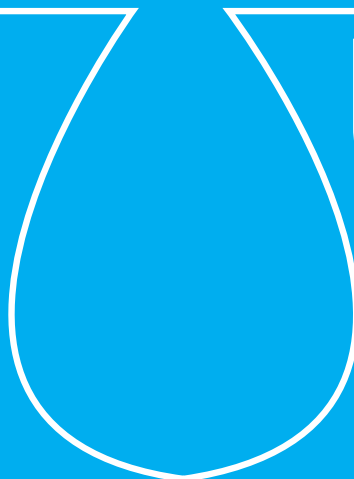


escuela de posgrado
ESTUDIOS UNIVERSITARIOS DE POSGRADO EN **HIDROLOGÍA**

UAH URJC



máster universitario

en hidrología y gestión de recursos hídricos

proyectos
2011

Estudios Universitarios de Posgrado de las Universidades de Alcalá
y Rey Juan Carlos (coordina Universidad de Alcalá)





El Máster en Hidrología y Gestión de Recursos Hídricos ha celebrado su quinta edición en el curso 2010-2011.

En este tiempo el máster se ha consolidado, habiéndolo cursado del orden de 150 alumnos, que han realizado un número considerable de proyectos, destacando el alto nivel de gran parte de ellos.

Con la publicación anual de los mejores proyectos presentados, que ahora se inicia, la Comisión Docente quiere hacer públicos tanto los resultados de la inversión realizada como el reconocimiento al trabajo realizado por sus autores, que sirva de motivación a los alumnos de futuras ediciones del Máster.

En este volumen, primero de una serie anual, que recogerá desde el inicio del Máster, se han seleccionado 6 proyectos que abarcan diversos aspectos vinculados al agua, tales como el análisis socioeconómico de grandes obras, tecnologías de membrana, caracterización y modelos hidrogeológicos, tecnologías de descontaminación y aplicaciones de índices biológicos y ecológicos para la determinación de la calidad de las aguas superficiales. De alguna manera, y sin haberlo previsto así, esta diversidad temática es representativa de la interdisciplinareidad del Máster y del enfoque global de la Hidrología y Gestión de Recursos Hídricos, fundamental para realizar una gestión sostenible.

No queremos dejar de agradecer a Rafael Irastorza, la IDEA de comenzar esta serie de publicaciones.

La Comisión Docente



Análisis socioeconómico de viabilidad del proyecto de presa de Mularroya, azud de derivación y conducción de trasvase | 3 |

autor: **Mónica Fernández González**

director: **Alberto del Villar (UAH)**

Alcalá de Henares, 19 de Mayo de 2011

Estado del arte del ensuciamiento, limpieza y modificación de la superficie de membranas de filtración para el tratamiento de disoluciones acuosas | 17 |

autor: **Raquel García Pacheco**

director: **Dr. Eloy García Calvo**

Alcalá de Henares, 20 de junio de 2011

Modelo geológico 3d del sector I del acuífero detrítico del tramo bajo del Jarama | 42 |

autor: **Ariana Mabeth Montoya Colonia**

directores: **Dr. Francisco Carreño Conde (URJC)**

Dr. Javier Lillo Ramos (URJC)

Alcalá de Henares, 16 de Junio de 2011

Determinación del estado de las aguas del río Jarama y comparación entre índices biológicos de calidad ecológica | 61 |

autor: **Rubén Rasines Ladero**

directores: **Dra. Irene de Bustamante Gutiérrez (UAH)**

Timur Pavluk (Investigador IMDEA-agua)

Alcalá de Henares, 19 de Mayo de 2011

Bioestimulación de microorganismos del suelo para la biodegradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos | 90 |

autor: **José Fernando Rodrigo Quejigo**

director: **Dr. Karina Boltes Espínola (UAH)**

Alcalá de Henares, 16 de Junio de 2011

Biodegradación de herbicidas clorados en reactores de columna de burbujeo | 108 |

autor: **David Zalacáin Domench**

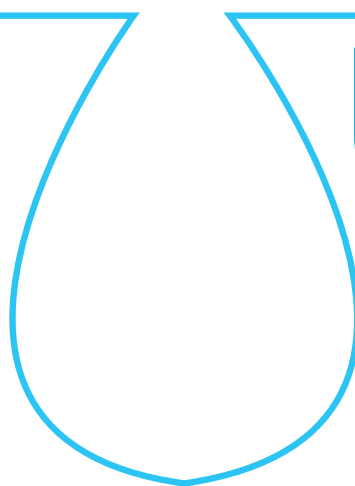
director: **Dr. Ana Karina Boltes Espínola (UAH)**

Dr. Pedro Letón García (UAH)

Alcalá de Henares, 16 de Junio de 2011

escuela de posgrado
ESTUDIOS UNIVERSITARIOS DE POSGRADO EN **HIDROLOGÍA**

UAH URJC



máster universitario

en hidrología y gestión de recursos hídricos

proyectos
2011

Análisis socioeconómico de viabilidad del proyecto de presa de Mularroya, azud de derivación y conducción de trasvase

autor

Mónica Fernández González

director

Alberto del Villar (UAH)

Alcalá de Henares, 19 de Mayo de 2011



AGRADECIMIENTOS

A la Fundación Carolina, porque me brindó esta valiosa oportunidad de continuar mi formación, como profesional y como persona.

A la Universidad de Alcalá y a la Universidad del Rey Juan Carlos por albergarme en esta etapa y, en especial, a sus profesores, por ser fuente de nuevos conocimientos.

A mi madre, gracias por ser un inquebrantable sostén y con su amor ofrecerme un espacio de serenidad y firmeza en todo momento.

A mi padre, por estar siempre presente, por vivir conmigo cada momento aun en la distancia, siendo mi apoyo para sobreponer los momentos difíciles y dándome la seguridad para vencer cualquier obstáculo.

A Carla Zenzes, por sus invaluable consejos, su amistad siempre presente que me ayuda a darle sentido a los nuevos caminos que me encuentro en el andar por la vida.

A mi hermana Alejandra, por manifestarme su convicción por mí y darme ánimo y dicha en toda situación.

A mi hermano Pablo, porque nunca dudó en que podría conseguir los objetivos que me propuse y haber sido una inspiración para seguir siempre creciendo.

A mi tío José Luis, por motivarme siempre a conquistar nuevas metas, por acompañarme en su realización y siempre tener un sabio consejo y un alegre comentario cuando más se necesitan.

A mi familia (Fernández, González y Zenzes) por ser un ejemplo a seguir, por disfrutar conmigo esta increíble experiencia y siempre ser fuente de certidumbre y alegría.

A mis compañeros del máster, con los que compartí una de las mejores etapas de mi vida; les agradezco la compañía en el estudio, el compartir experiencias y nuevos conocimientos, acompañados con optimismo y alienato.

A todos mis amigos gracias por escucharme, por apoyarme en los momentos difíciles y disfrutar conmigo los momentos felices. No lo hubiera logrado sin ustedes.



ÍNDICE

1. Resumen	6
2. Introducción.....	6
3. Metodología	6
4. Resultados	7
5. Discusión.....	15
6. Conclusiones	15
7. Bibliografía	16

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Localización de la zona de estudio.....	8
Figura 2. Valor económico y coste	12
Figura 3. Análisis de sensibilidad	13

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ingresos por canon y tarifas	9
Tabla 2. Costo anual por usos del agua	10
Tabla 3. Diferencia por tasa de descuento	10
Tabla 4. Ingresos y costes	10
Tabla 5. Laminación de avenidas	11
Tabla 6. Valor económico y costes.....	12
Tabla 7. Externalidad por variante de carreteras	13
Tabla 8. Valoración de externalidades negativas.....	14
Tabla 9. Valoración económica total.....	14
Tabla 10. Alternativas técnicas.....	14
Tabla 11. Valor patrimonial.....	15
Tabla 12. Valoración financiera	15
Tabla 13. Valoración económica	15



1. RESUMEN

Con el propósito de llevar a cabo un análisis financiero y económico del proyecto presentado con el Informe de Viabilidad Proyecto de Presa de Mularroya, Azud de Derivación y Conducción de Tránsito. (zg/La Almunia de Doña Godina y otros) se estudia la actuación desde distintos puntos de vista.

Se parte de la información incluida en el informe citado para hacer una primera comparación entre el valor patrimonial propio del bien beneficiado y el costo propio del proyecto.

Como siguiente paso de análisis se genera un estudio financiero cuantificando los ingresos generados por los servicios prestados por el sistema de regulación, reportados en el informe; éstos se comparan asimismo con el coste financiero asociado a cada uno de dichos servicios. Con ello se obtiene la viabilidad financiera del proyecto.

Para cumplir con el propósito final, que es obtener su viabilidad económica, se analiza el proyecto desde una perspectiva distinta a la financiera, tomando en cuenta el valor monetario de los beneficios generados por los servicios que presta el bien en estudio, y se complementan los costes con las externalidades negativas que surgen de la afectación al entorno por la construcción de la obra civil. Se señalan igualmente los servicios y externalidad que no son cuantificables, dados los alcances de este trabajo, pero que deberían ser tomados en cuenta si se realizara una toma de decisiones.

Adicionalmente se plantea una serie de posibles soluciones técnicas alternativas a la que se detalla en el informe citado.

2. INTRODUCCIÓN

El uso adecuado de los recursos del planeta constituye un problema que sigue siendo muy complicado de resolver; la gestión de recursos vitales como el agua presenta retos tanto para su captación y aprovechamiento, como para hacer frente a fenómenos naturales que rompen con el equilibrio de una población o de zonas de producción. Para ello se deben realizar distintas acciones, tales como: planificación, adecuación de los sistemas de gestión existentes, obras de ingeniería adecuadas, etc.

Para garantizar que la acción elegida sea la mejor opción, es esencial realizar un estudio socioeconómico para evaluar cada una de las posibles alternativas en las que se tomen en cuenta la afectación real del problema, los costos que impliquen, las obras requeridas, así como su mantenimiento, el rango de tiempo en el que la solución resolverá el problema, así como los riesgos que la misma solución implique.

Cabe mencionar que para ello es trascendental tener un conocimiento profundo del problema que se busca solucionar, así como de las características de la región donde se encuentra con el fin de que los parámetros asignados en el estudio sean lo más apegados posible a la realidad.

En la realización de estos análisis se presentan varios obstáculos para determinar costos y beneficios totales de una u otra

alternativa, en especial cuando se tienen que evaluar aspectos difíciles de cuantificar como la calidad de vida, la creación de empleos, el bienestar social, el cambio de lugar de la vivienda, etc. Sin embargo, estos factores son determinantes para poder tomar la decisión por la mejor alternativa sin que ésta genere mayores problemáticas para la región a mediano o largo plazo. Por ello, un buen estudio socioeconómico debe poner especial cuidado en la evaluación de estas afectaciones y garantizar que la alternativa elegida sea la más adecuada.

2.1. OBJETIVO

Este trabajo tiene como propósito hacer un adecuado análisis financiero y económico del proyecto "Presa de Mularroya, Azud de Derivación y Conducción de Tránsito" con base en la adaptación de metodologías ya existentes para determinar los beneficios, costes y externalidades, tanto positivas como negativas que generaría el proyecto y cuantificar cada uno de estos parámetros para determinar, por medio de su comparación, si la solución técnica presentada para la problemática en cuestión es viable tanto desde un punto de vista financiero, como tomando en cuenta más factores que nos lleven a conocer su viabilidad económica.

3. METODOLOGÍA

Con el propósito de efectuar un análisis económico del proyecto Presa de Mularroya, Azud de Derivación y Conducción de Tránsito, se realizará un análisis desde diferentes perspectivas comenzando por la más simple: comparar el valor patrimonial de las tierras en la situación actual con el valor patrimonial del proyecto como tal; después se hará una valoración más profunda tomando en cuenta las externalidades del proyecto, así como los bienes y servicios.

El análisis financiero constituye la técnica matemático-financiera y analítica a través de la cual se determinan los beneficios o pérdidas en los que se puede incurrir; uno de sus objetivos es obtener resultados que apoyen la toma de decisiones referente a las actividades de inversión. Se emplea también para comparar dos o más proyectos. Para determinar la viabilidad de la inversión de un solo proyecto se puede citar el trabajo desarrollado por el Catedrático de Economía Financiera de la Universidad Complutense de Madrid, Andrés-Santiago Suárez Suárez. Los principales parámetros técnicos que han de determinarse al realizar el análisis son los siguientes¹:

- Elección del horizonte temporal;
- Determinación del coste total;
- Determinación del total de ingresos;
- Sostenibilidad financiera;
- Elección de una tasa de descuento apropiada
- Modo de calcular la tasa de rendimiento financiero y de utilizarla a efectos de la evaluación del proyecto

¹ Guía del análisis costes-beneficios de los proyectos de inversión (Fondos estructurales – FEDER, Fondo de Cohesión e ISPA) 2003



Para fines de este trabajo se obtendrán dichos parámetros tanto de la información obtenida en el informe del proyecto como de la bibliografía existente para cada uno, utilizando distintas herramientas como el Costo Anual Equivalente (CAE) y el Valor Actual Neto (VAN). Para ello también es importante elegir una tasa de descuento y con base en el documento Criterios de Homogenización de las Variables Financieras para el Análisis del Coste de los Servicios 2007, se eligió el 5%.

El análisis económico, a diferencia del análisis financiero, evalúa la contribución del proyecto al bienestar económico, y se realiza desde la óptica de la sociedad en su conjunto. Para lograr la valoración económica se deben transformar los precios de mercado utilizados en el análisis financiero, en precios sombra² (que corrigen la distorsión de los precios ocasionada por las disfunciones del mercado), e integrar las externalidades que dan lugar a beneficios y costes sociales ignorados por el análisis financiero, ya que no generan gastos o ingresos monetarios reales.

Esta valoración es más complicada, pues debe tomar en cuenta valores tangibles e intangibles, utilizando distintos tipos de análisis como: coste-beneficio, coste-eficacia, coste-minimización, coste-utilidad y análisis de sensibilidad, dependiendo del objetivo del estudio así como de la información disponible.

Uno de los autores más conocidos en esta materia es el Catedrático de Teoría Económica, Diego Azqueta Oyarzun, que en distintas publicaciones ha planteado algunas alternativas para valorar proyectos tomando en cuenta tanto sus beneficios como sus afectaciones, mejor conocidas como externalidades.

Son externalidades aquellas actividades que afectan a otros para mejor o para peor, sin que éstos paguen por ellas o sean compensados. Existen externalidades cuando los costos o los beneficios privados no son iguales a los costos o los beneficios sociales; en ocasiones, la evaluación de los costes y beneficios externos, aun cuando éstos puedan percibirse con claridad, presenta dificultades. Un proyecto puede ocasionar daños ecológicos cuyos efectos, combinados con otros factores, sólo se manifestarán a largo plazo, por lo que son de difícil cuantificación y valoración.

Las externalidades pueden ser positivas o negativas dependiendo del efecto que tengan en la sociedad; como lo dice su nombre, las externalidades negativas reducen el bienestar y las positivas lo incrementan.

En este trabajo se realizará una adaptación de estos métodos que permita valorar adecuadamente los servicios ofertados por el proyecto en análisis, tomando en cuenta las deficiencias en la información: Se obtendrán valores cuantitativos a partir del valor patrimonial, los beneficios económicos cuantitativos calculados a partir del Valor Agregado Bruto (VA) o Valor Añadido Bruto que mide el valor añadido generado por el conjunto de productores de un país, y se recogen los valores que se agregan a los bienes y servicios en las distintas etapas del proceso productivo.

Una vez calculados los beneficios cuantitativos se debe hacer una comparación entre éstos y los costes calculados desde el análisis financiero, añadiéndoles el coste de las externalidades negativas.

Con respecto a la valoración de beneficios y externalidades intangibles, ésta se realizará de manera cualitativa con el fin de que sean tomadas en cuenta en la toma de decisiones, pero asumiendo que debido a la complejidad de su cuantificación y a la escasez de información y tiempo para realizar un estudio de campo y mercado más detallado, no se puede llevar a cabo de manera óptima. Si se tuvieran los datos necesarios o se tuviera oportunidad de realizar estudios de mayor profundidad, debería realizarse un estudio de mercado del servicio o de un mercado secundario en el que tenga una relación directa; estas metodologías emplean las preferencias reveladas por los consumidores como mecanismo para acceder al valor de un servicio ambiental, las cuales incluyen los siguientes conceptos³:

- Coste de reposición: el valor económico del bien o servicio se estima como el coste financiero de su restitución o sustitución de sus servicios
- Coste evitado: permite estimar el valor de la pérdida de bienestar implícita en cualquier externalidad negativa como el coste en que habría sido necesario incurrir si el bien o servicio afectado no se proporcionase o se hiciese en condiciones deficientes.
- Métodos basados en la función de producción: se emplean en aquellas situaciones en que la provisión de un bien o servicio ambiental es determinante para una función de producción de bienes y servicios.
- Coste del viaje: equipara los costes de todo tipo en que debe incurrir una persona para llegar a un lugar, al valor de uso directo recreativo de dicho lugar.
- Precios hedónicos: la demanda de un bien o servicio ambiental puede verse reflejada en el precio de un bien al que ese bien o servicio está asociado.

Al finalizar la valoración de todos los servicios y los costes asociados a éstos, se realizará una comparación que indicará si el proyecto es o no económicamente viable.

4. RESULTADOS

4.1. DATOS GENERALES DEL PROYECTO

4.1.1. DATOS TÉCNICOS

Al sistema de regulación del Bajo Jalón lo integran la Presa de Mularroya en el río Grío, el azud de derivación en el río Jalón y el túnel de trasvase que conectará el vaso del embalse creado por el azud con el vaso del embalse de la Presa de Mularroya.

² Guía del análisis costes-beneficios de los proyectos de inversión (Fondos estructurales – FEDER, Fondo de Cohesión e ISPA) 2003

³ Guía para decisores Análisis económico de externalidades ambientales. Gonzalo Delacámara. Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL)



El conjunto de las obras proyectadas son:

- Azud de derivación, en el río Jalón, en la zona de las Hoces del Jalón, que incluye: azud vertedero, desvío del río situado en el estribo izquierdo, tomas y escala para peces en el estribo derecho, tratamientos del cimientto, casetas de centralización de datos, reposición de carretera inundada y acceso al azud.
- Túnel de trasvase. Conecta el río Jalón, tomando inmediatamente aguas arriba del azud y el río Grío, desaguando en la cola del embalse de Mularroya.
- Presa de Mularroya, se localiza en el río Grío, afluente del río Jalón, que desemboca en la localidad de Rica, unos 5 km. aguas abajo de la presa. El vaso inundado afecta a una extensa zona rural de secano, a la carretera N-IIa y la carretera autonómica A-2302. También afecta al oleoducto de CAMPSA, diversas líneas de alta tensión y al complejo hostelero «Parque de Mularroya». La presa es de categoría A, de acuerdo al nuevo Reglamento sobre Seguridad de Presas.
- Variantes de carretera: como consecuencia de la construcción del Embalse de Mularroya se inundarán aproximadamente 6 km. de la carretera N-IIa, así como 4 km. de la carretera comarcal. Para reponer el servicio se proyectan dos tramos nuevos, el eje 1 con una longitud total de 11.648,682 m y el eje 2 con una longitud de 808,553 m.

El sistema conjunto regula los caudales generados por una cuenca de 7.008 km², con una aportación media anual de 315,57 Hm³ que se traduce en un caudal medio de 10,01 m³/s. El volumen medio anual trasvasado rondará los 58,76 Hm³. Con las necesidades de agua consideradas de 9.319 m³/Ha y año, se podrán regar un total de 26.340 Ha (Se consolidan unas 21.240 ha y se transforman en regadío 5.000 ha más) en el Bajo Jalón, en los Términos Municipales de Alagón, Alcalá, Alfamén, Almonacid, La Almunia de Dña. Godina, Alpartir, Bárboles, Bardallur, Cabañas de Ebro, Calatorao, Cariñena, Consuenda, Chodes, Epila, Figueruelas, Grisén, La Joyosa, Lucena, Luceni, Lumpiaque, Pedrola, Pinseque, Plasencia, Pleitas, Riela, Rueda, Salillas, Sobraduel, Torres de Berrellén, Urrea, Utebo y Zaragoza.

