdgmFMw3BBzBxsjg&usg=AFQjCNFjCWtnvOZnd5wdrS5x-XD5Ko7fjA>

Orica (n.d.). *Overview of Stored HCB Waste and Destruction*. Consulta de maig de 2014 de <http://www.orica.com/Locations/Asia-Pacific/Australia/Botany/Botany-Transformation-Projects/Stored-HCB-Waste/Overview-of-Stored-HCB-Waste-and-Destruction>

National Toxics Network Inc. (n.d.). *Objection to Orica Australia's application to export to Germany its Stockpile of the Pops Waste, Hexachlorobenzene and Associated Material for Incineration*. Consulta de maig de 2014 de http://www.google.es/url?url=http://ntn.org.au/wp/wp-content/uploads/2010/02/hcb_

objection_final.pdf&rct=j&frm=1&q=&esrc=s&sa=U&ei=zX-tU4DxKKKy0QXUuoHoCQ&ved=0CBoQFjAB&sig2=0zItSvILhwANIJWwXVfZfQ&usg=AFQjCNFuP6Vb0zrMpZwFTB8qtRuQ-ggY7A

Greenpeace (6 de gener de 2011). *Australian toxic waste export stopped just in time*. Consulta de juny de 2014 de <http://www.greenpeace.org/international/en/news/features/Australian-toxic-waste-export-stopped-just-in-time/>

Stockholm Convention (2001). *The 12 Initial POPs under the Stockholm Convention*. Consulta de maig de 2014 de <http://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/The12InitialPOPs/tabid/296/Default.aspx>

Basel Convention (n.d.). *Text of the Convention*. Consulta de juny de 2014 de <http://www.basel.int/TheConvention/Overview/TextoftheConvention/tabid/1275/Default.aspx>

UNECE (n.d.). *Hexachlorobutadiene*. Consulta de juny de 2014 de <http://www.google.es/url?url=http://www.unece.org/env/lrtap/TaskForce/popsxg/2000-2003/hcbd.pdf&rct=j&frm=1&q=&esrc=s&sa=U&ei=qIGtU9mWN8TO0AXutYDgDA&ved=0CBYQFjAA&sig2=E6-EP4nUBW4TRgCZgY12qQ&usg=AFQjCNEr-h1UONoWIMml631uWAojbbvXaQ>

EPA US (n.d.). *Hexachlorobutadiene*. Consulta de juny de 2014 de <http://www.epa.gov/ttn/atw/hlthef/hexa-but.html>

International Agency for Research on Cancer (n.d.). *Hexachlorobutadiene*. Consulta de juny de 2014 de http://www.google.es/url?url=http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol79/mono79-18.pdf&rct=j&frm=1&q=&esrc=s&sa=U&ei=RoKtU42RAuq20QX_xIHQA&ved=0CCoQFjAD&sig2=tRqnKKDuYVnrnJslNO1ag&usg=AFQjCNH8Hiiu-bRq-w4eNlrf8i9DZf3xNg

World Health Organisation (n.d.). *Hexachlorobutadiene*. Consulta de juny de 2014 de http://www.google.es/url?url=http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/hexachlorobutadienesum.pdf&rct=j&frm=1&q=&esrc=s&sa=U&ei=sYKtU7XnA6WX0QXFyYgCw&ved=0CBQQFjAA&sig2=7tJjkbQVRXxlLcaLIUNJng&usg=AFQjCNHid2XfPDVeXHQzwwj7cXVfzcGomQ

EPA US (febrer de 2003). *Health Effects Support Document for Hexachlorobutadiene*. Consulta de maig de 2014 de http://www.google.es/url?url=http://water.epa.gov/action/advisories/drinking/upload/2004_01_16_reg_determine1_support_cc1_hexachlorobutadiene_healtheffects.pdf&rct=j&frm=1&q=&esrc=s&sa=U&ei=hYotU8KvOMqX0QWf-YHgAg&ved=0CBQQFjAA&sig2=gMBuv4_OwoefUEu1EUGURw&usg=AFQjCNGdPvje-lobJmlibR5M7vK6yuGmlA