Situación actual

- Riego superficial (ha): 21.240
- Agua distribuida y facturada (miles m³): 59.381

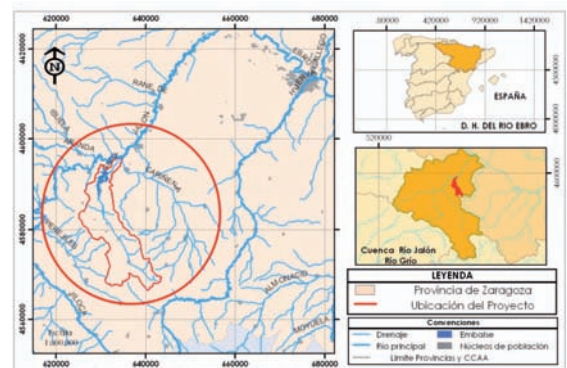
4.1.2. ZONA DE ESTUDIO

La zona en la que se pretende construir el sistema de regulación pertenece a la provincia de Zaragoza y entra en el ámbito de la Confederación Hidrográfica del Ebro.

Se verán afectados los términos municipales:

- Calatayud
- Paracuellos de la Ribera
- Morata de Jalón
- Chodes
- La Almunia de Dña. Godina
- Riela

Figura 1. Localización de la zona de estudio



Superficie de las cuencas vertientes:

- Jalón (en punto de trasvase) 7.008 km²
- Grío (en cerrada de presa) 282 km²

Aportación media anual:

- Jalón (en punto de trasvase) 315,57 Hm³
- Grío (en cerrada de presa) 20,41 Hm³

Evaporación media anual (en zona cerrada): 59 mm.

4.2. ANÁLISIS DEL VALOR PATRIMONIAL

El valor patrimonial de las tierras de regadío en su situación actual se calcula a partir del precio oficial de las hectáreas en producción; para obtener el valor real por hectárea se toma la diferencia entre el precio de la tierra en producción y el precio que tendría si se cambiara a aprovechamiento por secano.

Cantidad actual de hectáreas en regadío⁴: 21.240 ha

- Valor de la tierra en secano 2.985,00 €
- Valor de la tierra de regadío 10.149,00 €
- Valor por hectárea 7.164,00 €

Para obtener el valor patrimonial multiplicaremos el precio obtenido por la cantidad de hectáreas existentes, lo que da un total de **152'163.360 €**.

El valor patrimonial del proyecto se obtiene a partir del coste reportado actualizado a 2010 con el coeficiente de deflación apropiado, que en este caso es de 1.019.

- Coste de la presa 2007 204,723,434.15 €
- Coste de la presa actualizado 222,392,079.90 €

Fuente: Informe de viabilidad proyecto de presa de Mularroya, azud de derivación y conducción de trasvase. (zg/la Almunia de Doña Godina y otros).

En una primera comparación se aprecia que el valor patrimonial del proyecto es muy superior al valor de las tierras que se

⁴ Fuente: Precios oficiales por comunidad autónoma para 2010, tomados del anejo 1A de la Encuesta nacional del valor de la Tierra.



pretende ayudar, por lo que no estaría justificado; sin embargo, este criterio deja de lado demasiada información, tanto acerca de la situación actual, como de los beneficios que se obtendrían con el sistema de regulación. Por lo tanto no se puede tomar en cuenta para una decisión, sino sólo como una dato más a tomar en cuenta en la valoración global del proyecto.

4.3. ANÁLISIS DE SERVICIOS Y COSTES.

En la descripción del proyecto se plantean los siguientes servicios que serán prestados:

- a) Servicios sobre bienes públicos:
 - Laminación de avenidas
 - Caudal de mantenimiento
 - Recarga de acuífero
- b) Otros
 - Usos agrarios
 - Usos industriales
 - Usos urbanos
 - Usos hidroeléctricos

Cada uno de los servicios ofertados implica costes, tanto en su ejecución inicial como en el mantenimiento; asimismo hay que considerar que aquéllos representarán ingresos, por lo que se realizará la valoración de cada uno por separado.

Para efectuar esta valoración se cuenta con la información que integra el proyecto, la cual para algunos de los servicios resulta insuficiente por lo que se han realizado algunas simplificaciones y se ha obtenido, en la medida de lo posible, información complementaria. Esto se explicará en cada caso a lo largo de la metodología.

4.3.1. INGRESOS POR USOS DEL AGUA

En este punto se tomarán en cuenta solamente los ingresos que reporta el proyecto original; esta información está incluida en el Punto / "Análisis financiero y recuperación de costes".

Se plantea un periodo de amortización de la inversión de 50 años.

Tabla 1. Ingresos por canon y tarifas

Usos del agua	Total en el periodo	Anual
Uso Agrario	158.400.000,00 €	3.168.000,00 €
Uso Urbano 4	150.000,00 €	83.000,00 €
Uso Industrial	2.700.000,00 €	54.000,00 €
Uso Hidroeléctrico	6.900.000,00 €	138.000,00 €
Laminación de avenidas		
Caudal de mantenimiento		
Recarga de acuífero	350.000,00 €	7.000,00 €
TOTAL	172.500.000,00 €	3.450.000,00 €

4.3.2. COSTES FINANCIEROS

Una vez obtenidos los ingresos derivados por los servicios, es necesario obtener los costes asociados a cada uno de ellos; se deben contemplar todos los servicios mencionados en el proyecto y no sólo los que aportan ingresos.

Se incluyen servicios sobre bienes públicos (laminación de avenidas, caudal de mantenimiento y recarga de acuífero) y otros servicios referidos a los usos del agua.

4.3.2.1. Servicios sobre Bienes Públicos

4.3.2.1.1. Laminación de avenidas

En el desglose financiero del proyecto no se especifica qué parte de la inversión será destinada únicamente a la laminación de avenidas, ya que está integrada en el coste total del embalse; sin embargo, si se sabe que el 20% de la capacidad total del embalse se dedicará a este servicio, se tomará el mismo porcentaje de la inversión para calcular los costes del servicio.

- Inversión total: 222.392.079,90 € costo actualizado a 2010
- 20% de la inversión = 44.478.415,98 €

Para obtener el Costo Anual Equivalente se toma una tasa de descuento del 5% y la vida útil propuesta en el proyecto que es de 50 años, resulta un:

- Coste anual equivalente 2.436.382,43 €

A este costo se le debe sumar el mantenimiento y la conservación:

- Costes de conservación y mantenimiento anual total: 231.976,28 €
- 20% de costes de conservación y mantenimiento anual: 46.395,26 €

Sumando todo el Coste Anual Equivalente Total, el coste del servicio de laminación de avenidas es de: 2.482.777,68 €

4.3.2.1.2. Otros servicios

En los objetivos del proyecto, así como en el apartado de "adecuación de los objetivos de la actuación a lo establecido por la legislación y los planes y programas vigentes", se mencionan dos servicios más relacionados con bienes públicos:

- Caudal de mantenimiento
- Recarga de acuífero

Sin embargo, en el desarrollo del proyecto no se entrega información suficiente para hacer un análisis detallado del costo de cada uno, por lo que se le asignó un porcentaje del 10% sobre los costes totales, tomando en cuenta la información sobre los demás servicios y usos que sí se desglosa. De esta forma el cálculo del coste obtenido es:

- Inversión total: 222.392.079,90 € costo actualizado a 2010
- 10% de la inversión = 22.239.207,99 €

Tabla 2. Costo anual por usos del agua

Uso del Agua	%	CAE por Inversión	Conservación y mantenimiento anual	Costo anual
Uso Agrario	91,83%	7.979.431,58 €	149.110,32 €	8.128.541,90 €
Uso Urbano	2,41%	209.057,08 €	3.906,62 €	212.963,69 €
Uso Industrial	1,57%	136.013,04 €	2.541,65 €	138.554,69 €
Uso Hidroeléctrico	4,00%	347.588,88 €	6.495,34 €	354.084,21 €
Laminación de avenidas				
Caudal de mantenimiento				
Recarga de acuífero	0,20%	17.631,32 €	329,47 €	17.960,79 €
Costo Total Anual		8.689.721,89 €	162.383,40 €	8.852.105,29 €

Para obtener el Costo Anual Equivalente se toma una tasa de descuento del 5% y la vida útil propuesta en el proyecto que es de 50 años, resultando:

- Coste Anual Equivalente 1.218.191,21 €

A este costo se le debe sumar el mantenimiento y la conservación:

- Costes de conservación y mantenimiento anual total:
231.976,28 €
- 10% de costes de conservación y mantenimiento anual:
23.197,63 €

Sumando todo el Coste Anual Equivalente Total es de: 1.241.388,84 €

Sumando los costes en total por los servicios de bienes públicos se tiene un Coste Anual Equivalente de: 3.724.166,52 €

4.3.2.2. Otros servicios

En este apartado se engloban los costos por los distintos usos del agua que se mencionaron en el inciso de ingresos para cada uno de ellos se tiene asociado un costo anual equivalente.

Restando el porcentaje correspondiente a los servicios sobre bienes públicos se tomó como base para el cálculo de los demás servicios el 70% restante de la inversión, se le asignó a cada uno el mismo porcentaje que representa en los ingresos, siguiendo el mismo procedimiento para la repartición de los costes de conservación y mantenimiento; los valores obtenidos se muestran en la siguiente tabla:

Para el cálculo del Costo anual equivalente se toma en cuenta una tasa del descuento del 5% y el periodo de 50 años.

Acerca de la metodología, es necesario comentar que para el cálculo de los valores mostrados se considera una tasa de descuento del 4%; esto es cuestionable dado que el más recomendable, tomando en cuenta *las proyecciones macroeconómicas realizadas en un entorno de estabilidad es del 5%*⁵, en la siguiente tabla se muestran las importantes diferencias que se tienen al modificar la tasa de descuento:

Tabla 3. Diferencia por tasa de descuento

Usos del agua	Anual con 4%	Anual con 5%
Uso Agrario	6.655.635,25 €	8.128.541,90 €
Uso Urbano	174.374,28 €	212.963,69 €
Uso Industrial	113.448,33 €	138.554,69 €
Uso Hidroeléctrico	289.923,51 €	354.084,21 €
Laminación de avenidas		
Caudal de mantenimiento		
Recarga de acuífero	14.706,26 €	17.960,79 €
TOTAL	7.248.087,63 €	8.852.105,29 €

Para posteriores cálculos y comparaciones se usarán los calculados con la tasa de descuento del 5%; sin embargo, esto hace evidente la gran importancia que tiene elegir correctamente la tasa de descuento adecuada pues influye mucho en el valor que se obtenga.

4.3.3. VALORACIÓN DE INGRESOS Y COSTES

Para que un proyecto sea viable financieramente, debe cubrir por lo menos los costes con los ingresos que se obtendrán. Así que la comparación entre ellos es una herramienta fundamental para la toma de decisiones, pues será indicador de la necesidad o no de una subvención y de la magnitud de la misma.

En el proyecto que se está analizando resulta relativamente sencilla esta comparación en cuanto a los usos que se le dará al agua; el resultado se puede observar en la siguiente tabla:

Tabla 4. Ingresos y costes

Usos del agua	Ingreso	Coste
Uso Agrario	3.168.000,00 €	8.128.541,90 €
Uso Urbano	83.000,00 €	212.963,69 €
Uso Industrial	54.000,00 €	138.554,69 €
Uso Hidroeléctrico	138.000,00 €	354.084,21 €
Laminación de avenidas		
Caudal de mantenimiento		
Recarga de acuífero	7.000,00 €	17.960,79 €
TOTAL	3.450.000,00 €	8.852.105,29 €

Fuente: Informe de viabilidad proyecto de presa de Mularroya, azud de derivación y conducción de trasvase. (zg/la almunia de Doña Godina y otros)

⁵ Criterios de homogenización de las variables financieras para el análisis del coste de los servicios, 2007



De acuerdo con el análisis financiero realizado, la subvención que será necesaria al año es la diferencia entre los ingresos y costes anuales, que para este caso es de 5.402.105,29 € anuales. Sin embargo, es importante señalar que en dicho proyecto, en el apartado 7 "ANÁLISIS FINANCIERO Y DE RECUPERACIÓN DE COSTES" se establece que la subvención será de 3.592.236 €, misma que resulta inferior a la calculada.

Esta discrepancia se explica porque en la metodología de cálculo del proyecto no se están tomando en cuenta los costes financieros (tasas de interés sin actualización financiera); al calcularlo a partir del método de precios corrientes, estos costos son relevantes debido a que incrementan los costes anuales y por tanto aumentan la subvención requerida.

Por otro lado cabe señalar que la información presentada en dicho apartado presenta incongruencias puesto que por un lado establece que la subvención será de 3.592.236 € pero a la vez en otra tabla establece que el porcentaje de recuperación de costes será del 96,5% que equivaldría a una subvención por un monto de 7.165.320,20 €.

También es necesario hacer ver que durante el análisis de esta información se detectó que se establecen montos muy por encima de lo normal, pues en el inciso 4 del apartado en cuestión las unidades se manejan en millones de euros. Para fines del presente trabajo, esto se considerará como un error de unidades.

4.4. VALORACIÓN ECONÓMICA

Como se mencionó en la metodología, se debe asignar un valor económico a cada uno de los servicios prestados por el sistema de regulación.

4.4.1. SERVICIOS SOBRE BIENES PÚBLICOS

Tomando en cuenta que el análisis económico se basa en el bienestar que brindan los servicios, está sujeto a criterios objetivos y subjetivos. Particularmente en cuanto a los servicios relativos a la seguridad de las personas, es muy difícil asignarles un valor monetario, lo que lleva a valoraciones cualitativas de algunos parámetros que deben ser tomados en cuenta en la toma de decisiones; por ello sólo serán mencionados, pero no se les contabilizará en la valoración cuantitativa del servicio.

4.4.1.1. Laminación de avenidas

Este servicio brinda dos tipos de beneficios: la protección de las vidas humanas y la protección al patrimonio físico de la población. De estos dos elementos, se entregó información para la valoración cuantitativa del patrimonio salvaguardado:

Tabla 5. Laminación de avenidas

Descriptor	Unidad	Cantidad
Población beneficiada	habitantes	30.000
Volumen o caudales laminados	Hm ³	20,66
Periodo de retorno calculado	años	1000
Periodo de horizonte de actuación	años	50
Patrimonio afectado/protegido	M€	1500

Fuente: Informe de viabilidad proyecto de presa de Mularroya, azud de derivación y conducción de trasvase. (zg/la almunia de Doña Godina y otros)

Para obtener el beneficio real se considera el 10% del patrimonio protegido como pérdida total, esto es 150 M€, y con dicho valor se calculará el Coste Anual Equivalente a 50 años con tasa de descuento del 5%. El valor de este servicio resulta en: 8.216.510,32 €

4.4.1.2. Otros servicios sobre bienes públicos

Dada la carencia de información para poder valorar de manera precisa los beneficios obtenidos tanto por la aportación de un caudal de mantenimiento, como por la recarga de acuíferos y dada la complejidad del cálculo de dichas variables, la valoración se realiza con base en lo que la población beneficiada por el servicio estaría dispuesta a pagar por el mismo, siendo éste un método aceptable para valorar la afectación que tendría en caso de no ejecutarse el proyecto.

Proponiendo un parámetro conservador de 10€ por habitante beneficiado, que podría resultar mayor, se debería realizar una serie de estudios de mercado, análisis, encuestas, lo que rebasa el alcance de este trabajo. Al multiplicarlo por la población beneficiada, 30.000 hab, da como resultado: 300.000 €.

4.4.2. SERVICIOS DE SUMINISTRO

Cada uno de los distintos usos que se le dará al agua almacenada por el embalse propuesto está ligado a una actividad productiva o a algún consumo con beneficios monetarios establecidos en el Valor Agregado Bruto (VAB). Para determinar el VAB por cada uso se tomaron los datos de "El agua en la economía española: situación y perspectivas, Informe integrado de recuperación de costes de los servicios de agua en España. Artículo 5 y anexo III de la Directiva Marco de Agua"

4.4.2.1. Uso Agrario

- Agua distribuida y facturada: 59.381.000,00
- Valor Agregado Bruto (VAB): 0,59 €/m³

Por lo tanto el beneficio económico por este uso es de: 524.691,72 €

4.4.2.2. Uso Urbano

- Volumen de agua asociado a este servicio: 1.555.752,21 m³
- Valor Agregado Bruto (VAB): 2 €/m³

Por lo tanto el beneficio económico por este uso es de: 3.111.504,42 €

4.4.2.3. Uso Industrial

- Volumen de agua asociado a este servicio: 202.435 m³
- Valor Agregado Bruto (VAB): 100 €/m³

Por lo tanto el beneficio económico por este uso es de: 20.243.522,73 €



4.4.2.4. Uso Hidroeléctrico

- Volumen de agua asociado a este servicio: 1.293.336 m³
- Producción de energía eléctrica: 25.866.723 KVH
- Valor Agregado Bruto (VAB): 0,02 €/KVH

Por lo tanto el beneficio económico por este uso es de: 517.334,47 €

4.4.2.5. Otros Usos

- Volumen de agua asociado a este servicio: 262.416 m³
- Valor Agregado Bruto (VAB): 0,2 €/m³

Por lo tanto el beneficio económico por este uso es de: 52.483,21 €

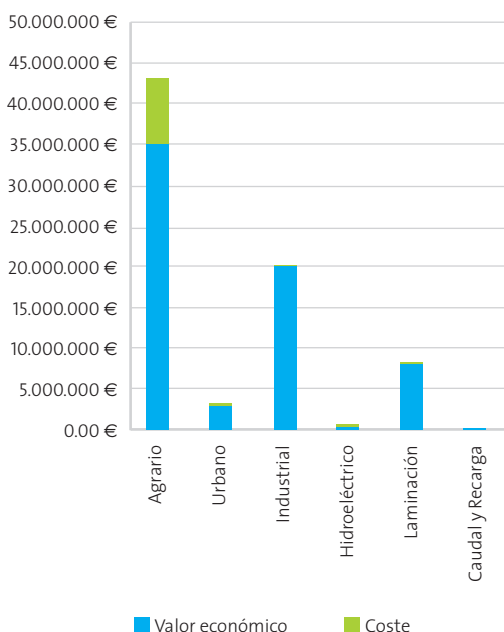
Considerando el coste de cada uno de los usos del agua, se puede hacer ahora una nueva comparación contra su valor económico, encontramos resultados muy distintos a los del análisis financiero, como se puede observar en la siguiente tabla:

Tabla 6. Valor económico y Costes

Usos	Valor Económico	Coste
Uso Agrario	35.034.790,00 €	7.979.431,58 €
Uso Urbano	3.111.504,42 €	209.057,08 €
Uso Industrial	20.243.522,73 €	136.013,04 €
Uso Hidroeléctrico	517.334,47 €	347.588,88 €
Laminación de Avenidas	8.216.510,32 €	
Caudal de Mantenimiento	300.000,00 €	17.631,32 €
Recarga de acuífero		
TOTAL	67.423.661,94 €	8.689.721,89 €

En la siguiente figura se puede apreciar de manera grafica cómo está compuesto el valor económico:

Figura 2. Valor económico y coste



Aquí se puede apreciar cómo un proyecto que podría parecer no viable en un análisis puramente financiero, a la luz de una valoración económica se muestra muy viable; sin embargo, aún no se toman en cuenta las externalidades del proyecto, ni su repercusión ambiental.

4.4.3. VALORACIÓN DE EXTERNALIDADES

En el sistema de regulación propuesto en este proyecto se tienen distintos tipos de externalidades algunas de ellas se pueden cuantificar de manera directa y otras se apreciarán de manera cualitativa.

En el apartado 6 “Viabilidad Ambiental” del documento original, se puede obtener información sobre las afectaciones que tendrá el proyecto a nivel ambiental; sobre la gran cantidad de efectos ambientales y afectaciones al entorno que se mencionan, destacan las siguientes externalidades negativas que por su complejidad se pueden valorar de forma cualitativa:

- En cuanto al Patrimonio Cultural, las actuaciones proyectadas provocarían la pérdida de un total de 6 yacimientos arqueológicos de distintas cronologías, además de una afectación de carácter indirecto a otros 3.
- Entre los yacimientos paleontológicos, únicamente se vería afectado un yacimiento del Cámbrico medio situado debajo de la cota del embalse.
- La obra de toma en el río Jalón se sitúa en un punto del cauce incluido en la ZEPA ES0000299 “Desfiladero del río Jalón” y del LIC ES24330100 “Hoces del Jalón”. La afectación tanto directa como indirecta se considera de poca entidad por el proyecto, sin embargo existen publicaciones en Internet por grupos ecologistas que aseguran un daño mayor al mencionado. También se menciona la pérdida de casi un kilómetro de ribera y de hábitats de diferentes especies de aves.