Nacions Unides (18 de maig de 2011). *Proposal to list hexachlorobutadiene in Annexes A, B and/or C to the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants*. Consulta de juny de 2014 de <http://www.google.es/url?url=http://chm.pops.int/TheConvention/POPsReviewCommittee/POPRCRecommendations/tabid/243/ctl/Download/mid/10485/Default.aspx%3>

Fid%3D5%26ObjID%3D11967&rct=j&frm=1&q=&esrc=s&sa=U&ei=yoStU7DSE8md0wXW7YHoCw&ved=0CD8QFjAl&sig2=zefd_4wdO6wWEAoQW69jmA&usg=AFQjCNHYEN5IOEs86khlzLtdpWQeDRzkmg

Independent Review Panel (novembre de 2006). *Orica HCB Waste Stockpile Safe Interim Storage and Destruction*. Consulta de maig de 2014 de http://www.google.es/url?url=http://www.planning.nsw.gov.au/planningsystem/pdf/orica_hcb_panel_report.pdf&rct=j&frm=1&q=&esrc=s&sa=U&ei=2YatU53INqfO0AXJ3YHYDg&ved=0CBcQFjAA&sig2=X1d1yE77Qlr9FRlu5hjK6Q&usg=AFQjCNHHw5yl4nk48C-k5GAG765Cga6C1g

Universidad Pontificia de Comillas (13 de diciembre de 2012). *Tamaño necesario de la muestra: ¿Cuántos sujetos necesitamos?* Consulta del maig de 2014 de <http://www.upcomillas.es/personal/peter/investigacion/Tama%F1oMuestra.pdf>

8.PRESSUPOST

RECURSOS HUMANOS			
Concepte	Quantitat	Preu per unitat (€/unitat)	Preu total (€)
Hores de laboratori	480	15	7.200
Hores de treball de camp	100	15	1.500
Hores d'oficina	45	13	585
Subtotal recursos humans: 9.285 €			

RECURSOS MATERIAIS			
Concepte	Quantitat	Preu per unitat (€/unitat)	Preu total (€)
Impressions	500	0,05	25
Enquadernacions	3	3	6
CDs	3	0,5	1,5
Subtotal recursos materials: 32,5 €			

COST DE VIATGE			
Concepte	Quantitat	Preu per unitat (€/unitat)	Preu total (€)
Transport			
Bitllets d'avió	1	1.180	1.180
Bicicleta	1	40	40
Estància			
Habitatge	3 mesos	480	1.440
Dietes	3 mesos	120	360
Subtotal cost de viatge: 3.020 €			

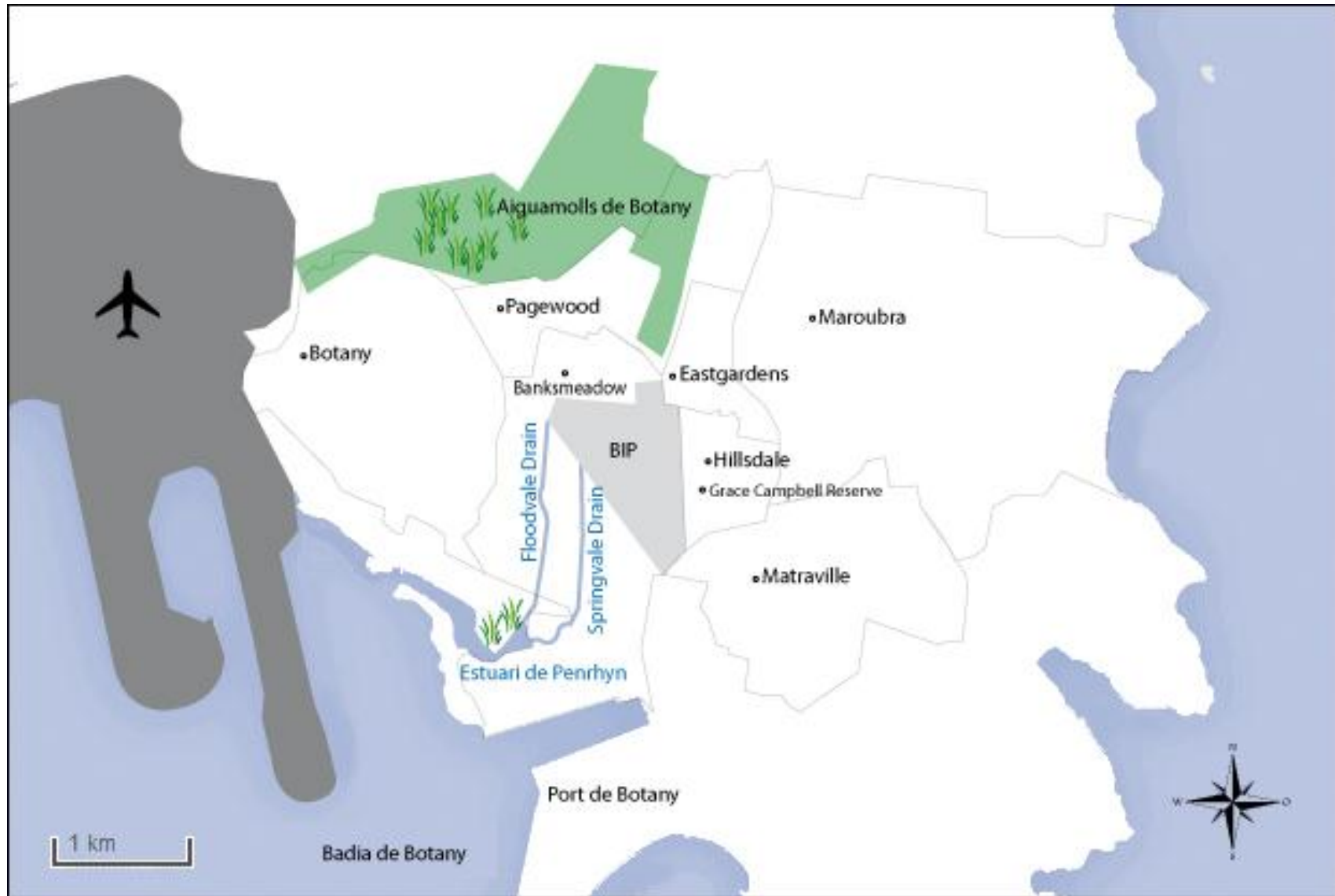
TOTAL sense IVA	12.337,5 €
TOTAL amb IVA (21%)	14.928,4 €

9.PROGRAMACIÓ

	MARÇ	ABRIL	MAIG	JUNY	JULIOL
Treball de laboratori					
Treball de camp					
Redacció del projecte					
Defensa del projecte					