De manera cuantitativa se tienen tres principales externalidades:

- A. Transformación de hectáreas de secano.
- B. Pérdida de hectáreas por inundación.
- C. Reposición de carreteras inundadas

A continuación se realiza la valoración económica de cada una de estas externalidades.

A. Transformación de hectáreas de secano

- Cantidad de hectáreas: 5000 ha
- Producción por hectárea al año: 300 €/ha
- Valor económico: 1.500.000,00 €/año

B. Pérdida de hectáreas por inundación

- Cantidad de hectáreas: 470 ha
- Producción por hectárea al año: 300 €/ha
- Valor económico: 141.000,00 €/año

C. Reposición de carreteras inundadas

Debido al embalse Mularroya se inundarán 6 km. de la carretera N-IIa y 4 km. de la carretera comarcal A-2302. Para reponer estos tramos, se plantea la construcción de dos tramos nuevos, uno de 11.648,682 m. y otro de 808,553 m..

Los nuevos tramos de carretera implican un incremento en la distancia recorrida por los usuarios de 2.457,24 m., lo que implica mayores gastos en gasolina, desgaste del vehículo, tiempo invertido, etc.

Para analizar estos costes no se tiene información exacta acerca de la cantidad de usuarios; por ello se propone considerar el 5% de la población afectada del proyecto, así como los siguientes parámetros:

- Población afectada: 1500 habitantes
- Distancia recorrida en un día por usuario: 4,91447 km/hab/día
- Distancia recorrida en un año por usuario: 1793,78155 km/hab/año
- Distancia recorrida en un año por el total de usuarios: 2'690.672,325 km/año
- Coste unitario por uso de la carretera 0,19 €/km
- Velocidad promedio: 80 km/h
- Tiempo invertido al año: 33633,40 hr/año
- Salario Mínimo Interprofesional al día: 21,11 €/día
- Salario Mínimo Interprofesional por hora: 2,64 €/hora
- Coste por tiempo invertido anual: 88.750,14 €/año
- Coste anual por uso de la carretera: 511.227,74 €/año

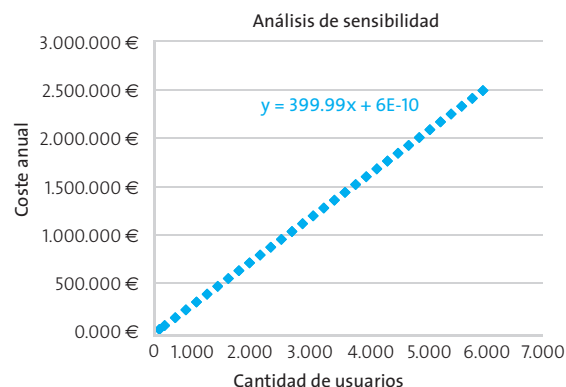
Costo anual total 599.977,89 €/año

Debido a que no se tiene certeza en la cantidad de usuarios, es conveniente hacer un análisis de sensibilidad de estas variables para ver cómo se incrementa o disminuye según la cantidad de personas que utilicen las carreteras. Para ello se genera una tabla de cantidad de usuarios y costes, y se grafican estas variables para obtener su relación.

Tabla 7. Externalidad por variante de carreteras

Cantidad de Usuarios	Coste total
0	- €
100	39.998,53 €
300	119.995,58 €
500	199.992,63 €
700	279.989,68 €
900	359.986,73 €
1100	439.983,78 €
1300	519.980,84 €
1500	599.977,89 €
1700	679.974,94 €
1900	759.971,99 €
2100	839.969,04 €
2300	919.966,09 €
2500	999.963,14 €
2700	1.079.960,20 €
2900	1.159.957,25 €
3100	1.239.954,30 €
3300	1.319.951,35 €
3500	1.399.948,40 €
3700	1.479.945,45 €
3900	1.559.942,51 €
4100	1.639.939,56 €
4300	1.719.936,61 €
4500	1.799.933,66 €
4700	1.879.930,71 €
4900	1.959.927,76 €
5100	2.039.924,81 €
5300	2.119.921,87 €
5500	2.199.918,92 €
5700	2.279.915,97 €
5900	2.359.913,02 €
6100	2.439.910,07 €

Figura 3. Análisis de Sensibilidad



En este caso la relación es lineal pero se pueden proponer distintas variaciones a los parámetros que se han dejado fijos, como

el coste por uso, o ingresar más variables para observar su influencia y obtener distintas funciones de comportamiento.

La siguiente tabla es un resumen de las externalidades valoradas cuantitativamente:

Tabla 8. Valoración de externalidades negativas

Externalidad	Valor económico
Transformación de 5000 hectáreas de secano	1.500.000,00 €
Pérdida de hectáreas por inundación	141.000,00 €
Reposición de carreteras inundadas	599.977,89 €
TOTAL	2.240.977,89 €

Para efectos de poder comparar una cantidad fija se tomará la del 5% de la población, llegando a la siguiente valoración económica:

La suma de los costes por los usos del agua y las externalidades da un total de 11.093.083,17 €, suma que continúa siendo inferior a la valoración económica de los beneficios generados por los usos del agua:

Tabla 9. Valoración económica total

VALOR ECONÓMICO		
Usos del agua	Costos directos	Externalidades
67.423.661,94 €	8.852.105,29 €	2.240.977,89 €
		11.093.083,17 €

Antes de determinar definitivamente si el proyecto es viable o no económicamente, deben tomarse en cuenta las externalidades no cuantificables y determinar su importancia; de la misma forma tendrán que considerarse los beneficios que no se han valorado económicamente.

4.5. ALTERNATIVAS AL PROYECTO

Es necesario mencionar que para cada uno de los servicios descritos en el proyecto se deberían haber esbozado otras alternativas técnicas, cada una de las cuales se tendría que valorar y en su caso descartar antes de detallar el proyecto final. Esto tendría que estar incluido como documentación soporte; sin embargo, en ningún apartado se analiza alguna otra solución. La siguiente tabla muestra un resumen de las problemáticas que justifican el proyecto, así como las alternativas técnicas que podrían haberse analizado.

Tabla 10. Alternativas Técnicas

Problema	Objetivo original	Solución	Variables	Alternativas de solución
Falta de garantía en los suministros de riego en la zona media y baja del Jalón.	Aumentar la regulación del río Jalón y conseguir recursos para aumentar la superficie de riego en la zona media y baja del Jalón	Azud de derivación Presa de Mularroya	Demanda de agua por predio Fuentes alternativas de abastecimiento	Disminuir la demanda de la zona (reducción de zonas agrícolas)
Agotamiento del acuífero de Alfamén, denominado actualmente Unidad Hidrogeológica Campo de Cariñena.	Contribuir a la recarga del acuífero de Alfamén, denominado actualmente Unidad Hidrogeológica Campo de Cariñena.	Recarga del Acuífero	Capacidad del acuífero Demanda de dotación	Hacer más eficiente el sistema de riego regulación de la extracción de agua Recarga del acuífero Disminuir la demanda de la zona (reducción de zonas agrícolas)
Desprotección frente avenidas en el río Grío, aguas abajo de la partida de Mularroya	Laminar avenidas en el río Grío, aguas abajo de la partida de Mularroya	Túnel de trasvase	Frecuencia de eventos (inundaciones en la zona) Daños a la población	Evaluar daños reales por inundaciones así como la frecuencia con las que ocurren éstas Traslado de población a otra región Obras de conducción (canales)
Falta de un caudal de mantenimiento en el río Grío, aguas abajo de la partida de Mularroya.	Asegurar un caudal de mantenimiento del río de acuerdo a su régimen estacional	Caudal de mantenimiento	Ecosistemas existentes del río que dependan del caudal. Abastecimiento de agua en la zona.	



5. DISCUSIÓN

Se obtuvieron tres distintos tipos de valoración del proyecto: por su valor patrimonial, su valoración financiera y su valoración económica. Cada uno de ellos se realizó con la información disponible en el proyecto, complementándola con un trabajo de investigación.

La valoración patrimonial resultó desfavorable para el proyecto, ya que se pretende beneficiar a tierras de regadío que tienen un valor muy por debajo del valor patrimonial de la solución; sin embargo, éste no es un criterio suficiente porque deja de lado demasiados parámetros que deben tomarse en cuenta:

Tabla 11. Valor patrimonial

VALOR PATRIMONIAL	
Terrenos	152.163.360,00 €
Sistema de regulación	222.392.079,90 €

El siguiente paso para hacer un análisis de la viabilidad del proyecto es una valoración financiera en la que se comparan los ingresos obtenidos por los distintos tipos de servicios prestados con la alternativa técnica elegida contra los costes que cada uno de los servicios implica; en la siguiente tabla se muestra un resumen de dicha valoración:

Tabla 12. Valoración financiera

INGRESO	COSTE
3.450.000,00 €	8.852.105,29 €

Dado que este tipo de análisis sólo considera los ingresos y costes directos, es muy fácil que el resultado no refleje la realidad, dejando sin ingresar en el balance variables importantes tanto en costes como en beneficios, por lo que se debe tomar en cuenta en la decisión final; sin embargo, no sería adecuado basar dicha decisión únicamente en un análisis financiero.

Como último paso se debe realizar una valoración más profunda, una valoración económica, que tome en cuenta los beneficios aportados por las actividades productivas asociadas al uso del agua, así como sumar los costes provocados por las externalidades positivas y negativas asociadas al proyecto, las cuales sí tomarían en cuenta cuestiones importante para la sociedad como afectaciones ambientales, etc. Como resultado de dicho análisis se concluyó que el proyecto si es económicamente viable, como aparece en la siguiente tabla:

Tabla 13. Valoración económica

Usos del agua	Costos directos	Externalidades
67.423.661,94 €	8.852.105,29 €	2.240.977,89 €
	11.093.083,17 €	

Aunada a la valoración cuantitativa se deben tener en cuenta los parámetros que no se han podido cuantificar y que se valoran de manera cualitativa:

- Externalidades negativas:
 - Pérdida de seis yacimientos arqueológicos de distintas cronologías, y afectación de carácter indirecto de otros tres.
 - Afectación de un yacimiento del Cámbrico medio.
 - Afectación directa e indirecta de la ZEPA ES0000299 “Desfiladero del río Jalón” y del LIC ES24330100 “Hoces del Jalón”.
- Externalidades positivas:
 - Con la laminación de Avenidas, además de la protección del patrimonio, se protege la vida de la población que se vería afectada por una inundación.

6. CONCLUSIONES

Durante la revisión del “Informe de viabilidad Proyecto de presa de Mularroya, azud de derivación y conducción de trasvase” se pudo apreciar la relevancia que tiene el realizar un adecuado estudio socioeconómico de cualquier proyecto que implique una alteración en el bienestar de la sociedad, tanto en sus factores positivos como en los negativos. Como primer punto, un análisis de viabilidad debe partir siempre de la comparación de una serie de alternativas viables técnicamente para resolver una problemática bien establecida; de esta forma no quedará duda de que el proyecto elegido es la mejor solución.

Dentro del análisis de viabilidad de cualquier proyecto es importante desarrollar un conjunto de metodologías que se complementen unas con otras para que se cubra el mayor espectro posible de parámetros y no se dejen de tomar en cuenta factores importantes.

Realizar un análisis para determinar la viabilidad financiera de un proyecto es una herramienta clave por lo que se debe tener mucho cuidado en contabilizar de manera correcta todos los costes implicados y no hacer uso de métodos que dejen fuera del cálculo los intereses financieros u otras variables que en el momento de realizar el proyecto pueden causar costos no previstos; no se deben perder de vista las limitaciones de este tipo de análisis.

Una vez obtenida la viabilidad financiera, es imprescindible que se continúe con el análisis de los beneficios aún no contemplados en el proyecto, así como la cuantificación de las externalidades tanto positivas como negativas. Es muy importante que la determinación de estos valores sea lo más cercano posible a la realidad y en la medida de los alcances, deberán realizarse las investigaciones necesarias para que al final, el conjunto de resultados brinde una valoración socioeconómica adecuada y la determinación de la viabilidad económica de un proyecto sea fiable y se convierta en una herramientas de peso para la toma de la decisión final que será la de realizar el proyecto en estudio u optar por alguna otra de las alternativas.



7. BIBLIOGRAFÍA

Informe de viabilidad Proyecto de presa de mularroya, azud de derivación y conducción de trasvase. (zg/la Almunia de Doña Godina y otros)

Criterios de homogenización de las variables financieras para el análisis del coste de los servicios, 2007

Guía del análisis costes-beneficios de los proyectos de inversión (Fondos estructurales – FEDER, Fondo de Cohesión e ISPA) 2003

Precios y costes de los Servicios del Agua en España, Informe integrado de recuperación de costes de los servicios de agua en España. Artículo 5 y anejo III de la Directiva Marco de Agua

Guía para decisores Análisis económico de externalidades ambientales. Gonzalo Delacámara. Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL)

Water resources across Europe — confronting water scarcity and drought. European Environment Agency

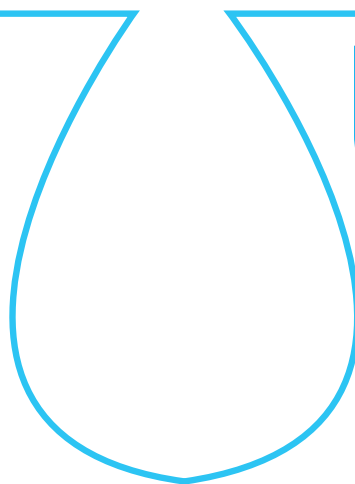
Decisiones Óptimas de Inversión y Financiación en la Empresa, Ediciones Pirámide, Madrid, 1996, 931 páginas. La primera edición tuvo lugar en 1976. ISBN 84-368-1032-5.

El agua en la economía española: situación y perspectivas, Informe integrado de recuperación de costes de los servicios de agua en España. Artículo 5 y anejo III de la Directiva Marco de Agua

Introducción a la economía ambiental. 2 edc. L. Azqueta Oyarzun. Diego

escuela de posgrado
ESTUDIOS UNIVERSITARIOS DE POSGRADO EN **HIDROLOGÍA**

UAH URJC



máster universitario

en hidrología y gestión de recursos hídricos

proyectos
2011

Estado del arte del ensuciamiento, limpieza y modificación de la superficie de membranas de filtración para el tratamiento de disoluciones acuosas

autor

Raquel García Pacheco

director

Dr. Eloy García Calvo

Alcalá de Henares, 20 de Junio de 2011



AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Eloy García la supervisión de este trabajo, a Javier Lillo permitirme el uso de las instalaciones de la Universidad Rey Juan Carlos (microscopio electrónico de barrido en el Centro de Apoyo Tecnológico), a Shivanand Teli y a Andrea Schäfer por sus consejos para la futura investigación que dará continuidad a esta revisión bibliográfica. Y a Elena Campos y Domingo Zarzo de la entidad VALORIZA su apoyo incondicional en mi trabajo diario.



ÍNDICE

1. Resumen.....	20
2. Introducción	20
3. Objetivos	20
4. Metodología y fuentes de información.....	21
5. Estado del arte.....	21
5.1. Tecnología de membranas	21
5.1.1 Antecedentes	21
5.1.2 Tipos de membrana	21
5.1.3 Procesos de membrana.....	22
5.2. Ensuciamiento.....	24
5.2.1 Fenómeno de ensuciamiento	24
5.2.2 Tipos de ensuciamiento.....	24
5.2.3. Parámetros condicionantes del ensuciamiento	25
5.3. Limpieza de membranas.....	28
5.3.1. Concepto	28
5.3.2 Tratamientos convencionales.....	28
5.3.3 Investigación en tratamientos de limpieza... 30	
5.4. Modificación de la superficie de membranas	32
5.4.1 Concepto	32
5.4.2. Modificación de la superficie de la membrana para la mejorar la resistencia al ensuciamiento	33
5.4.3. Modificación del soporte de la membrana para mejorar el flujo del permeado	33
5.4.4. Modificación de la superficie de la membrana para conferir resistencia a la clorina y capacidad biocida	34
5.4.5. Modificación de la superficie de la membrana para aumentar el tamaño de poro	34
6. Conclusiones	37
7. Bibliografía	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación de las membranas según su estructura.....	22
Figura 2. Izq.) Imagen SEM de la sección transversal de una membrana comercial (usada) de ósmosis inversa	22
Figura 2. Dcha. Superior.) Estructura química de la poliamida	22
Figura 2. Dcha. Inferior.) Estructura química de la polisulfona	22
Figura 3. Comparación entre la filtración frontal y tangencial.....	23
Figura 4. Izq.) Fotografía del aspecto de la biocapa en una membrana de ósmosis inversa	25

Figura 4. Dcha.) Imagen SEM de una membrana comercial de ósmosis inversa deteriorada. Ensuciamiento biológico	25
Figura 5. Izq.) Imagen SEM de una muestra de una membrana deteriorada por ensuciamiento coloidal... 25	
Figura 5. Dcha.) Aspecto visual del ensuciamiento coloidal por deposición de arcillas	25
Figura 6. Fenómeno polarización: a) sin depósito de gel, b) con depósito de gel. C_m es la concentración de soluto en las inmediaciones de la membrana y C_o la correspondiente al seno de la solución.....	27
Figura 7. Imágenes SEM de una membrana de microfiltración sin usar (a), la misma sucia (b) y tras la limpieza a través de: c) sonicación, d) agentes químicos, e) retrolavado con agua desionizada, f) combinación de tratamientos	32
Figura 8. Posible esquema de la estructura química de la poliamida aromática después de la polimerización con ADMH	32
Figura 9. Esquema de una membrana modificada con polímeros dendrímeros	33
Figura 10. Esquema de preparación y modificación por baño selectivo de PDA de una membrana comercial de ósmosis inversa.....	34
Figura 11. Imagen SEM de la superficie de una membrana de poliimida empleada en ultrafiltración expuesta a diferentes tiempos a una solución de agua desionizada con 4% en peso de DETA. a) Sin tratamiento, b) 30 min., c) 75 min., d) 90 min.....	35
Figura 12. Hipótesis del mecanismo de reacción (funcionalización y degradación) que conlleva una apertura del poro de una membrana de poliimida.....	35

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Comparación de procesos de separación por membrana cuya fuerza impulsora es el gradiente de presión.....	23
Tabla 2. Principales parámetros condicionantes del ensuciamiento en las membranas.....	28
Tabla 3. Resumen del tipo de ensuciamiento en membranas de filtración de soluciones acuosas y posibles productos de limpieza.	29
Tabla 4. Referencias de algunos monómeros hidrofílicos utilizados para la modificación de membranas de filtración	36



1. RESUMEN

Se presenta este documento con título “*Estado del arte del ensuciamiento, limpieza y modificación de la superficie de membranas de filtración para el tratamiento de disoluciones acuosas*” como trabajo fin de máster del máster en Hidrología y Gestión de Recursos Hídricos de la Universidad de Alcalá y la Universidad Rey Juan Carlos bajo la tutela de Eloy García Calvo.

Este documento se estructura de forma tal que permita al lector introducirse en la historia de la tecnología de las membranas de filtración, sus principales procesos y tipos de membranas. Tras ello, se presenta el problema fundamental de la tecnología de membranas: el ensuciamiento, analizando las causas involucradas en este fenómeno. Por último se tratan las dos principales actuaciones que mitigan el ensuciamiento: la limpieza de membranas y la modificación superficial. En el capítulo de limpieza de membranas se citan los agentes de limpieza más comunes aplicados en las plantas de tratamiento por filtración con membranas y las líneas de investigación actuales que tratan de mejorar los tratamientos comerciales. En el capítulo final se aborda la modificación de la superficie de las membranas a escala de laboratorio a través de investigaciones científicas que tratan de incrementar la eficiencia de esta tecnología (aumentar la resistencia a ensuciamiento, mejorar el flujo de permeado, etc.).

De dicha investigación surge la posibilidad de desarrollar una tesis doctoral para el estudio de la modificación de la superficie activa de las membranas de ósmosis inversa deterioradas con objeto de aumentar su tamaño de poro y permitir su reutilización en procesos de microfiltración y ultrafiltración.

2. INTRODUCCIÓN

La tecnología de membranas constituye uno de los campos más importantes dentro de los procesos de separación. El desarrollo que ha tenido la tecnología de membranas de filtración en estas últimas décadas se evidencia en el crecimiento de un mercado sólido cada vez más maduro y más normalizado (Lee et al., 2011). La necesidad de cumplir con estrictas normas relativas a la calidad del agua así como un creciente interés en fluidos de procesos con mayor nivel de pureza, han impulsado la demanda de las membranas en el mercado siendo las más empleadas las membranas de ósmosis inversa, nanofiltración, ultrafiltración y microfiltración (Drioli y Romano, 2001). La ósmosis inversa es comúnmente utilizada en una amplia variedad de aplicaciones incluyendo procesos de purificación de agua, tratamiento de aguas residuales y numerosos procesos industriales (Zou et al., 2011). Se estima que en 2010, alrededor de las 15.000 plantas de desalación operativas a nivel mundial, produjeron aproximadamente 44,1 Hm³/día (Lattemann et al., 2010).

Los procesos de membranas constituyen una tecnología avanzada de regeneración de efluentes de secundario y terciario de las estaciones de depuración de agua residuales (Wintgens et al., 2005). Permiten alcanzar una calidad de depuración notablemente mayor, reduciendo el espacio necesario, la cantidad de reactivos empleados y la generación de fangos en comparación con otros tratamientos tradicionales (Juang et al., 2006).

La implantación en España del Real Decreto 1620/2007 (BOE, 2007) por el que se establece el régimen jurídico de reutilización de aguas depuradas, impone criterios exigentes de calidad. Teniendo en cuenta que, según datos del Instituto Nacional de Estadística en 2008 se reutilizaron más de 525 Hm³ (11,6 % del volumen total de agua tratada), y que la versión preliminar del Plan Nacional de Reutilización de Agua publicada en diciembre de 2010 tiene por objeto ampliar esta cifra, parece lógico pensar que también se incrementará el uso de estas tecnologías. Además, se considera especialmente interesante el desarrollo de sistemas compactos de membranas que se adecúen a los recursos financieros de las poblaciones pequeñas (inferiores a 2000 habitantes), ya que en España, suponen el 75% del total de los municipios (Ortega et al., 2010). En este aspecto el reciclaje de las membranas y su reutilización así como el uso de productos alternativos de limpieza de las membranas podrán hacer de la tecnología de membranas una solución económicamente viable para todos.

Sin embargo son bien conocidos los principales problemas asociados al uso de las membranas: la reducción de flujo de permeado por ensuciamiento de la superficie de las mismas y la dependencia energética (Blanco et al., 2009; Rana y Matsuura, 2010). A pesar de que en los últimos 30 años los requisitos energéticos para la desalinización han disminuido notablemente (Lee et al., 2011), existen otros muchos factores que optimizar. La aparición de nuevos materiales de membranas de baja presión que permitan la desalación con menores costes energéticos, la creación de membranas resistentes al ensuciamiento, la selectividad hacia los contaminantes, la estabilidad química, la hidrofiliidad de los soportes, la limpieza efectiva y de menor coste, la resistencia a la agresión de compuestos clorados o la combinación de producción de energía con técnicas convencionales y renovables, se presentan como formas alternativas de incurrir en la mejora de la eficiencia de las instalaciones permitiendo reducir tanto el coste como el impacto ambiental.

Actualmente la gestión de las membranas deterioradas se rige por la legislación local o nacional específica en cada caso, siendo el vertedero el destino habitual. La reutilización de las membranas deterioradas es un tema vagamente estudiado que, no obstante, podría llegar a revolucionar la tecnología de las membranas y su mercado. La investigación acerca de la modificación de la superficie de las membranas de ósmosis inversa para su reutilización en procesos de ultrafiltración y microfiltración podría suponer un valor añadido a los procesos de filtración y contribuiría con el esfuerzo de la Unión Europea por crear una “sociedad del reciclado”, tal y como expresa la Directiva 2008/98/CE del Parlamento Europeo y del Consejo sobre residuos.

3. OBJETIVOS

El objetivo fundamental de este trabajo es realizar la revisión bibliográfica para la identificación del estado del arte de la tecnología de membranas en el campo del ensuciamiento, limpieza y modificación de la superficie activa.



4. METODOLOGÍA Y FUENTES DE INFORMACIÓN

Para llevar a cabo la revisión bibliográfica se siguen los criterios que se citan a continuación:

1. La temática seleccionada fue membranas implicadas en procesos de filtración de soluciones acuosas por gradiente de presión, centrando la información en membranas de microfiltración, ultrafiltración, nanofiltración y ósmosis inversa. Se destaca mayor énfasis en estas últimas.
2. Se extrae información de libros y revistas científicas. El buscador principal utilizado ha sido Science Direct, por ser de libre acceso desde la universidad de Alcalá de Henares y el que más información acerca de membranas ofrece. También se han empleado Scirus, Isi web of knowledge y Depósitos Científicos de libre acceso (principalmente el Buscador E-ciencia de la comunidad de Madrid) donde se han adquirido tesis doctorales.
3. Se realiza una búsqueda general de Reviews para seleccionar artículos relacionados con las temáticas de interés.
4. Se hace especial hincapié en la búsqueda de artículos científicos publicados principalmente en *Journal of Membrane Science* con un factor de impacto en 2010 de 3.203, una media de impacto desde 2005 a 2009 de 3,7 y un total de citas hasta el 2009 de 24.096.
5. Respecto a los artículos científicos anteriores al 2009 se consideran aquellos que han sido previamente citados al menos 10 veces.
6. Se intenta recopilar la máxima información acerca de procesos de limpieza y modificación de membranas de los años 2010 y 2011, con objeto de identificar las investigaciones más recientes.

5. ESTADO DEL ARTE

5.1. TECNOLOGÍA DE MEMBRANAS

5.1.1. ANTECEDENTES

Las primeras referencias existentes sobre investigaciones relacionadas con el campo de las membranas datan de mediados del siglo XVIII. Jean Antoine Nollet (1700-1770), físico francés, fue el primero en acuñar la palabra “ósmosis” para describir el permeado del agua a través de un diafragma, estableciendo los principios básicos de dicho proceso en 1748 (Nollet, 1752). Durante el siglo XIX y hasta principios del siglo pasado la investigación sobre membranas estuvo centrada en el estudio de sus propiedades como “barrera física” y en el desarrollo de importantes teorías y leyes fenomenológicas relacionadas con los procesos de membrana tales como la difusión, la presión osmótica y el transporte electrolítico (Mulder, 1997). Sin embargo, no es hasta el siglo XX que comienza el desarrollo de los materiales de las membranas.

Las primeras membranas comerciales fueron desarrolladas en Alemania, en 1920, para uso en la de descontaminación bacteriológica (Sotto, 2008). Estas, compuestas principalmente por nitrato y acetato de celulosa, se asimilaban a las actuales membranas de ultrafiltración. Desde los años 50 a los 60 se desarrollaron las membranas del tipo asimétrica, de acetato de celulosa, consiguiendo su aplicación en ósmosis inversa. El mérito es atribuido a Loeb y Sourirajan por desarrollar la técnica de inversión de fases que permitió la obtención de membranas integrales con morfología anisotrópica (con distinta composición a lo largo del espesor de la membrana), que mejoraron la permeabilidad de las membranas isotrópicas (Loeb y Sourirajan, 1963, 1964). Aunque este tipo de membranas constituyen la verdadera revolución en el terreno comercial, estaban limitadas por su gran sensibilidad al ataque biológico, a los cambios de pH, a los oxidantes y las temperaturas elevadas (Edgar et al., 2001).

Ya en la década de los 70 se vuelve a revolucionar la tecnología de membranas aplicada al tratamiento de agua con el desarrollo de las membranas compuestas de capa fina (TFC), cuya capa activa de poliamida exhibía mayores porcentajes de rechazo de sales y contaminantes orgánicos que el resto de membranas y además conseguían mayor producción de agua notablemente superior. Estas eran altamente resistentes a la temperatura y a los agentes químicos (Lau et al., 2011). Igualmente, tuvo gran importancia la llegada de las membranas de nanofiltración y de ósmosis inversa de ultra-baja presión (ULPRO). Con estas últimas se logró aumentar los niveles de rechazo con un menor gasto energético. Ambas, ofrecieron una opción viable para el tratamiento de agua pudiendo llegar a ser tan eficaces como las membranas de ósmosis inversa convencionales en la eliminación de ciertos solutos del agua utilizando menor presión de alimentación y por tanto disminuyendo significativamente el coste del proceso (Roskill Report, 2002).

Durante los últimos años los avances se han centrado en el diseño y configuración de los módulos que han permitido aumentar los niveles de producción, sobre todo en el caso de las membranas más densas (ósmosis inversa). En la actualidad, las investigaciones se centran en el diseño de elementos que optimicen características hidrodinámicas que minimicen los efectos de la concentración por polarización (Lee et al., 2011). Otro campo abierto es la modificación de la superficie activa con objeto de introducir cambios en la funcionalidad química de la membrana con vistas a mejorar la retención de determinados contaminantes (Ozaki y Li, 2002; Wang, et al., 2002), aumentar su resistencia al ensuciamiento, a compuestos clorados (Santoso et al., 2003; Albercht et al., 2007) y otros oxidantes, incorporar características biocidas (Kwak et al., 2001; Kim et al., 2003; Wei et al., 2010-a,b) o incrementar el rechazo de sales sin empeorar con ello el flujo del permeado (Mickols, 1998).

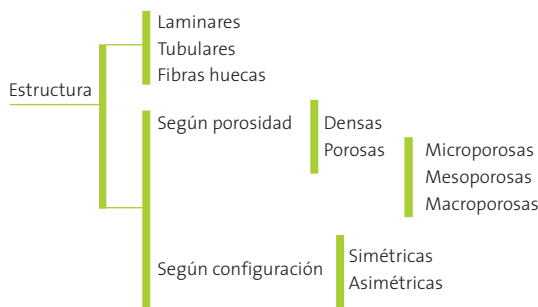
5.1.2. TIPOS DE MEMBRANAS

Los materiales y configuraciones que se utilizan en muchos procesos de membrana pueden ser muy diferentes, ofreciendo varias posibilidades de clasificación según sea el elemento de referencia (Figura 1). Así, entre otros, los criterios de clasificación pueden ser: naturaleza (biológicas y sintéticas), composición (inorgánicas, orgánicas o poliméricas y mixtas), función (separación de gases, destilación de agua, diálisis, ultrafiltración, elec-



trodialisis, etc.), forma (laminar, fibra hueca, tubular), estructura (homogénea, asimétrica o compuesta), aplicación (separación gas-gas, líquido-gas, líquido-líquido), etc. (Muñoz, 2010). En función de su morfología las membranas se clasifican en: simétricas y asimétricas. Las membranas simétricas son aquellas que mantienen homogeneidad estructural en todas las direcciones, mientras que las asimétricas poseen una estructura no uniforme en todo su espesor. A su vez, cada una de ellas pueden ser de dos tipos, porosas y no porosas. Esta clasificación es importante, dado a que en función del tipo de porosidad, el mecanismo de separación será diferente (filtración, procesos de solución-difusión, procesos electroquímicos) (Sotto, 2008).

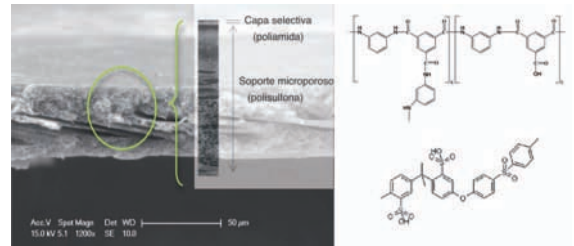
Figura 1. Clasificación de las membranas según su estructura



Adaptación de Sotto, 2008

Entre todas ellas, por suponer un gran avance dentro de la tecnología de membranas, cabe hacer especial mención a las membranas asimétricas y entre ellas, las membranas compuestas de capa fina, TFC (Figura 2). Estas son creadas por polimerización interfacial (Cadotte y Rozelle, 1972; Cadotte, 1985) y constituyen las llamadas membranas anisótropas formadas por láminas planas o fibras huecas desarrolladas en un diseño ultra-delgado de película cuya composición cambia a lo largo de su espesor (Petersen, 1993). Se constituyen en 3 capas: una capa de poliamida aromática (que actúa como barrera selectiva) de 0,2µm, soportada con una lámina microporosa de polisulfona (soporte) de 40 µm y un soporte estructural de poliéster con un intervalo de espesor de 120-150 µm (Lee et al., 2011). Se emplean en procesos de flujo conducido como los aplicados en nanofiltración y ósmosis inversa (Cadotte y Petersen, 1980) presentando un rendimiento excelente en muchas aplicaciones de desalación y purificación de agua (Yu et al., 2011). La estructura de la poliamida presenta ácidos carboxílicos libres y grupos primarios de amino capaces de reaccionar, confiriendo a la superficie selectiva cierta modificación potencial (Van Wagner et al., 2011). En los artículos científicos publicados en 1993 por Petersen y recientemente por Lau y otros colaboradores se detalla la estructura y composición de las membranas TFC (Petersen, 1993; Lau et al., 2011).

Figura 2. Izq.) Imagen SEM de la sección transversal de una membrana comercial (usada) de ósmosis inversa. La parte superior, constituida por poliamida, está en contacto con el agua a tratar. La parte inferior, formada por polisulfona, está pegada al soporte de poliéster. Elaboración propia. Dcha. superior.) Estructura química de la poliamida. Fuente Yu et al., 2011. Dcha. inferior.) Estructura química de la polisulfona. Fuente: Peng et al., 2011.



Hoy en día también son muy utilizadas las membranas de ultra baja presión (ULPRO) que son consideradas membranas multicapas (compuestas de capa fina) soportadas por una capa hidrofílica que favorece el flujo de agua a través de la misma. La composición química de las actuales membranas compuestas de capa fina permite lograr valores superiores al doble del flujo que se alcanzaba con las membranas tradicionales aplicadas al tratamiento de agua (Ozaki y Li, 2002).

Las membranas se disponen en una unidad de operación que se denomina módulo, siendo éste la unidad física que las alberga. Principalmente son cuatro los tipos de módulos: plano, enrollamiento en espiral, fibra hueca y tubular (Muñoz, 2010). Actualmente, el módulo en espiral de poliamida aromática es la configuración dominante en los procesos de ósmosis inversa y nanofiltración, seguida de las membranas de fibra hueca de acetato de celulosa (Truby, 2004), a pesar de que estas últimas tienen una resistencia mayor a la clorina permitiendo la prevención del crecimiento de microorganismos que desarrollan problemas de bioensuciamiento (Kumano y Fujiwara, 2008).

5.1.3. PROCESOS DE MEMBRANAS

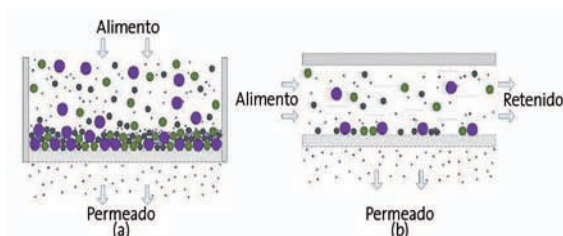
La tecnología de membranas consiste en procesos de separación a través de una membrana que actúa como una barrera física semipermeable (Petersen, 1993). La membrana interviene de forma selectiva al flujo molecular o de especies iónicas presentes en el líquido en contacto con la superficie de separación (Mulder, 1997), lo cual permite enriquecer o empobrecer una corriente en una o varias sustancias. Este fenómeno de transporte sólo es posible bajo la acción de una fuerza impulsora sobre la corriente de alimentación. Entre las diferentes fuerzas motrices destacan los gradientes de presión (ΔP), concentración (ΔC), temperatura (ΔT), y potencial eléctrico (ΔV) (Sotto, 2008). Los modos de filtración más frecuentes se describen a continuación (Figura 3):

- **Procesos de filtración en línea o frontal:** la fuerza impulsora es la caída de presión hidrostática de la suspensión de la alimentación (la presión sólo se aplica para acelerar el proceso) y la dirección del flujo es perpendicular al medio filtrante. En estos procesos existe una corriente de entrada (alimen-

tación) y un efluente (permeado). Las especies quedan retenidas en una capa o torta que se opone a la fuerza impulsora y que va creciendo a medida que aumenta el tiempo del proceso. En consecuencia, el flujo de permeado va disminuyendo si la diferencia de presión se mantiene constante (o causa el aumento de la diferencia de presión si el flujo de permeado se mantiene constante) (Koros et al., 1996; Muñoz, 2010).

- **Procesos de filtración tangencial:** Se hace fluir de forma paralela a la superficie de la membrana el fluido a tratar, generándose dos flujos: el rechazo (retenido) y el permeado. El flujo tangencial reduce la formación de la torta de filtrado, logrando una duración de las membranas significativamente superior (Koros et al., 1996; Membrane Technology Guide, 2009).

Figura 3. Comparación entre la filtración frontal (a) y tangencial (b).



Fuente: Muñoz, 2010.

5.1.3.1. Clasificación de las operaciones de membrana

A nivel industrial, las operaciones de membrana cuya fuerza impulsora es el gradiente de presión generado entre ambos lados de la membrana, cubren un gran espectro de aplicaciones consolidándose como tecnologías maduras la microfiltración (MF), la ultrafiltración (UF), la nanofiltración (NF), la ósmosis inversa (OI) (Drioli y Romano, 2001). En la Tabla 1 se comparan dichos procesos.

La aplicación de tecnologías de membrana, tales como microfiltración (MF), ultrafiltración (UF) y la nanofiltración (NF), han sido ampliamente empleadas en el tratamiento de las aguas superficiales destinadas a consumo humano, así como en tratamiento terciario de aguas residuales urbanas e industriales (Van der Bruggen et al., 2008; Bonzella et al., 2010). Además se emplean con frecuencia en el pretratamiento de la desalación por ósmosis inversa, en particular cuando las aguas tienen un alto poder de atascamiento ya que permite aumentar la vida útil de estas, debido a la alta reducción de coloides inorgánicos y orgánicos, responsables en su mayor parte del SDI de las aguas de entrada. Sin embargo, la dificultad más importante que deben superar es el elevado coste (aproximadamente entre un 15 % y un 20 %) con respecto a los pretratamientos físico-químicos convencionales, que encarece los costes de inversión y de operación (Sánchez et al., 2009).

La nanofiltración consiste en un sistema de filtración por membranas característico por ser un proceso de selectividad intermedia entre la ultrafiltración y la ósmosis inversa. En lo que respecta al diseño, los fundamentos y los componentes para la nanofiltración, son idénticos a la ósmosis inversa. Se diferencia de esta fundamentalmente en el intervalo de presión comprendido entre 5 y 35 bar y en la selectividad de las sales disueltas, ya que el rechazo de iones monovalentes es mucho menor que en la ósmosis inversa (Sotto, 2008). Dentro de los últimos desarrollos de la nanofiltración, están las membranas selectivas de atrazinas y de plaguicidas con un gran campo de aplicación en los tratamientos de agua para consumo humano (Sánchez et al., 2009).