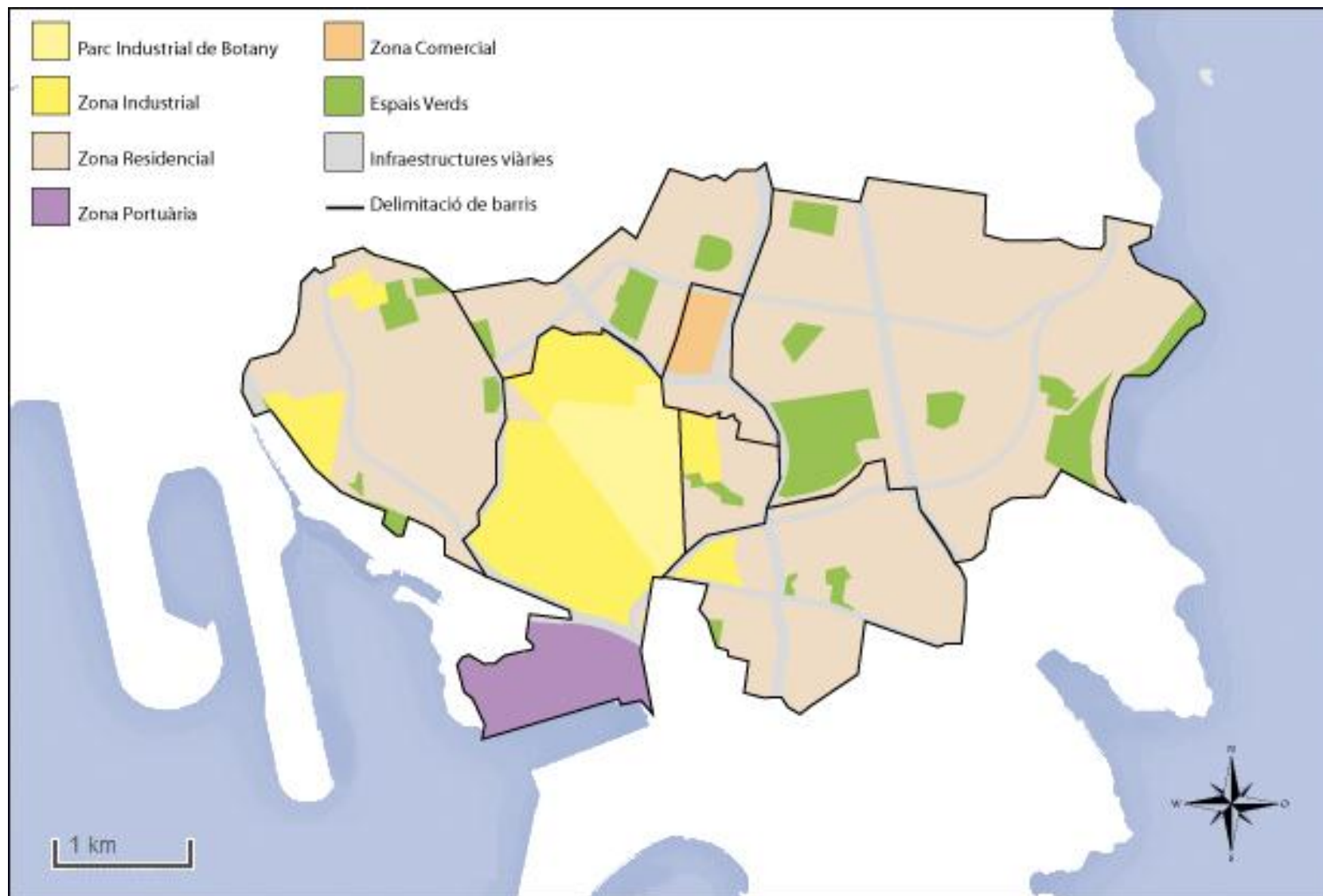
ANNEX

Mapa 1. Situació del polígon industrial de Botany (BIP) i dels punts d'interès de la zona d'estudi.



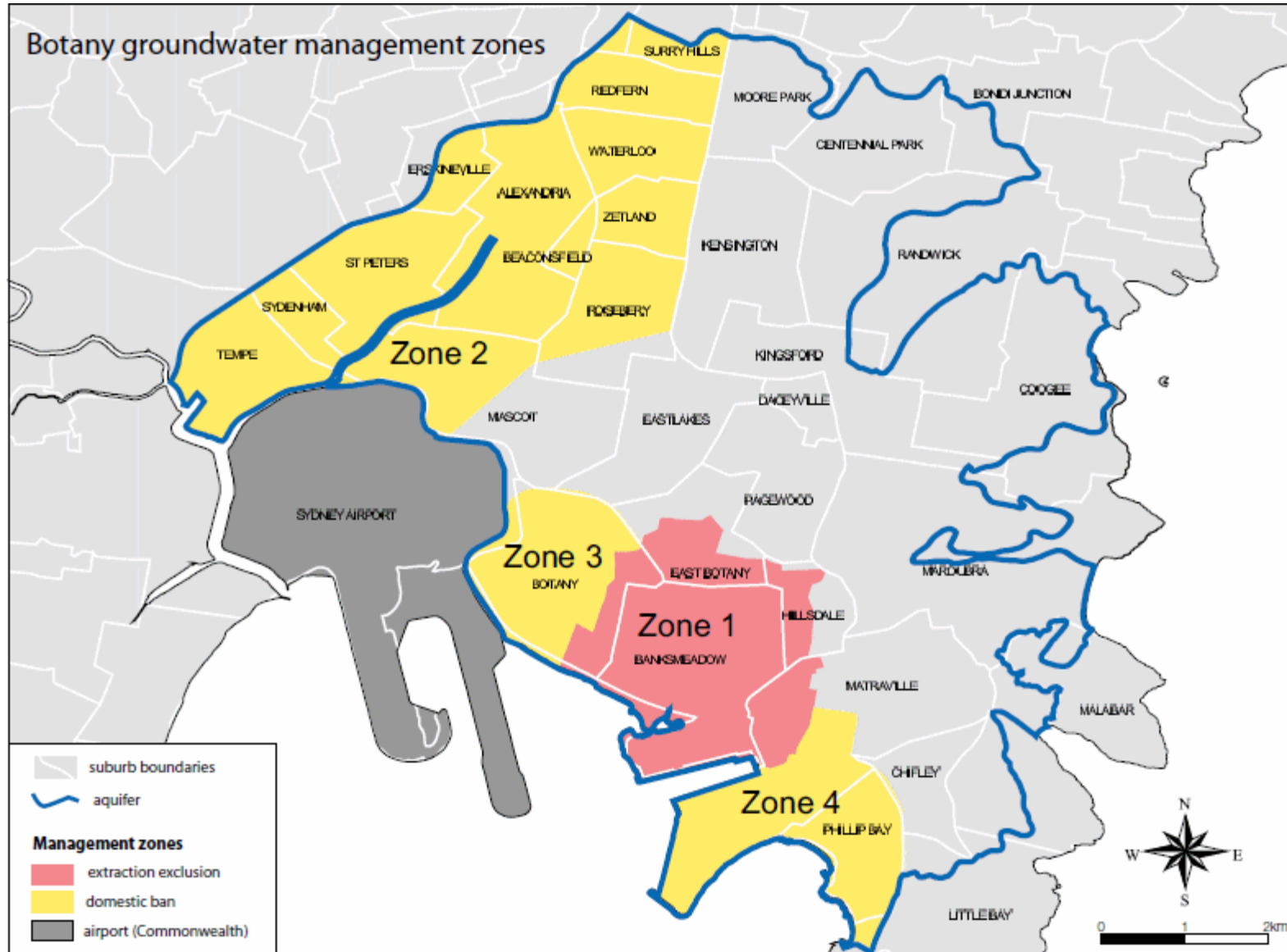
ANNEX

Mapa 3. Mapa d'usos del sòl de la zona d'estudi amb la delimitació dels barris.



ANNEX

Mapa 4. Mapa de les diferents zones d'exclusió de l'ús d'aigua a l'àrea d'estudi. Font: www.oricabotanytransformation.com



ANNEX

Model d'enquesta

Age:

Gender: F / M

Address:

How long have you been living in this house?

1. Have you ever heard about Orica's waste or contamination in Botany Industrial Park, Sydney?

- No
- Yes

2. Select your level of concern about Orica's waste or contamination (where 1 is not worried and 5 really worried).

1 2 3 4 5

3. How do you think is your level of knowledge about this topic?

- Really good (I know exactly what is going on)
- Good (I know more or less what is the current situation)
- Not bad (I know the general idea of the problem but I don't follow it)
- Low (I think I heard something about it)

4. Do you attend the meetings of the Community Liaison Committee (CLC) or HCB Community Participation & Review Committee (CPRC)?

- Never
- Sometimes
- Always

5. How did you get information about Orica's issue?

- People (friends, neighbors..)
- Orica
- Association:
- Media
- Own research
- Other:

ANNEX

Aplicació de la llei de Henry (He et al., 2002)

La llei de Henry permet relacionar la concentració d'un compost en un líquid amb la concentració d'aquest compost en el gas que l'envolta. Així doncs, segons aquesta expressió :

$$M = C_w V_w + C_g V_g = C_w (V_w + H_c V_g)$$

On M és el total de massa del compost, C_w és la concentració del compost en la fase líquida, C_g és la concentració del compost en la fase gasosa, V_w és el volum de líquid en el sistema, V_g és el volum de gas en el sistema i H_c és la constant de Henry adimensional.