La ósmosis inversa hoy por hoy es la tecnología líder en desalación de agua (Lee et al., 2011). Consiste en invertir el proceso de ósmosis de tal forma que, aplicando una presión superior a la presión osmótica correspondiente en el lado de la solución más concentrada, el flujo del agua se desplaza desde el lado de la solución más concentrada a la solución más diluida (Sánchez et al., 2009). Generalmente, este proceso se lleva a cabo mediante membranas de poliamida semipermeables, enrolladas en espiral, capaces de retener la mayor parte de las sales disueltas al tiempo que impiden el paso de bacterias y virus. Al ser membranas densas, no porosas, muestran una alta resis-

Tabla 1. Comparación de procesos de separación por membrana cuya fuerza impulsora es el gradiente de presión. Adaptación de Sotto, 2008

	Ósmosis inversa	Nanofiltración	Ultrafiltración	Microfiltración
Membrana	Asimétrica	Asimétrica	Asimétrica	Asimétrica Simétrica
Tamaño de poro (μm)	< 0,001	0,001 a 0,01	0,01 a 0,1	0,1 a 10
Estructura	Densa	Microporosa	Mesoporosa	Macroporosa
Naturaleza química	Orgánica	Orgánica	Inorgánica Inorgánica	Orgánica Orgánica
Presión (bar)	10-100	5-35	1-5	< 2
Permeabilidad normalizada ($\text{l}/\text{h}\cdot\text{m}^2\cdot\text{bar}$)	0,05 - 1,4	1,5 -15	10 y 50	> 50
Retención de compuestos	Sales compuestos orgánicos de bajo peso molecular	Sales multivalentes, compuestos orgánicos de bajo peso molecular	Contaminantes microbiológicos, coloides, macromoléculas, proteínas	Partículas en suspensión, bacterias



tencia hidráulica. El rechazo de solutos no ocurre mediante filtración, sino que el mecanismo de transporte característico es el de disolución-difusión a través de la membrana (Petersen, 1993). En este caso, los componentes se disuelven en la membrana y posteriormente se difunden a través de ella. La diferente solubilidad y difusividad permiten la separación de sustancias del tamaño de moléculas e iones (Mulder, 1997).

5.2. ENSUCIAMIENTO DE MEMBRANAS

5.2.1. FENÓMENO DE ENSUCIAMIENTO

El ensuciamiento es definido como el proceso resultante de la pérdida del rendimiento de una membrana debido a la deposición de sustancias disueltas sobre su superficie externa y/o en sus poros (Koros et al., 1996). El ratio de ensuciamiento depende de muchos parámetros relacionados entre sí (Drews, A., 2010) lo que hace que pueda ser clasificado en tres categorías (Schäfer et al., 2004):

- Reversible, refiriéndose al ensuciamiento que es eliminado por procesos físicos.
- Irreversible, cuando solo puede ser eliminado a través de un tratamiento químico. En el caso de la ósmosis inversa, se genera una capa de ensuciamiento compacta, densa y fuertemente unida siendo difícil de eliminar con procesos físicos.
- Irrecuperable, cuando el ensuciamiento es permanente y no puede ser eliminado por ningún proceso de limpieza. Suele corresponder a largos periodos de operación.

El ensuciamiento de las membranas es considerado el mayor impedimento de esta tecnología por ser un fenómeno inevitable (Ang et al., 2011). El ensuciamiento de las membranas supone una disminución del caudal de permeado que obliga a realizar paradas en las plantas de filtración para limpiar las membranas con tratamientos físicos y químicos que perjudican su vida útil. Esto provoca una elevada demanda energética, disminuye el rendimiento de la planta en cuanto a la relación productividad/permeado y puede llegar a ser el principal coste de operación (Drews, A., 2010).

Para la detección del tipo de ensuciamiento, se debe realizar un estudio exhaustivo de la superficie de la membrana a través de autopsias (Darton et al., 2004), una técnica destructiva empleada con membranas deterioradas que supone la invalidación del uso de ese elemento tras los análisis y por tanto un coste en la planta de operación por sustitución del mismo (Darton y Fazell, 2001). El avance tecnológico ha favorecido extraordinariamente al conocimiento de la superficie de las membranas y su caracterización físico-química. Se destacan técnicas como microscopía de fuerza atómica (AFM), espectroscopía (ATR-FTIR), microscopía electrónica de barrido (SEM), espectrometría de masas (SIMS) y de fluorescencia de rayos X (Rana y Matsuura, 2010).

De las investigaciones revisadas, muchos de los resultados parecen indicar que la principal causa del ensuciamiento es la interacción física y química entre la superficie de la membrana y los contaminantes (Rana y Matsuura, 2010). Según estudios reali-

zados por Genesys International, la mayor parte del ensuciamiento de las membranas tratadas para su limpieza y regeneración desde 2001 a 2009 es a causa de coloides (depósitos arcillosos, aluminosilicatos), materia orgánica (ácidos húmicos) y actividad biológica (Chester, 2010). Sin embargo, cada membrana presentará un ensuciamiento distinto en función de tipo de agua a tratar y las sustancias inmersas en esta.

La reducción del ensuciamiento ha sido objeto de numerosas investigaciones tanto académicas como industriales desde la década de los 60, cuando emergieron los procesos de separación con membranas (Rana y Matsuura, 2010). Actualmente los esfuerzos se centran en el control del ensuciamiento, la limpieza de la membrana y la elaboración de membranas que por se no generen ensuciamiento (Lee et al., 2011). Aunque esta última parece ser una tarea de extrema dificultad, trabajar con una membrana resistente al ensuciamiento aumentaría la eficiencia de la producción de permeado y en definitiva de la tecnología de membranas (Van der Bruggen et al., 2008).

5.2.2. TIPOS DE ENSUCIAMIENTO

A continuación se explica brevemente cuáles son los tipos de ensuciamiento más frecuentes en las membranas.

5.2.2.1. Ensuciamiento orgánico

La materia orgánica es una mezcla heterogénea de componentes orgánicos naturales, en su mayor parte, sustancias húmicas (ácidos húmicos y fúlvicos) así como proteínas y polisacáridos extracelulares (SPE) segregados por microorganismos (bacterias, hongos y levaduras) del agua a tratar (Sánchez et al., 2009). Generalmente el ensuciamiento orgánico es causado por la adsorción molecular entre partículas y la superficie de la membrana creando una monocapa, a través de la formación de geles o mediante la deposición de tortas (Schäfer et al., 2004). Normalmente las condiciones que provocan la deposición de materia orgánica sobre la superficie de las membranas son ambiente ácido, presencia de cationes divalentes y alta fuerza iónica (Al-Amoudi y Lovitt, 2007).

5.2.2.2. Bioensuciamiento

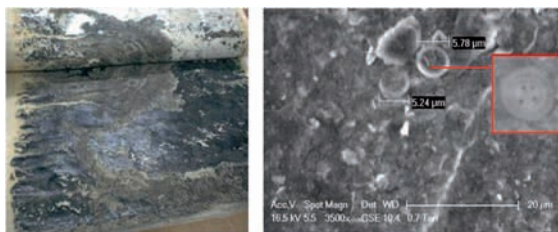
El término de bioensuciamiento se describe como el ensuciamiento causado por organismos biológicos activos (Lappin y Costerton, 1989). Desde hace décadas se considera que el bioensuciamiento es el talón de Aquiles de la tecnología de membranas por el problema técnico que genera y las grandes pérdidas económicas que supone (Flemming et al., 1997). El bioensuciamiento se diferencia del resto fundamentalmente por su naturaleza dinámica (Schäfer et al., 2004). Se trata de un fenómeno que ocurre sobre la superficie de la membrana (Figura 4) y que suele estar precedido de dos procesos: adhesión de microorganismos y formación y reproducción de las colonias ancladas (Schäfer et al., 2004). La adhesión es un prerrequisito para la formación de la biopelícula e implica unas acciones de deposición no específicas entre el *substratum* de polímero sintético y las estructuras adhesivas (flagelos, fimbrias) (Bos et al., 1999). Después del enganche inicial de los microorganismos, colonizan la superficie de la membrana generando sustancias poliméricas extracelulares (EPS) como residuo metabólico que



incluyen compuestos orgánicos, proteínas, carbohidratos, DNA y RNA (Liu y Fang, 2005).

Una amplia lista de especies de hongos y bacterias ha sido identificada en biopelículas analizadas (Ridgway y Flemming, 1996) siendo *Fusarium* y *Penicillium* los hongos más usuales y *Bacillus*, *Lactobacillus*, y *Pseudomonas* las bacterias halladas con más frecuencia (Mallevialle et al., 1998).

Figura 4. Izq.) Fotografía del aspecto de la biocapa en una membrana de ósmosis inversa. Fuente: www.genesysro.com. Dcha.) Imagen SEM de una membrana comercial de ósmosis inversa deteriorada. Ensuciamiento biológico: Diatomeas. Fuente: análisis propio.



5.2.2.3. Depósito e incrustaciones inorgánicas

La precipitación de sales inorgánicas a lo largo de la superficie de la membrana tiene lugar al superar su límite de solubilidad. Este es un parámetro limitante de operación en procesos de eliminación de sales y por ello es importante conocer los valores críticos para evitar su deposición sobre las membranas (Schäfer et al., 2004). La composición de las incrustaciones que se suelen encontrar en membranas de ósmosis inversa y nanofiltración incluye carbonato cálcico, carbonato de bario, sulfatos de calcio, de bario y estroncio, y silicatos de calcio y magnesio así como sílice coloidal reactiva. Los depósitos de hierro son también frecuentes. Otras sales menos habituales pero también existentes son el fluoruro cálcico o las precipitaciones de fosfato cálcico y la precipitación de óxidos metálicos de hierro, manganeso y aluminio (Sánchez et al., 2009).

Ensayos realizados, por Sahachaiyunta y colaboradores (Sahachaiyunta et al., 2002) con agua simulada de composición similar a las generadas en la industria minera, revelaron que la mayor precipitación de sílice se da en presencia de pequeñas cantidades de hierro en comparación con otros cationes inorgánicos tales como manganeso, níquel o bario.

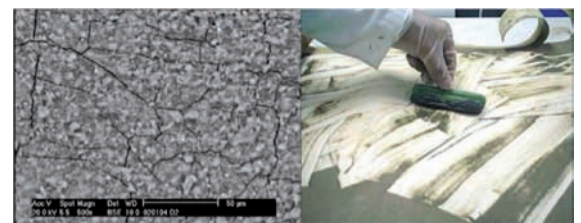
5.2.2.4. Ensuciamiento coloidal

Los coloides son definidos como partículas (orgánicas e inorgánicas) en suspensión, con un intervalo de tamaño entre nanómetros y micrómetros, que suelen estar presentes en aguas naturales y residuales (industriales y urbanas) (Schäfer et al., 2004). El ensuciamiento coloidal se origina por la coagulación de los coloides que se adhieren a la membrana y forman una capa superficial que reduce su permeabilidad (Figura 5). La materia coloidal presente en el agua se elimina mayoritariamente en el pretratamiento, si bien ocasionalmente hay fracciones que alcanzan las membranas. Los coloides inorgánicos más frecuentes son compuestos de hierro, manganeso, sílice, arcilla fina y

azufre (Sánchez et al., 2009), aunque también se encuentran coloides orgánicos y biológicos por agregación de materia orgánica u organismos respectivamente (Al-Amoudi y Lovitt, 2007). La disminución del flujo permeado en el ensuciamiento coloidal se relaciona con el incremento de la presión osmótica de la torta (Herzberg y Elimelech, 2007).

Yiantsios and Karabelas, determinaron que aparte del tamaño de partícula y la concentración, la estabilidad de los coloides juega un papel muy significativo en el ensuciamiento de membranas de ósmosis inversa y ultrafiltración. A mayor estabilidad coloidal en suspensión menor ensuciamiento, por lo que el empleo de soluciones ácidas que impidan la precipitación de sales puede provocar la agregación coloidal generando depósitos sobre la superficie de la membrana (Yiantsios y Karabelas, 1998).

Figura 5. Izq.) Imagen SEM de una muestra de una membrana deteriorada por ensuciamiento coloidal. Dcha.) Aspecto visual del ensuciamiento coloidal por deposición de arcillas.



Fuente: Chester, 2010.

5.2.3. PARÁMETROS CONDICIONANTES DEL ENSUCIAMIENTO

A continuación se citan e introducen brevemente los factores que tienen un efecto significativo sobre el ensuciamiento de la superficie de las membranas. En la Tabla 2 se resume dicha información.

5.2.3.1. Hidrofilidad

Los enlaces de hidrógeno vinculados con las moléculas de agua y su carácter polar son la base del carácter hidrófilo. Las membranas incluyen en su estructura química polímeros hidrófilos constituidos por grupos polares de oxígeno, nitrógeno y halógenos, ya sea en la cadena principal o en grupos funcionales terminales, que facilitan la adhesión del polímero a las moléculas de agua y la mejoran la humectabilidad de la membrana (Mulder, 1997). La hidrofilidad es un parámetro limitante del tiempo de vida de las membranas (Rana y Matsuura, 2010). Se asume con frecuencia que el ensuciamiento disminuye al incrementar la hidrofilidad del material polimérico ya que las moléculas orgánicas tienden a interactuar con moléculas hidrófobas (Kabsch et al, 1999; Schäfer et al., 2002; Zou et al., 2011).

Aunque los polímeros hidrófilos son ideales para la fabricación de membranas, hoy por hoy las investigaciones realizadas acerca de la generación de membranas con polímeros totalmente hidrófilos necesitan aún madurar mucho. Los polímeros hidrófilos, por ejemplo, no son adecuados para generar membranas anisótropas de tipo composite (TFC). Algunos cien-



tíficos sostienen que si la totalidad de los poros del soporte fueran hidrofílicos podrían absorber agua y sufrir hinchamiento ante diferentes medios contribuyendo a una inestabilidad mecánica (Bert et al., 1970).

5.2.3.2. Rugosidad

La rugosidad de la superficie de las membranas influye en la morfología y en la cantidad de ensuciamiento adherido en función de su naturaleza. Sin embargo, también hay gran controversia entorno a este término. Numerosas publicaciones revelan que a mayor rugosidad superficial menor ensuciamiento se genera sobre las superficies de las membranas (Yan et al., 2006; Zhu et al., 2008; Rana y Matsuura, 2010). Riedl y colaboradores estudiaron el tratamiento de zumo de manzana a través de membranas de microfiltración de polisulfona, fluoruro de polivinilideno y polietérsulfona, determinando que sobre las superficies lisas se produce mayor ensuciamiento que en las superficies rugosas debido a que ofrecen menor resistencia al paso del flujo (Riedl et al., 1998). Scott y su grupo de investigación obtuvieron resultados similares en su estudio, permitiéndoles plantear la hipótesis de que quizá el flujo en contacto con la superficie rugosa promueve la turbulencia cerca de las paredes de la superficie aumentando la mezcla sobre la capa límite y con ello reduciendo el ensuciamiento (Scott et al., 2000).

No obstante, trabajos como el realizado por Elimelech revelan lo contrario. En su estudio determinó la relación entre la rugosidad de la superficie de las membranas y el ensuciamiento coloidal, sosteniendo que las partículas coloidales se acumulan preferentemente en los valles de la superficie rugosa, provocando un "bloqueo del valle" en membranas poliméricas de ósmosis inversa y por ende, una brusca caída en el flujo de la membrana (Elimelech, 1997).

5.2.3.3. Ángulo de contacto

El ensuciamiento varía el ángulo de contacto entre la superficie de la membrana y el flujo de la corriente (Rana y Matsuura, 2010). Menor ángulo de contacto indica mayor hidrofiliadad de la superficie de la membrana y por tanto incrementa la resistencia al ensuciamiento de contaminantes hidrofóbicos tales como los orgánicos (Sarkar et al., 2010).

5.2.3.4. Tamaño de poro y homogeneidad

El tamaño de poro de las membranas condiciona el tipo de sustancias a separar. Así, se mantiene una estrecha relación entre el ensuciamiento y el tamaño de poro. Solutos mucho más pequeños que el tamaño de poro de la membrana pueden provocar ensuciamiento mediante procesos de adsorción en el interior de los mismos. Solutos de tamaño similar a los poros de la membrana causan inmediatamente su bloqueo y la consecuente disminución del flujo, mientras que partículas de mayor tamaño podrán depositarse en forma de torta sobre la superficie de la membrana. En membranas densas, los solutos que no interactúan con la superficie activa en los procesos de disolución-difusión, se depositan sobre la superficie de la membrana formando generalmente depósitos menos permeables que los anteriores (Schäfer et al., 2004).

Por otro lado, las superficies isoporosas facilitan el flujo homogéneo a través de los poros mientras que una distribución heterogénea de los poros puede originar un rápido ensuciamiento (Gordon, A., 2006).

5.2.3.5. Carga superficial

Cuando los poros de las paredes de la membrana están cargados pueden intervenir una serie de procesos complejos que alteran el tamaño efectivo del poro de la membrana. El caudal del permeado a través del poro desplaza iones que se han acumulado en la capa difusa, cerca de la superficie de membrana porosa cargada. Como resultado se establece un potencial eléctrico que produce una resistencia adicional sobre el agua que fluye a través de los capilares de la membrana (Mallevalle et al., 1998).

Las fuerzas repulsivas tienen lugar entre la superficie cargada y los co-iones de la solución a tratar y previenen la deposición de estos sobre la primera, reduciendo así el ensuciamiento (Rana y Matsuura, 2010). Sin embargo no existen claras correlaciones que permitan establecer definiciones universales aunque hay investigaciones que argumentan que el revestimiento de cargas positivas sirve como barreras para los co-iones (Ulbricht et al. 1998) y proteínas cargadas positivamente (Kato et al., 1995) debido al dominio del mecanismo de exclusión, aunque las cargas positivas interactúan fácilmente con los ácidos húmicos (Nystrom et al. 1996). Por otra parte, las superficies neutras o cargadas negativamente y con un alto contenido superficial hidrofílico tienen menor tendencia a ensuciarse con compuestos orgánicos, debido a la reducidas interacciones entre grupos funcionales de las moléculas orgánicas y los grupos polares de la superficie de la membrana (Tu et al., 2001; Lee et al., 2011).

5.2.3.6. Polarización

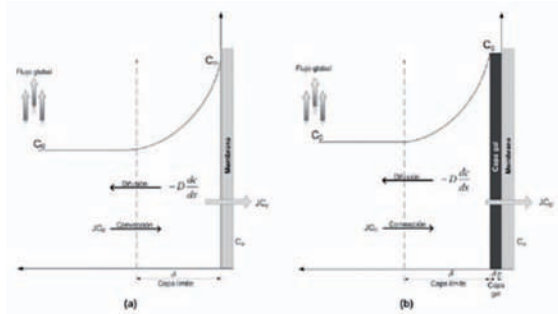
Actualmente se piensa que el fenómeno de polarización es uno de los principales problemas detectados en las membranas comerciales. Se trata de un proceso reversible, que contribuye a la reducción del flujo de permeado y que puede ser controlado por medio de ajustes en la velocidad del fluido (McCutcheon y Elimelech, 2006; Sotto, 2008). Generalmente, el fenómeno de polarización tiene lugar en aquellos procesos que operan con flujo tangencial donde, en una primera etapa, se transfiere materia desde el seno de la solución concentrada hasta la pared de la membrana. La capacidad selectiva de la membrana provoca la retención de ciertas partículas que se acumulan cerca de su superficie provocando, con el paso del flujo, un gradiente de concentración que origina una difusión en sentido contrario al flujo permeado (Figura 6.a) hasta alcanzar el estado estacionario (Hernández et al., 1990, Membrane Technology Guide, 2009).

Por otra parte, la concentración de solutos en la capa de polarización puede llegar a formar una capa de gel (Figura 6. b). Esta capa se comporta como una verdadera membrana dinámica superpuesta a la membrana de operación, lo que dificulta la transferencia de materia.

Alcanzada la concentración de gel, un aumento posterior de la presión de operación no mejora ni aumenta el flujo de permeado; su único efecto es el aumento del espesor de dicha capa (Schäfer et al., 2004).



Figura 6. Fenómeno de polarización: a) sin depósito de gel, b) con depósito de gel. C_m es la concentración de soluto en las inmediaciones de la membrana y C_o la correspondiente al seno de la solución



Fuente: Muñoz, 2010.

5.2.3.7. Adsorción y potencial de adhesión

La adsorción puede ser definida como la interacción específica entre la membrana (tanto la superficie como en el interior de los poros) y los solutos del fluido. La adsorción estática (en ausencia de flujo) es generalmente menor que la adsorción dinámica, debido al incremento de la resistencia hidráulica (Schäfer et al., 2004). Los sitios individuales altamente potenciales a la adhesión de partículas juegan un papel importante ya que favorecen la adsorción, provocando un aumento del ensuciamiento de la membrana y una menor eficiencia de los procesos de limpieza (Mi y Elimelech, 2010).

5.2.3.8. Parámetros hidrodinámicos

Temperatura del proceso

Las membranas poliméricas exhiben una alta sensibilidad en el permeado y el rechazo hacia la temperatura (Sotto, 2008). La solubilidad de los contaminantes varía con la temperatura (Carey y Sundberg, 2000), así como la reactividad de los grupos funcionales orgánicos (Lee y Elimelech, 2007). Por ello, en procesos de ósmosis inversa, para producir el mismo caudal de permeado, una carga con menor temperatura requiere un mayor diferencial de presión (Sánchez et al., 2009). Además el ensuciamiento reversible es más significativo a bajas temperaturas mientras que el irreversible se desarrolla más rápidamente con temperaturas mayores (Lyko et al., 2008).

pH del proceso

El pH es un factor determinante de operación que condiciona la integridad de las membranas, el ensuciamiento depositado sobre su superficie y la efectividad de su limpieza. En los procesos de filtración al igual que en el empleo de los productos de limpieza se atiende al tipo de membrana y a su fabricante (Sánchez et al., 2009). Por ello no es difícil encontrar que la mayor parte de las casas comerciales de membranas de filtración (Dow, Toray, Hydranautics, Toyobo, Koch, etc.) tengan sus productos propios de limpieza.

El valor del pH de la disolución determina la carga superficial de la membrana, lo cual repercute tanto en la interacción de esta

con los solutos cargados de la disolución, como en la propia interacción de los grupos funcionales que componen su capa activa (Bellona y Drewes 2005; Childress y Elimelech 2000). Un pH mayor al punto isoelectrónico de los solutos puede incrementar el ensuciamiento (Bacchin et al., 2006). Trabajar a pH bajos es recomendable para evitar la precipitación de sales carbonatadas (Schäfer et al., 2004; Al-Amoudi y Lovitt, 2007). Sin embargo, al trabajar con proteínas, ácidos orgánicos o soluciones coloidales, operar a estas condiciones puede aumentar notablemente el ensuciamiento (Yiantsios y Karabelas, 1998; Lee et al., 2006). Susanto y colaboradores estudiaron el ensuciamiento de polisacáridos de proteínas en membranas comerciales de poliétersulfona de ultrafiltración. La adsorción de alginato sobre la membrana fue mayor a menores pH donde los grupos carboxílicos del alginato se protonan reduciéndose las repulsiones electrostáticas con la membrana. El tamaño de las moléculas también disminuye lo que las hace más accesibles a los poros de la membrana (Susanto et al., 2008).

Presión del proceso

La tecnología de membrana trabaja desde un intervalo de presión de pocos bares (MF y UF) hasta presiones de cerca de 100 bar si se desaliniza agua de mar (OI). Este intervalo de presiones tan amplio condiciona las características del ensuciamiento. La formación de la torta comienza con el bloqueo de poros y el ensuciamiento por adsorción de compuestos afines a la superficie de la membrana, que provocan un consecuente aumento de la presión transmembrana (diferencia de presión que existe a ambos lados de la misma) (Mallevialle et al., 1998). La compactación y el espesor de la capa de ensuciamiento son factores controlantes de la disminución del flujo que dependen de la naturaleza química del contaminante y de la tecnología de membranas empleada. En procesos que requieren alta presión se generan tortas más finas y compactas (NF, OI) que otras técnicas como la ósmosis directa donde la torta generada es más gruesa y débil (Mi y Elimelech 2010). Esto repercute en el fenómeno de polarización y en la efectividad del proceso de limpieza.

Además, cuando se aplica una presión más baja que la presión crítica existe una capa de concentración por polarización sobre la superficie de la membrana. Sin embargo, cuando la presión supera la presión crítica, la capa de ensuciamiento se forma entre la zona de polarización y la superficie de la membrana (Goosen et al 2004).

Flujo del proceso

El flujo a través de la membrana muestra la capacidad de operación de la membrana bajo ciertas condiciones específicas, y se define como el ratio de flujo volumétrico de permeado por unidad de área y tiempo (Koros et al., 1996). Así, está documentado que el flujo tiende a disminuir cuanto mayor rugosidad tiene la superficie de la membrana (Elimelech et al., 1997).

El flujo crítico es un factor importante que está estrechamente ligado a la polarización (Bacchin et al., 2006; Drewes, A., 2010). Aunque las condiciones óptimas de trabajo se sitúan por debajo del flujo crítico, flujos demasiado bajos pueden favorecer la formación de capas de ensuciamiento resistentes formadas por componentes pequeños (Susanto et al., 2008). Tener un control del flujo crítico puede maximizar el control del ensuciamiento y minimizar la frecuencia de limpieza (Goosen et al., 2004).

Tabla 2. Principales parámetros condicionantes del ensuciamiento en las membranas.

Parámetros	Disminuye el ensuciamiento si:	Referencia bibliográfica
Hidrofilidad	Aumenta	Kabsch-Korbutowicz et al, 1999; Schäfer et al., 2002; Zou et al., 2011
Rugosidad	Controversia	Rana y Matsuura et al., 2010
Ángulo de contacto	Disminuye	Sarkar et al., 2010
Isoporosidad	Aumenta	Goordon, 2006
Carga de la superficie	Superficie cargada positivamente reduce el ensuciamiento de compuestos con cargas positivas	Ulbricht et al., 1998 Kato et al., 1995
	Superficie cargada negativamente y neutras reduce el ensuciamiento de materia orgánica	Tu et al., 2001 Lee et al., 2011
Polarización	Disminuye	Muñoz, 2010
Potencial de adhesión	Disminuye	Mi y Elimelech, 2010
pH	Depende del punto isoeléctrico de los solutos y la membrana pH bajos evitan ensuciamiento por incrustación de sales pH >5 evitan ensuciamiento de proteínas y ácidos orgánicos	Bellona y Drewes 2005; Bacchin et al., 2006 Schäfer et al., 2004; Al-Amoudi y Lovitt, 2007 Lee et al., 2006; Susanto et al., 2008
Temperatura	Ensuciamiento reversible es más significativo a bajas temperatura Ensuciamiento irreversible se desarrolla más rápidamente con temperaturas mayores Alta temperatura aumenta la solubilidad de contaminantes inorgánicos disminuyendo su deposición	Lyko et al., 2008 Carey y Sundberg, 2000
Flujo	Flojo menor que el flujo crítico	Goosen et al 2004; Drews, A., 2010

5.3. LIMPIEZA DE MEMBRANAS

5.3.1. CONCEPTO

La limpieza de membranas es el proceso a través del cual se eliminan sustancias ajenas a su estructura (contaminantes) y que minimizan el rendimiento del sistema (Trägårdh, 1989). La vida de las membranas y su resistencia química está asociada al ensuciamiento producido en el proceso. A pesar del desarrollo de membranas antiensuciamiento y la mejoras de las estrategias de control el ensuciamiento es algo inevitable, por lo que una de las pocas soluciones al respecto es su limpieza (Goosen et al., 2004; Ang et al., 2011). La elección de los productos y el procedimiento de limpieza más adecuado vendrá determinado por el tipo de ensuciamiento presente, los materiales constituyentes de la membrana, las condiciones de operación, el consumo de energía, los agentes de limpieza, el rendimiento del permeado y sobre todo el impacto medioambiental (Lee et al., 2001; Van der Bruggen et al., 2008). Aunque la mayor parte de los síntomas del ensuciamiento no son siempre detectables directamente, sí es posible observarlos de forma indirecta a través de los parámetros normales de operación: diferencia de presión, flujo del permeado y su calidad. Normalmente, cuando se observan anomalías que alteran entre 10-15% de dichos parámetros con respecto a los valores de diseño, se realiza una limpieza de las membranas (Sánchez et al., 2009).

Hoy en día, la limpieza de membranas se ha convertido por sí misma en un área de investigación (Van der Bruggen et al., 2008) aunque la bibliografía existente dedicada a los procesos de limpieza es menor que al de los fenómenos de ensuciamiento (Koltuniewicz y Drioli, 2008). El proceso de limpieza trata de recu-

perar el flujo a través de la aplicación de tratamientos físicos, químicos o la combinación de ambos; aunque es difícil alcanzar el 100% del flujo inicial y no incurrir en la selectividad de la membrana (Al-Amoudi y Lovitt, 2007). En este apartado se hace diferencia entre los tratamientos de limpieza convencionales que se usan actualmente en el mercado y los estudios de investigación. Estos últimos, por un lado tratan de innovar con tratamientos no convencionales y por otro, dada la falta de transmisión de conocimiento de las empresas dedicadas a la limpieza de membranas, tratan de comprender la composición óptima de las soluciones de limpieza y el mecanismo a seguir de dicho proceso.

5.3.2. TRATAMIENTO DE LIMPIEZA CONVENCIONAL

Las membranas deben limpiarse de forma periódica (al menos una vez al año), en función del tratamiento y el agua de trabajo. Esto supone claras ventajas para eliminar parte de la resistencia añadida a la membrana pero requiere un gasto energético y una pérdida de la producción de agua (Drew, 2010). En cualquier tipo de tratamiento hay que tener presente cuales son las condiciones establecidas por los fabricantes de membranas para no deteriorarlas o acortar su vida útil puesto que algunas combinaciones entre agente químico y la membrana son incompatibles, pudiendo deteriorar la superficie de la membrana, las propiedades de rechazo o aumentando la pérdida de caudal (Mallevalle et al., 1998). Generalmente se suele comenzar la limpieza con una solución básica empleando productos alcalinos y terminar con una solución ácida (Genesys AG7). Sin embargo son numerosos los parámetros a tener en cuenta a parte de la solución química. El pH, la temperatura y presión de opera-

ción, el tiempo de limpieza, la frecuencia, la concentración de reactivos y la velocidad del flujo han sido considerados en numerosas investigaciones (Chen et al., 2003; Al-Amoudi y Lovitt, 2007) siendo el primero el más determinante (Lee et al., 2001).

Es frecuente emplear tratamientos físicos tales como lavados directos, retrolavados con gases y agua, burbujeo, vibración y sonicación (Schäfer, 2004), aunque la técnica más extendida de limpieza es el tratamiento químico de la superficie de las membranas (Tabla 3). En general, existen cinco categorías comunes dentro de los agentes químicos de limpieza: alcalinos, ácidos, quelantes, surfactantes y enzimas (Mohammadi, 2003; Al-Amoudi y Lovitt 2007). Las soluciones alcalinas con su elevado pH

umentan las cargas negativas de la materia orgánica y su solubilidad en el agua, eliminando así los contaminantes orgánicos mediante reacciones de hidrólisis y solubilización (Hong y Elimelech, 1997). Los agentes quelantes eliminan los cationes divalentes unidos a las moléculas orgánicas debilitando su estructura. Por ello, normalmente se emplean de forma conjunta (Genesys AG7). Los surfactantes son moléculas que solubilizan macromoléculas a través de la formación de micelas a su alrededor (Hydranautics, 2010). Los agentes de limpieza enzimáticos desestabilizan las proteínas adheridas a la superficie de la membrana a través de enlaces peptídicos específicos en los puntos activos (Li y Chen, 2010).

Tabla 3. Resumen del tipo de ensuciamiento en membranas de filtración de soluciones acuosas y posibles productos de limpieza.

ENSUCIAMIENTO ORGÁNICO

	Identificación	Compuestos de limpieza	Productos comerciales
CaCO ₃ MgCO ₃	<ul style="list-style-type: none"> Disminuye el flujo. Aumento ligero del paso de sales. Se controla la presión diferencial en función del tiempo. 	<ul style="list-style-type: none"> Relativamente sencilla mediante el uso de un ácido fuerte. De no realizarse la limpieza la incrustación originará un aumento en el paso de sales irre recuperable. Ácido clorhídrico, ácido sulfámico, ácido cítrico, ácido cítrico, ácido fosfórico, hidróxido de amonio, EDTA, (Trägårdh, 1989; Sánchez et al., 2009). Prevención con análisis del índice de Langelier. 	<p>Genesol 37 y 38 Kochkeleen L-02 AM-11-25 Hydranautics Sol. 1 y 4</p>
CaSO ₄ BaSO ₄ CaF ₂	<ul style="list-style-type: none"> La formación de incrustaciones tiene lugar en el extremo final de las cajas de presión en el sentido del flujo. Se previene con el uso de antiescalantes en el pretratamiento. 	<ul style="list-style-type: none"> Es mucho más difícil de eliminar que los carbonatos. Son insolubles en muchas soluciones de limpieza (Hydranautics, 2010). Ácido clorhídrico, hidróxido de sodio, bisulfito de sodio, hidróxido de amonio, ácido fosfórico, ácido sulfúrico (Trägårdh, 1989; Al-Amoudi y Lovitt, 2007; Genesys AG7). Tripolifosfato de sodio (Hydranautics, 2010). 	<p>Genesol 50, 34 y 703 Kochkeleen L-02 Versene 100 y 220 Hydranautics Sol. 1 y 4</p>
CaPO ₄	<ul style="list-style-type: none"> Comprobación del índice de atascamiento (SDI) en el rechazo. 	<ul style="list-style-type: none"> Muy común en aguas residuales. Surfactantes y soluciones ácidas (Hydranautics, 2010). 	<p>Genesol 37 y 38</p>
Hidróxidos de hierro, aluminio y magnesio	<ul style="list-style-type: none"> Complejos metálicos tienen lugar en las primeras etapas y generan una mayor caída de presión entre la carga y el concentrado que en el resto de casos descritos. El incremento del paso de sales también es más acusado que en el resto. 	<ul style="list-style-type: none"> El pH de la limpieza dependerá del hidróxido a limpiar (Darton, 2004). Evitar introducir sales de hierro y aluminio en los tratamientos de coagulación/floculación (Chester et al., 2010). Ácido clorhídrico y sulfúrico (Trägårdh, 1989). Ácido débil (ácido cítrico) junto con un surfactante no iónico (Porcelli y Judd, 2010). Bisulfito de sodio (Hydranautics, 2010). 	<p>Genesol 37 y 38 Genesol 34 y 36 Kochkeleen L-02 Hydranautics Sol. 1 y 5</p>
Óxidos metálicos		<ul style="list-style-type: none"> Agentes quelantes, EDTA (dispersa los metales pesados). Bisulfito de sodio, ácido cítrico, EDTA, hidróxido de amonio (Al-Amoudi y Lovitt, 2007). 	<p>Ultrasil-10 Genesol 38 Kochkeleen UC-III</p>
Sílice		<ul style="list-style-type: none"> Eliminar en el pretratamiento. Bifluoruro de amonio. Daña a algunas membranas. Sustancias quelantes y sustancias con gran alcalinidad (Sánchez et al., 2009). Hidróxido de sodio, ácido cítrico, hidróxido de amonio (Al-Amoudi y Lovitt, 2007). 	<p>Genesol 34, 40</p>
Coloides inorgánicos	<ul style="list-style-type: none"> Reducción importante del flujo Aumento ligero del paso de sales Incremento gradual de la caída de presión. Comprobación del índice de atascamiento (SDI) en el rechazo 	<ul style="list-style-type: none"> Promover la estabilidad coloidal (Yiantsios y Karabelas, 1998). Hidróxido de sodio, dodecilsulfato de sodio, bisulfito de sodio, EDTA, ácido cítrico y ácido fosfórico y clorhídrico (Sánchez et al., 2009) 	<p>Genesol 38 y 40 Hydranautics Sol. 1, 4, 6</p>
Arcilla	<ul style="list-style-type: none"> Preferentemente se desarrolla en las primeras membranas. 	<ul style="list-style-type: none"> NaOH (Hydranautics, 2010). También surfactantes, quelantes alcalinos. 	<p>Genesol 703 Kochkeleen P-10 AM-99 Hydranautics Sol. 1, 4, 6</p>



Tabla 3 (continuación). Resumen del tipo de ensuciamiento en membranas de filtración de soluciones acuosas y posibles productos de limpieza.

INCRUSTACIONES ORGÁNICAS

	Identificación*	Compuestos de limpieza	Productos comerciales
Ácidos húmicos	<ul style="list-style-type: none"> Reducción importante del caudal de permeado. 	<ul style="list-style-type: none"> El empleo de hidróxido de sodio disuelve los ácidos orgánicos (Hong y Elimelech, 1997). 	Kochkeleen 630
Ensuciamiento orgánico	<ul style="list-style-type: none"> Reducción moderada del paso de sales. Incremento gradual de la caída de presión entre la carga y el concentrado. En general, se localiza en cualquier membrana. Coloides orgánicos se localizan en las primeras etapas. 	<ul style="list-style-type: none"> Agentes alcalinos, surfactantes y quelantes (Ang et al., 2011). Hidróxido de sodio, Tripolifosfato de sodio, EDTA, Na-dodecylbenzeno sulfonado, dodecilsulfato de sodio, EDTA, dodecil benzeno sulfonado de sodio (Al-Amoudi y Lovitt, 2007; Hydranautics, 2010). Agentes como peróxido de hidrogeno e hipoclorito de sodio se emplean en membranas tolerantes (Porcelli y Judd, 2010). Se suelen emplear de forma conjunta a los agentes alcalinos (Hong y Elimelech, 1997). 	Gensol 34, 36, 40 Kochkeleen UC-III Adiclean 101 y 102 Versene100 y 220 Hydranautics Sol. 2, 3, 6 A-40, A-20
Bioensuciamiento	<ul style="list-style-type: none"> Al inicio de la de la membrana, presencia de baba gelatinosa. Se detecta controlando % rechazo de sales en función del tiempo. Se previene con biocidas en el pretratamiento y con la eliminación de nutrientes. 	<ul style="list-style-type: none"> Generalmente limpieza ácida y alcalina. EDTA inhibidor de biofilm. También dificulta el desarrollo de enzimas (Trägårdh, 1989). Rápidos agentes biocidas, quelantes alcalinos, surfactantes, ácido cítrico, agentes alcalinos y enzimas (Porcelli y Judd, 2010). Fosfato trisódico (Sánchez et al., 2009). Hidróxido de sodio, dodecilsulfato de sodio, EDTA (Sánchez et al., 2009). Clorina y formalin (Al-Amoudi y Lovitt, 2007). 	Genesol 40 y 703 AM-55 Hydranautics Sol. 2, 3, 6 A-40, A-20 Productos enzimáticos Memprotech-A100 Ultrasil 67 y 69 E-70

* Las indicaciones descritas en el apartado de identificación han sido tomadas de las siguientes fuentes: (Sánchez et al., 2009 e Hydranautics, 2010). Los productos de Genesol son de la empresa Genesys International y son creados para membranas de ósmosis inversa. Productos AM pertenecen a la empresa Applied Membrane INC, MEMPROTECH-A100 pertenece a la empresa Wessex Chemical Factors, Kochkleen son de la empresa Koch Membrane System, Ultrasil pertenece a la empresa Ecolab, Versene es producto de Dow Chemical; A-20, A-40 y E-70 son productos de Iberlact. Al-Amoudi y Lovitt recogen en una tabla las concentraciones de los compuestos de limpieza de varias casas comerciales (Al-Amoudi y Lovitt, 2007).

5.3.3. INVESTIGACIÓN EN TRATAMIENTOS DE LIMPIEZA

Los productos comerciales de limpieza son fórmulas que contienen una mezcla de sustancias alcalinas, ácidos, quelantes, surfactantes y enzimas. Debido a los intereses empresariales la composición exacta de los agentes de limpieza, así como de los materiales y propiedades características de las membranas es desconocida (Porcelli et al., 2010). Muchas investigaciones se realizan en base a prueba y error (Trägårdh, 1989) y es difícil encontrar una metodología desarrollada para la limpieza de los distintos tipos de membranas (Chen et al., 2003).

Es por ello que las investigaciones en el ámbito de la limpieza de la superficie de las membranas deterioradas están enfocadas en tres grandes bloques: la mejora de tratamientos físicos, optimización de procesos químicos y la combinación de distintos tratamientos tanto físicos como químicos.

5.3.3.1. Limpieza física

Los agentes químicos de limpieza perjudican la selectividad de la membrana, acortan su vida útil y producen una corriente de concentrado contaminada (Van der Bruggen et al., 2008). Los tratamientos físicos, generalmente basados en fuerzas mecánicas para la eliminación de contaminantes (Chen et al., 2003), son parte de nuevas propuestas y alternativas que permitan una limpieza sin una alteración química estructural de las superficie de las membrana (Mi y Elimelech, 2010).