En aquest estudi, es van haver de fer els calibratges dels analits en volums més grans que els dels cultius i, per tant, com que els anàlisis es van fer mitjançant extracció de gas, es va haver d'utilitzar l'equació de Henry per, d'una banda, fer els calibratges en funció de les concentracions gasoses i, de l'altra, convertir les concentracions gasoses dels cultius, estimades amb els calibratges, altre cop en concentracions líquides. A continuació es mostren les taules de conversió de concentracions líquides teòriques afegides als calibratges (C_1) a concentracions gasoses per a cadascun dels analits (C_g):

1,3-DCB

C1	Hc	Vg	Vw	HcVg	HcVg+Vw	C1Vw	Cg	Cw
μM	dimless	ml	ml				μM	μM
1,98	0,0891	59,40	100,60	5,29	105,89	199,19	0,17	1,88
4,93	0,0891	58,50	101,50	5,21	106,71	500,40	0,42	4,69
9,71	0,0891	57,00	103,00	5,08	108,08	999,92	0,82	9,25
14,35	0,0891	55,50	104,50	4,95	109,45	1499,58	1,22	13,70
18,86	0,0891	54,00	106,00	4,81	110,81	1999,16	1,61	18,04

1,4-DCB

C1	Hc	Vg	Vw	HcVg	HcVg+Vw	C1Vw	Cg	Cw
μM	dim.less	ml	ml				μM	μM
1,98	0,0776	59,40	100,60	4,61	105,21	199,19	0,15	1,89
4,93	0,0776	58,50	101,50	4,54	106,04	500,40	0,37	4,72
9,71	0,0776	57,00	103,00	4,42	107,42	999,92	0,72	9,31
14,35	0,0776	55,50	104,50	4,31	108,81	1499,58	1,07	13,78
18,86	0,0776	54,00	106,00	4,19	110,19	1999,16	1,41	18,14

1,3,5-TCB

C1	Hc	Vg	Vw	HcVg	HcVg+Vw	C1Vw	Cg	Cw
μM	dimless	ml	ml				μM	μM
1,98	0,0786	59,40	100,60	4,67	105,27	199,19	0,15	1,89
4,93	0,0786	58,50	101,50	4,60	106,10	500,40	0,37	4,72
9,71	0,0786	57,00	103,00	4,48	107,48	999,92	0,73	9,30
14,35	0,0786	55,50	104,50	4,36	108,86	1499,58	1,08	13,77
18,86	0,0786	54,00	106,00	4,24	110,24	1999,16	1,43	18,13

ANNEX

1,2,4-TCB

C1	Hc	Vg	Vw	HcVg	HcVg+Vw	C1Vw	Cg	Cw
μM	dimless	ml	ml				μM	μM
1,98	0,0433	59,40	100,60	2,57	103,17	199,19	0,08	1,93
4,93	0,0433	58,50	101,50	2,53	104,03	500,40	0,21	4,81
9,71	0,0433	57,00	103,00	2,47	105,47	999,92	0,41	9,48
14,35	0,0433	55,50	104,50	2,40	106,90	1499,58	0,61	14,03
18,86	0,0433	54,00	106,00	2,34	108,34	1999,16	0,80	18,45

HCBD

C1	Hc	Vg	Vw	HcVg	HcVg+Vw	C1Vw	Cg	Cw
μM	dimless	ml	ml				μM	μM
0,99	0,2510	59,95	100,05	15,05	115,10	99,05	0,22	0,86
3,00	0,2510	59,85	100,15	15,02	115,17	300,45	0,65	2,61
4,99	0,2510	59,75	100,25	15,00	115,25	500,25	1,09	4,34
9,95	0,2510	59,50	100,50	14,93	115,43	999,98	2,17	8,66
19,80	0,25	59,00	101,00	14,81	115,81	1999,80	4,33	17,27

Seguidament es mostren les corbes de calibratge en funció de les concentracions gasoses (Cg).

Les concentracions gasoses de les mostres s'estimen a partir dels calibratges i es transformen a concentracions líquides dividint per les constants de Henry:

$$Cw = Cg / Hc$$

ANNEX

Corbes de calibratge