A) SONICACIÓN

El empleo de sonicación es una técnica relativamente joven, aunque los ultrasonidos hayan sido ampliamente utilizados en las autopsias de membranas para la eliminación de depósitos sobre su superficie (Lim y Bai, 2003). La sonicación es efectiva si se alcanza la energía suficiente para provocar la ruptura de los enlaces entre las sustancias que componen el ensuciamiento y la superficie de la membrana (Mallevalle et al., 1998). Lim y Bai en la Universidad Nacional de Singapur investigaron la viabilidad del empleo de diferentes tiempos de sonicación como método de limpieza de membranas de fibra hueca usadas en microfiltración para el tratamiento de fangos activados de agua residual en un birreactor. La efectividad de la eliminación de la biocapa fue dependiente a la intensidad del ultrasonido empleada, la frecuencia de limpieza y la distancia al transductor de ultrasonido (Lim y Bai, 2003). Sin embargo, la sonicación se evidencia como una técnica de limpieza no efectiva para todos los tipos de ensuciamientos, especialmente para la eliminación de compuestos localizados en el interior de los poros. No obstante, aconsejan su uso para ensuciamientos causados principalmente por formación de torta o combinado con otro tipo de técnicas de limpieza.

B) BURBUJEO DE AIRE

Zhang y colaboradores revelaron en 2009 que el empleo de gas revolucionará las técnicas de limpieza de membranas ya que



las burbujas aumentan globalmente la turbulencia y la fuerza de ruptura entre el ensuciamiento y la superficie de la membrana (Zhang et al., 2009). Existen algunos ejemplos anteriores a esta publicación que evidencian el uso de burbujas de aire como método complementario para mejorar la eficiencia de los procesos de limpieza (Cui et al., 2003). Serra y otros investigadores, evaluaron el uso de burbujas de aire para mejorar la eficiencia en el retrolavado en membranas de fibra hueca. La eficacia del desprendimiento de la capa de la torta formada en la filtración frontal de suspensiones de la bentonita se mejoró en gran medida por burbujeo de aire en el lado de la alimentación, lo que llevó a una reducción del 70% del tiempo de lavado (Serra et al. 1999). Existen también experiencias en sistemas de membranas tubulares de ultrafiltración empleadas con flujo frontal para el tratamiento de una corriente con elevada turbidez. La técnica *airflush* supone una intermitencia de enjuagues de dos fases (líquido-gas) para disgregar y eliminar la torta. Se obtuvieron mejores resultados de limpieza que el tratamiento con una sola fase (líquido) (Verbeck et al., 2001).

C) FILTRACIÓN DE FLUJO VARIABLE

Cada vez que se restablece una nueva filtración tras una operación de retrolavado se genera una nueva capa de depósitos cuya estructura depende de las condiciones hidrodinámicas cercanas a la membrana (Drews, A., 2010).

Con objeto de proteger la membrana de las partículas finas, coloides o polímeros a través de los cuales se aumenta notablemente la resistencia hidráulica, Wu y colaboradores proponen un modo nuevo de filtración con un flujo elevado instantáneo ($60 \text{ l/m}^2 \text{ h}$) durante un corto tiempo (1-2 min) seguido de un flujo bajo. Su objetivo es favorecer la creación de una capa con partículas gruesas (ensuciamiento reversible) minimizando con ello la deposición de las partículas finas que son causantes de gran parte del ensuciamiento irreversible (Wu et al., 2010). Esta técnica fue empleada para biorreactores de membrana. Susanto y otros llegaron a conclusiones similares en su análisis de adsorción de polímeros sobre membranas de ultrafiltración. Estos advierten que flujos demasiado bajos favorecen la formación de capas de ensuciamiento resistentes formadas por componentes pequeños (Susanto et al. 2008).

5.3.3.2. Limpieza química

A) LIMPIEZA QUÍMICA

A pesar de que compuestos básicos (NaOH), ácidos (HCl, H_2SO_4 , HNO_3), agentes quelantes (EDTA) y surfactantes aniónicos (SDS) son comúnmente empleados en los productos industriales (Tabla 3) no están exentos de ser estudiados con objeto de comprender los mecanismos de limpieza que permitan optimizar los tratamientos comerciales.

Madaeni y Samieirad estudiaron el ensuciamiento orgánico e inorgánico provocado por el tratamiento de aguas residuales con membranas de ósmosis inversa. Este principalmente tuvo lugar mediante la formación de torta en la superficie de la membrana. El proceso de limpieza llevado a cabo fue a través de compuestos convencionales, controlando factores físicos tales como la velocidad, la temperatura y el tiempo de limpieza. El uso de NaOH, y SDS seguido de HCl, produjo una alta regeneración de

la membrana (Madaeni y Samieirad, 2010). En la Universidad de Yale (EE.UU.) han concluido recientemente un estudio sobre el impacto de dichos productos junto con una solución salina concentrada (NaCl), el pH, el tiempo de contacto y la eficiencia de los procesos de limpieza sobre membranas de ósmosis inversa deterioradas por ensuciamiento orgánico. Del estudio se ha concluido que el empleo exclusivo de NaOH no es suficiente para regenerar la membrana de los complejos formados entre la materia orgánica y el calcio. Sin embargo, el empleo de EDTA, SDS y NaCl son efectivos si se acompañan con largos tiempos de contacto y pH altamente básicos (Ang et al., 2011).

B) LIMPIEZA DEL BIOENSUCIAMIENTO

Más allá de eliminar la biocapa se puede optimizar la limpieza si se disminuye la resistencia hidráulica y se aumenta la permeabilidad de la membrana (Flemming et al., 1997). Flemming y colaboradores estudiaron cómo ciertos agentes químicos (detergentes) podían ser usados para modificar las propiedades de las sustancias poliméricas extracelulares e incrementar la permeabilidad de la biopelícula (Flemming et al. 1997). Recientemente Xu y Liu han estudiado el efecto de d-tirosina sobre el bioensuciamiento sobre membranas de nylon de microfiltración obteniendo resultados prometedores que advierten el potencial de los aminoácidos como productos de control y limpieza del bioensuciamiento. Observaron que la d-tirosina inhibe la producción de compuestos extracelulares de los microorganismos alojados sobre la superficie de la membrana, reduce el anclaje de más colonias y promueve la eliminación de la biopelícula (Xu y Liu, 2011).

C) LIMPIEZA QUÍMICA CON COMPUESTOS ALTERNATIVOS

La energía eléctrica, la mano de obra y los agentes químicos constituyen cerca del 87% del coste total de procesos de ósmosis inversa (Lee et al. 2011). El desarrollo de materiales, agentes de limpieza de precio reducido y el empleo de energía alternativa podrían ayudar a que la tecnología de membranas sea viable en zonas vulnerables a la escasez de agua, sin acceso a estructuras de distribución y saneamiento, ni grandes medios económicos que puedan costear la actual tecnología.

El diseño y aplicación de plantas autónomas y portátiles de filtración mediante membranas (UF, NF y OI) que emplean energía solar para satisfacer la demanda energética del sistema, ya es un hecho (De Munari et al., 2009). Estos equipos permiten alcanzar un agua de calidad apta para consumo humano y continúan despertando interés entre la comunidad científica (Blanco et al., 2009). Sin embargo, a día de hoy no se han descubierto agentes de limpieza eficientes, de bajo coste y fácilmente gestionables que faciliten el aprovechamiento de esta tecnología y garantice la sostenibilidad de las plantas implantadas en países sin recursos. Por tanto, la investigación en una nueva gama de productos químicos alternativos a los convencionales será necesaria y es planteada como un reto por investigadores que apuestan por esta tecnología (Schäfer et al., 2005).

5.3.3.3. Combinación de distintas técnicas

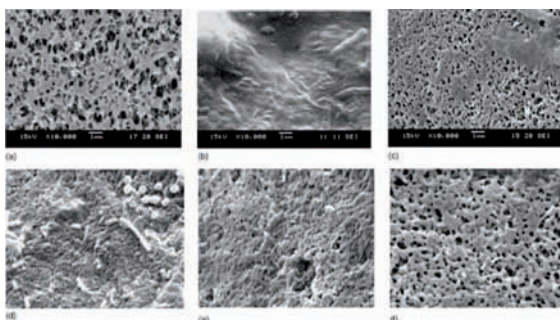
La combinación de métodos parece ser el procedimiento más efectivo para la limpieza de membranas (Sánchez et al., 2009). Lim y Bai evaluaron la eficiencia de la limpieza de membranas



de microfiltración deterioradas por bioensuciamiento mediante métodos individuales o combinados (limpieza química seguida de una sonicación y tras este un retrolavado). En este estudio se logró una recuperación del flujo del permeado hasta un 95,7% frente a un 24,7%, 60,8% y 76,8% conseguido de forma individual mediante retrolavado, sonicación y tratamiento químico respectivamente (Lim y Bai, 2003).

El empleo de reactivos químicos interfiere en la fuerza de adhesión de los enlaces entre la biopelícula y la superficie y los poros de la membrana. La sonicación fragmenta y arranca la biopelícula y la recirculación de agua desionizada (retrolavado) mejora la eliminación de la torta en la superficie (Lim y Bai, 2003). En las imágenes de SEM (Figura 7) se puede ver como quedó la superficie de la membrana después de ser sometida con los distintos tratamientos. También se han realizado estudios similares que tratan de optimizar la eficiencia de estos métodos para la eliminación de materia orgánica procedente del tratamiento de leche en membranas de ultrafiltración industriales, concluyendo que bajas frecuencias de ultrasonidos combinadas con agentes quelantes (EDTA) a pH básicos (11) puede ser una solución efectiva (Maskooki, 2010).

Figura 7. Imágenes SEM de una membrana de microfiltración sin usar (a), la misma sucia (b) y tras la limpieza a través de: c) sonicación, d) agentes químicos, e) retrolavado con agua desionizada, f) combinación de tratamientos.



Fuente: Lim y Bai, 2003.

Mi y Elimelech estudiaron la efectividad de eliminación de alginato en membranas de poliamida de ósmosis inversa, aplicando un flujo tangencial de distintas soluciones: agua desionizada, agua desionizada con cloruro sódico y agua desionizada con burbujas de aire. El tratamiento más efectivo fue el empleo de una velocidad de flujo de 21 cm/s de agua desionizada con burbujas de aire, pues bastaron 5 minutos de aplicación para obtener idénticos resultados que los observados en las otras técnicas (8,5 cm/s de NaCl 50mM durante 24 horas, 21 cm/s de NaCl 50 mM durante 15 minutos y 21 cm/s de agua desionizada durante 15 minutos) (Mi y Elimelech, 2010). Tras la evaluación de 5 tratamientos físicos aplicados sobre membranas planas de microfiltración, la combinación de retrolavados y burbujeo de gases fue el tratamiento que mejores resultados ofreció para la limpieza del ensuciamiento causado por una levadura comercial, llegando a recuperar hasta un 80% el flujo permeado de la membrana (Qaisrani y Samhaber, 2011).

5.4. MODIFICACIÓN DE LA SUPERFICIE DE MEMBRANAS

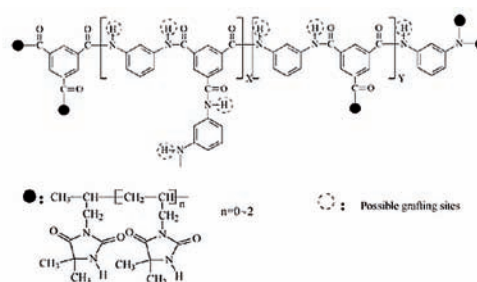
5.4.1. CONCEPTO

La modificación de la superficie de las membranas es potencialmente la solución más sostenible para mejorar sus características intrínsecas (Van der Bruggen et al., 2008). La mayoría de los estudios de modificación se centran en mejorar la técnica de filtración sin provocar notables cambios estructurales (Van der Bruggen et al., 2008, Lee et al., 2011). Así, es fácil encontrar bibliografía relacionada con la mejora de las características hidrofílicas de la superficie selectiva con el fin de aumentar la permeabilidad del flujo de agua y la resistencia al ensuciamiento (Louie et al., 2006; Li-Jun et al., 2009; Van Wagner et al., 2011). Sin embargo, también existen trabajos que tienen por objeto aumentar la eficiencia de los procesos de limpieza (Yu et al., 2011), favorecer la resistencia a compuestos clorados (Kwon, 2005; Tang et al., 2007), el aumento del tamaño de la estructura porosa (Santoso et al., 2003; Albercht et al., 2007) y la incorporación de características biocidas (Kwak et al., 2001; Kim et al., 2003; Wei et al., 2010-a, b).

Existen varias técnicas para la modificación de membranas tales como radiación, métodos con ozono, inducción térmica, redox, polimerización radical, y polimerización por plasma inducido (Lee et al., 2011). En este documento solamente se describirán casos de modificación de la superficie activa de membranas a través de procesos de polimerización. Esencialmente, este último, consiste en aprovechar la reactividad de los grupos que constituyen la capa activa (amino y carboxílicos en el caso de la poliamida) para anclar polímeros hidrofílicos que mejoran las características de la membrana (Wei et al., 2010-b). Sin embargo, en muchos casos se ha detectado que los agentes modificadores cubren bastante la superficie e incluso se insertan en los poros (reduciendo su tamaño), provocando un efecto negativo importante: la reducción del flujo permeado del agua (Li y Wen, 2009; McCloskey et al., 2010; Wu et al., 2010; Meng et al., 2011; Van Wagner et al., 2011).

En la Figura 8 se puede observar la estructura química de la poliamida después de su polimerización con 3-alil-5,5-dimetil hidantoina (ADMH) (Wei et al., 2010-b). Las circunferencias con líneas punteadas indican los posibles sitios activos hidrofílicos para nuevas interacciones.

Figura 8. Posible esquema de la estructura química de la poliamida aromática después de la polimerización con ADMH



Fuente: Wei et al., 2010-b.

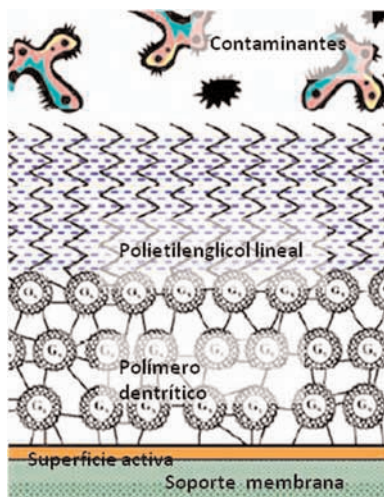


Como se ha comentado con anterioridad, la tecnología de las membranas está muy consolidada en el mercado y por ello, la posibilidad de introducir cambios que mejoren sus propiedades características así como la eficacia de los procesos de filtración, requieren una larga trayectoria de investigación. En este sentido, se presentan algunas de las líneas actuales relacionadas con la modificación de la superficie activa de membranas de filtración, principalmente de membranas de ósmosis inversa modificadas a través de procesos de polimerización. Dicha información queda resumida en la Tabla 4.

5.4.2. MODIFICACIÓN DE LA SUPERFICIE DE LA MEMBRANA PARA MEJORAR LA RESISTENCIA AL ENSUCIAMIENTO

Li y Wen en 2009 presentaron un exitoso trabajo donde consiguieron aumentar la hidrofiliidad de una membrana de poliétersulfona (PES) de microfiltración mediante la modificación de su superficie, a través de un proceso sencillo de *crosslinking* por inducción térmica de dos monómeros: polietilenglicol diacrilato (PEDGA) como principal agente modificador y trimetilolpropano trimetilacrilato (TMPTMA) como catalizador de la reacción. La membrana se introdujo completamente en una solución mezcla de ambos polímeros durante 30 minutos para que los poros de la poliétersulfona absorbieran el PEDGA. Tras ese tiempo se trasladó la membrana a una cámara de aire a 70°C, temperatura a la cual se lleva a cabo el proceso de *crosslinking*, formando una capa hidrofílica de PEDGA que aumenta el peso de la membrana. Cuanto mayor peso presente la membrana por la incorporación de polímero, mejor habrá sido la absorción y más gruesa será la capa de PEGDA. Se detectó que es importante mantener un equilibrio entre la concentración de monómero y el tamaño del nuevo poro que se quiera obtener, pues al aumentar la masa de PEGDA disminuye tanto el tamaño como el número de poros de la membrana lo cual afectará directamente al flujo del permeado. Por otra parte, la cantidad de monómero afecta a las condiciones de antiensuciamiento, siendo mayores cuanto mayor cantidad de monómero sea incluida en la membrana (Li y Wen, 2009).

Figura 9. Esquema de una membrana modificada con polímeros dendrímeros.



Adaptación de Sarkar et al., 2010.

El método de la síntesis de dendrímeros, polímeros que poseen una arquitectura tridimensional hiperramificada y nanoestructurada, se presenta como una técnica emergente para reducir el ensuciamiento de la superficie de membranas. La síntesis de estos polímeros puede ser controlada con precisión, lo que confiere a los mismos propiedades únicas dependiendo del tipo de núcleo, grupos funcionales, tamaño, número y longitud de las ramas. Sarkar y colaboradores han estudiado recientemente el anclaje de poliamidoamina y poliamidoamina polietilenglicol. Como resultados obtuvieron la reducción del ángulo de contacto de la superficie de la membrana sin afectar al rechazo de sales aunque se redujo suavemente el flujo de permeado (Sarkar et al., 2010). Un esquema del producto final de la modificación se presenta en la Figura 9. Se observa la membrana (soporte y superficie activa) y sobre ella un baño de polímero dendrítico altamente hidrofílico al que se anclan ramas lineales de polietilenglicol. Esta representación no está a escala, siendo el grosor añadido a la superficie activa de la membrana menor del 5% del sustrato de la membrana.

El empleo de nuevos polímeros como la polidopamina (PDA) también se ha utilizado como agente modificador de superficies de membranas de filtración. McCloskey y colaboradores, publicaron en 2010 un trabajo basado en la modificación de membranas de poliamida (ósmosis inversa), polisulfona (ultrafiltración) y fluoruro de polivinilideno (microfiltración) a través de reacciones de polimerización entre estos compuestos y copolímeros de polidopamina y polietilenglicol con grupos amino terminales. Obtuvieron que a pesar del aumento de la hidrofiliidad de la superficie de las membranas, el flujo de permeado se vio disminuido tanto más cuanto menor es el tamaño de poro, detectando la mayor reducción en membranas densas de ósmosis inversa (McCloskey et al., 2010).

Recientemente Van Wagner y colaboradores han experimentado con monómeros comerciales de polietilenglicol diglicidil éter (PEGDE) a fin de mejorar la resistencia al ensuciamiento de surfactantes cargados; SDS (Dodecil sulfato de sodio), DTAB (dodeciltrimetilamonio de bromo) y emulsiones de n-decano, en membranas comerciales de poliamida de ósmosis inversa y nanofiltración. En este caso se puso en contacto solamente la superficie activa de poliamida con una solución de PEGDE y agua desionizada a 40°C evitando el contacto con el soporte poroso a fin de evitar la retención de PEGDE (tanto adsorbido como absorbido). Pasados 10 minutos la membrana fue lavada con una disolución de agua desionizada e isopropanol al 25% y finalmente solo con agua desionizada. Tras la modificación de la superficie de la membrana el flujo del permeado disminuyó pero se mejoró el rechazo de sales (NaCl) y la resistencia al ensuciamiento de las sustancias anteriormente citadas. En parte esta resistencia es atribuida a los impedimentos estéricos generados por las moléculas de PEGDE enlazadas en la poliamida, que mantienen a los componentes de la disolución a tratar afines a la superficie de la membrana más alejados que en la membrana sin modificar (Van Wagner et al., 2011).

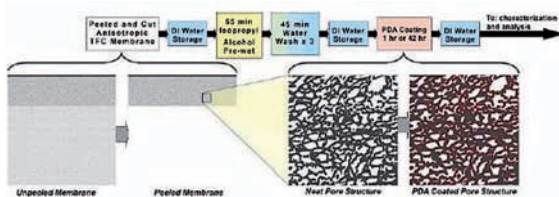
5.4.3. MODIFICACIÓN DEL SOPORTE DE LA MEMBRANA PARA MEJORAR EL FLUJO DE PERMEADO

Las membranas comerciales de TFC (Thin Film Composite) empleadas en ósmosis inversa son altamente selectivas y permeables (Cadotte et al., 1980; Petersen, 1993). Sin embargo, presentan cierta resistencia al flujo del agua ocasionados por la polisulfona y



el poliéster no tejido sobre los que se soportan (ver capítulos 5.1 y 5.2.3). Ante esta evidencia, el equipo de Benny D. Freeman estudió la modificación del soporte de polisulfona de una membrana comercial de ósmosis inversa (TFC) mediante un baño por inmersión en una solución de polidopamina (PDA). A diferencia de los casos explicados anteriormente, se tomó una superficie de la membrana comercial y se eliminó el poliéster no tejido. Se sometió solamente a la polidopamina la cara del soporte que no está cubierta del material selectivo. El esquema de preparación y modificación del soporte de polisulfona se muestra en la Figura 10. Los resultados fueron prometedores pues al contrario que en la mayoría de las modificaciones de las superficie de membranas revisadas en el presente trabajo, este equipo ha conseguido además de aumentar la hidrofiliidad de la superficie, incrementar entre 8 y 15 veces el flujo específico bajo condiciones de análisis comparables con membranas no modificadas, sin que con ello se alterara la selectividad de la membrana (Arena et al., 2011).

Figura 10. Esquema de preparación y modificación por baño selectivo de PDA de una membrana comercial de ósmosis inversa



Fuente Arena et al., 2011.

El éxito de estos resultados se atribuye a que la hidrofiliidad del soporte de la membrana es crítico para el flujo de agua durante la ósmosis. Aumentando las características hidrofílicas del soporte el transporte de agua desde la capa de poliamida es más favorable, quizá porque encuentre menos superficie de resistencia energética que normalmente está asociada al soporte de polisulfona no modificado y por tanto, sea posible acceder a los poros de la capa del soporte que previamente eran inaccesibles. Como consecuencia se obtiene un aumento del flujo del agua en contacto con la membrana. Sin embargo, se observó un caso contrario cuando se modificó uno de los soportes estudiados (SW30-XLE), donde la inserción de PDA en la polisulfona probablemente modificó la estructura de los poros del soporte aumentando su tortuosidad o afectando su interconexión. En este caso, se redujo el flujo de permeado (Arena et al., 2011).

5.4.4. MODIFICACIÓN DE LA SUPERFICIE DE LA MEMBRANA PARA CONFERIR RESISTENCIA A LA CLORINA Y CAPACIDAD BIOCIDA

Una práctica habitual para prevenir el ensuciamiento en las membranas es tratar el influente con clorina durante la etapa de pretratamiento (Baker y Dudley, 1998). Con el fin de evitar el deterioro de las membranas de poliamida, Wei y colaboradores, consiguieron por primera vez conferir a este tipo de membranas de ósmosis inversa características biocidas y resistencia a la clorina de forma simultánea a través de polimerización con compuestos derivados del 3-monometilol-5,5-dimetil hidanto-

ína (MDM Hidantoína) (Wei et al., 2010-a). Recientemente han desarrollado un nuevo método para la modificación de membranas comerciales de ósmosis inversa. Este método consiste en una polimerización a través de radicales libres entre la poliamida de la membrana y 3-alil-5,5-dimetil hidantoína (ADMH), usando 2,2'-azobis(isobutiramidina). Como resultado se obtuvo un aumento de la hidrofiliidad y del flujo de agua pero una disminución de la carga de la superficie de la membrana y del rechazo. Cuando la membrana es expuesta a la clorina, el ADMH sufre el ataque del cloro, dejando exentas las cadenas aromáticas de poliamida de una clorinación y por tanto confiriendo a la membrana una mayor resistencia ante su exposición a la clorina. Así, se considera que los grupos de ADMH clorinados adquieren características biocidas (Wei et al., 2010-b).

5.4.5. MODIFICACIÓN DE LA SUPERFICIE DE LA MEMBRANA PARA AUMENTAR EL TAMAÑO DE PORO

Como se comentó en el capítulo anterior (5.3), la limpieza de las membranas es una técnica habitual realizada cuando las membranas pierden entorno al 15% de flujo de permeado, aumenta diferencia de presión o disminuye la calidad del agua tratada (Sánchez et al., 2009). Sin embargo, todavía no existe una solución para las membranas que están absolutamente deterioradas y cuyo destino es el vertedero (Van der Bruggen et al., 2008).

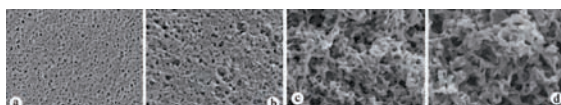
Un caso particular de la modificación de la superficie de las membranas es aquel que tiene por objeto aumentar el tamaño de poro medio de la misma con el fin de otorgar un uso diferente al ya empleado. Investigaciones han mostrado que dependiendo de la naturaleza de la sustancia de modificación, del tiempo y tipo de tratamiento, los poros del sistema de la capa activa pueden ser parcialmente abiertos durante la funcionalización de la superficie de la membrana. Así, las membranas de menor tamaño de poro y porosidad simétrica requieren mayor intensidad de tratamiento mientras que las membranas asimétricas y de mayor tamaño de poro son más fáciles de modificar. Esto implica que es posible transformar una membrana de ultrafiltración a microfiltración de un modo sencillo convirtiéndose en candidatas apropiadas para una reutilización a corto plazo como membrana de bajo coste (Santoso et al., 2003).

Esta teoría ha sido desarrollada en membranas de ultrafiltración de poliimida por un grupo de investigadores del Instituto de química y de Centro de Investigación Geesthacht GmbH (GKSS) de Teltow (Alemania) y la Universidad Técnica de Berlín (Alemania), quienes han estudiado este proceso de apertura de poros en una membrana de ultrafiltración de poliimida usando varios modificadores con alto contenido de nitrógeno amínico a través de la inmersión de la membrana en un reactor batch a 90°C en una solución del 4% (peso) de un agente modificador y 96% (peso) de agua desionizada (Santoso et al., 2003). Se realizaron ensayos de permeabilidad en celdas de ultrafiltración y se observó la morfología a través de imágenes SEM, además de calcular el tamaño de poro con los equipos porosímetro tipo 500PSI de la casa americana Porous Material Inc. y Porosímetro II de la casa inglesa Beckman & Coulter. La mayor apertura de poro se obtuvo al emplear aminas alifáticas de bajo peso molecular (DETA, MAPA) y etanolaminas (2-aminoetanol), observándose tamaños de poro característicos de las membranas de microfiltración. Además, como se observa en la Figura 11, la



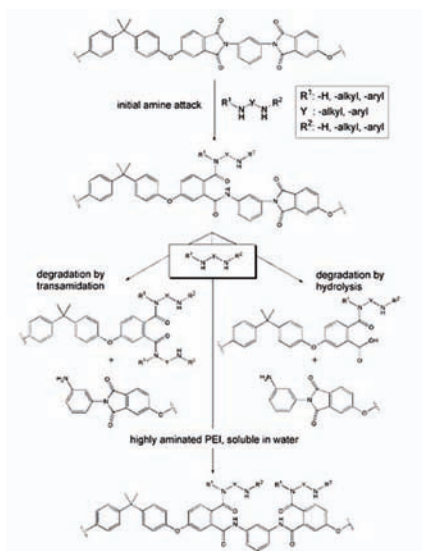
modificación fue dependiente al tiempo de interacción entre el agente modificante y la membrana (Santoso et al., 2003).

Figura 11. Imagen SEM de la superficie de una membrana de poliimida empleada en ultrafiltración expuesta a diferentes tiempos a una solución de agua desionizada con 4% en peso de DETA. a) Sin tratamiento, b) 30 min., c) 75 min., d) 90 min.



Fuente: Santoso et al., 2003.

Figura 12. Hipótesis del mecanismo de reacción (funcionalización y degradación) que conlleva una apertura del poro de una membrana de Poliimida.



Fuente: Santoso et al., 2003.

El mecanismo del proceso se basa en reacciones de sustitución nucleófilas de grupos amino que atacan al carbono funcional activo (C*) de los grupos electrofilicos de la imida. Este ataque depende fuertemente de las interacciones estéricas que presente el agente de modificación. Como resultado, el anillo del polímero principal se abre generando 2 grupos amida. Tras ello, Santoso y colaboradores proponen dos rutas posibles de degradación del polímero principal; por una lado la hidrólisis de la amida provocada por un exceso de grupos amina del agente modificador y por otro, una transaminación (Figura 12) (Santoso et al., 2003). Tras el éxito de esta investigación, en 2007 este equipo publicó un nuevo avance de la técnica del aumento del tamaño de poro que incluye una mayor funcionalización de la membrana con grupos amina (Albercht et al., 2007). En este caso, emplearon membranas de poliéterimida. La técnica consistió en dos pasos. La primera etapa estaba basada en la apertura de poros a través de la inmersión de la superficie activa de la membrana en una solución de 4% en peso de dietilentriamina (DETA), la amina alifática con la que obtuvieron mejores resultados en investigaciones anteriores (Santoso et al., 2003). En la segunda etapa, se sugiere hacer reaccionar los grupos funcionales imida de la

membrana con una poliamida con el fin de aumentar su contenido en grupos amina que confieren una mayor hidrofiliidad y resistencia al ensuciamiento orgánico. Sin embargo, esta última etapa dependiendo de la morfología de la estructura porosa de la membrana provocó la reducción del tamaño de los poros y su permeabilidad. Así, en la tipología de esponja, una segunda funcionalización reduce dichos parámetros en mayor medida que en la tipología de macrohuecos.

Más recientemente, Chinpa y colaboradores (Chinpa et al., 2010) modificaron la superficie de una membrana asimétrica de ultrafiltración compuesta por poliéterimida (PEI) a través de la interacción con compuestos de polietilenglicol en un reactor batch a 88°C y durante diferentes tiempos de reacción (0,5, 1,3 y 5 horas). En ambiente acuoso agresivo, hicieron interactuar la membrana con un copolímero de óxido de polipropileno y óxido de polietileno con grupos terminales funcionales amino (PEG-amina). El objeto de este trabajo fue aumentar la hidrofiliidad de la membrana de poliimida a través de la interacción sus grupos electrofilicos mediante reacciones de aminación (Albercht et al., 2003; Santoso et al., 2003; Albercht et al., 2007) dando lugar a grupos amida y otros enlaces covalentes con dichos grupos aminados (PEG-amina). Se observó que bastaba emplear un 2% en peso de PEG-amina y más de 3 horas para obtener resultados satisfactorios en la modificación, teniendo evidencia de que altas concentraciones (10% en peso) aumentaban el tamaño de poro. Así se constató que la concentración de compuestos de polietilenglicol aaminados es un parámetro significativo del control de la morfología de la membrana a modificar.

Cabe destacar que durante la revisión bibliográfica no se han encontrado casos de membranas de nanofiltración y ósmosis inversa en las que se emplee este tipo de técnicas u otras que permitan aumentar el tamaño de poro de la membrana selectiva. Sin embargo, existe un estudio realizado por investigadores españoles de la Universidad de las Palmas de Gran Canaria que, basándose en el concepto de la reutilización, eliminan la capa activa de membranas comerciales de ósmosis inversa usadas en procesos de desalación (entre 3 y 5 años), mediante ataque químico con soluciones oxidantes tales como peróxido de hidrógeno, hipoclorito sódico, ácido sulfúrico, hidróxido sódico y permanganato de potasio, a distintas concentraciones y con diferente procedimiento experimental: inmersión de la membrana en un baño con la solución oxidante o recirculación de la misma en la planta piloto (Rodríguez et al., 2002). Tras la identificación del agente oxidante que presentó mejor efectividad de eliminación de la capa selectiva (permanganato de potasio), se inició un estudio en una planta piloto cuyo objetivo era reutilizar las membranas comerciales modificadas químicamente (manteniendo intacta su estructura física) en el tratamiento terciario de agua residual. Al eliminar la capa activa, la membrana adquiere características porosas típicas de las membranas de microfiltración que posibilita el empleo de la misma a menores presiones que las requeridas en procesos de ósmosis inversa y, aunque se reduce la capacidad de rechazo en sales, permite obtener buenos resultados en la eliminación de sólidos en suspensión (Veza y Rodríguez, 2003). Uno de los problemas detectados fue que al trabajar con el soporte de la membrana, normalmente de características hidrofóbicas, se prevé un rápido ensuciamiento orgánico de las membranas modificadas. Para remediar esto, el equipo de investigación realizó procesos continuos de limpieza: Flushing y limpieza química con detergentes alcalinos (Veza y Rodríguez, 2003).



Tabla 4. Referencias de algunos monómeros hidrofílicos utilizados para la modificación de membranas de filtración

MODIFICACIÓN DE LA SUPERFICIE PARA AUMENTAR SU TAMAÑO DE PORO

Monómeros Hidrofílicos	Características	Referencia bibliográfica
Aminas alifáticas: DETA, MAPA	Reacciones nucleófilas para la apertura de poro de membranas de poliimida.	Santos et al., 2003
2-aminoetanol (AEOH)	Reacciones nucleófilas para la apertura de poro de membranas de poliimida.	Santos et al., 2003
Dietilenetriamina (DETA)	Reacciones nucleófilas para la apertura de poro de membranas de poliéterimida.	Albercht et al., 2007
Óxido de polipropileno y óxido de polietileno con grupos amino terminales	Reacciones nucleófilas para la apertura de poro de membranas de poliimida a través de la interacción sus grupos electrofílicos mediante reacciones de aminación. Concentración de PEG-amina es un parámetro significativo del control de la morfología de la membrana a modificar.	Chinpa et al., 2010

MODIFICACIÓN DE LA SUPERFICIE PARA AUMENTAR LA RESISTENCIA AL ENSUCIAMIENTO

Monómeros Hidrofílicos	Características	Referencia bibliográfica
Poli(etil)enimina (PEI)	Aumenta la hidrofiliidad de la membrana de poliamida, aumenta la resistencia al ensuciamiento de contaminantes catiónicos.	Zhou et al., 2011
Poliéter-poliamida	Copolímero usado para disminuir la rugosidad y aumentar la neutralidad e hidrofiliidad de la membrana de poliamida. Aumenta la resistencia al ensuciamiento de emulsiones aceite/agua.	Louie et al., 2006
Poli(amido)amina polietilenglicol (PAMAM-PEG)	La impregnación del PAMAM-PEG puede regular la hidrofiliidad de la poliamida de membranas de ósmosis inversa, reduce el ángulo de contacto de la superficie de la membrana sin afectar al rechazo de sales pero reduce 20% el flujo de permeado.	Sarkar et al., 2010
Poli(etil)englicol diglicidil éter (PEGDE)	Monómero principal. Mejora la resistencia al ensuciamiento de surfactantes cargados (Dodecilsulfato de sodio, dodeciltrimetilamonio de bromo) y emulsiones de n-decano con estos surfactantes en membranas comerciales de poliamida de ósmosis inversa (XLE) y nanofiltración (NF90).	Van Wagner et al., 2011
Poli(etil)englicol diacrilato (PEDGA)	Monómero principal. Proceso de crosslinking por inducción térmica. Emplean monómero de trimetilptopano trimetilacrilato (TMPTMA) acelera la reacción de crosslinking. Aumenta la hidrofiliidad de la membrana de poliétersulfona por absorción de grupos de polietilenglicol diacrilato.	Li y Wen, 2009
Poli(2-(N,N dimetilamino) etilmetacrilato) (PDMAEMA), Poli(2-oligo(etilenglicol) monometil éter metacrilato) (POEGMA) y Poli(2-hidroxietil metacrilato) (PHEMA)	Monómero de AGET ATRP. Copolimerización por radicales sobre membrana de difluoruro de polivinilideno (PVDF). Aumenta la hidrofiliidad y disminuye la rugosidad. Disminuye el tamaño de poro.	Meng et al., 2011
Ácido acrílico (Aac)	Disminuyen el flujo de permeado de sales NaCl, Na ₂ SO ₄ bajo condiciones alcalinas y MgCl ₂ en condiciones ácidas. Aumenta la resistencia al ensuciamiento de proteínas (BSA) y facilita la limpieza de la membrana.	Yu et al., 2011



MODIFICACIÓN DE LA SUPERFICIE PARA AUMENTAR LA RESISTENCIA A LA CLORINA

Monómeros Hidrofilicos	Características	Referencia bibliográfica
3-monometilol-5,5-dimetil hidantoína (ADMH)	Polimerización sobre la superficie de membranas aromáticas de poliamida (OI) a través de radicales libres que usa como iniciador 2,2'-azobis(isobutiramidina). Aumenta el flujo de agua pero disminuye el rechazo de sales. Resistencia a la clorina por sacrificio de grupos de ADMH en lugar de cadenas aromáticas de poliamida. Resistencia al ensuciamiento biológico. Los grupos de ADMH clorinados adquieren características biocidas debido a la liberación de radicales libres de cloro.	Wei et al., 2010 b
Polí(N,N-dimetilaminoetil metacrilato)	Polímero resistente a la clorina que cubren los sitios activos de la poliamida dotando a la membrana de resistencia a la clorina residual del agua a tratar.	Kang et al., 2007
Polivinil alcohol (PVA)	Polímero resistente a la clorina que cubren los sitios activos de la poliamida dotando a la membrana de resistencia a la clorina residual del agua a tratar.	Kwon, 2005, Tang et al., 2007

MODIFICACIÓN DE LA SUPERFICIE PARA AUMENTAR LA RESISTENCIA AL ENSUCIAMIENTO

Monómeros Hidrofilicos	Características	Referencia bibliográfica
Polidopamida (PDA)	Polímero hidrofílico. Modificación del soporte de polisulfona de un TCF de una membrana comercial de poliamida de ósmosis inversa mediante un baño por inmersión en una solución de PDA. Aumenta la hidrofiliidad del soporte y mejoran el flujo de permeado.	Arena et al., 2011

6. CONCLUSIONES

La investigación realizada sobre el ensuciamiento, limpieza y modificación de la superficie de membranas de filtración permite extraer las siguientes conclusiones:

- Debido a que se trata de un factor irremediable, el ensuciamiento de la superficie de las membranas aun a día de hoy sigue siendo uno de los factores limitantes de la tecnología de membranas, a pesar de los esfuerzos en el control del ensuciamiento y el estudio de nuevos materiales más resistentes.
- Tanto la limpieza de membranas como la modificación de su superficie activa son campos ampliamente estudiados, sin embargo se encuentra dificultad para tener acceso público a protocolos claros y a mecanismos de limpieza que revelen los procedimientos y composiciones exactas de los productos empleados. Por ello, numerosas investigaciones se centran en la optimización de los procesos de limpieza aplicados convencionalmente en la industria.
- No se han descubierto, al menos en esta revisión bibliográfica, agentes de limpieza eficientes, de bajo coste y fácilmente gestionables que faciliten el uso de la tecnología de membranas y garantice la sostenibilidad de las plantas implantadas en comunidades sin recursos. Por tanto, se considera necesaria la investigación en una nueva gama de productos químicos alternativos a los convencionales.
- No existe una solución para las membranas que están absolutamente deterioradas y cuyo destino es el vertedero. Ante el gran consumo membranas de ósmosis inversa a nivel mundial, se propone la investigación sobre la valorización de membranas de ósmosis inversa para su reutilización en procesos

de microfiltración y ultrafiltración, que permita establecer un sistema de gestión integral del proceso de reutilización y reciclaje de las membranas usadas y minimizar el impacto ambiental de la tecnología. Se considera imprescindible tener en cuenta que para que las membranas modificadas sean competitivas con el resto, se deberá obtener un flujo, selectividad y resistencia al ensuciamiento similar a sus homólogas (ultrafiltración o microfiltración), de lo contrario no tendrán futuro en el mercado.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Al-Amoudi, A.; Lovitt, R.W. 2007. *Fouling strategies and the cleaning system of NF membranes and factors affecting cleaning efficiency, Review.* Journal of Membrane Science, 303, 4-28.
- Albrecht, W.; Santoso, F.; Lützw, K.; Weigel, T.; Schomäcker, R.; Lendlein, A. 2007. *Preparation of aminated microfiltration membranes by degradable functionalization using plain PEI membranes with various morphologies.* Journal of Membrane Science, 292, 145-147.
- Albrecht, W.; Seifert, B.; Weigel, T.; Schossing, M.; Holländer, A.; Groth, T.; Hilke, R. 2003. *Amination of poly(etherimide) membranes using di- and multivalent amines.* Macromolecular Chemistry Physics, 204, 510-521.
- Ang, W-S.; Tiraferri, A.; Chen, K-L.; Elimelech, M. 2011. *Fouling and cleaning of RO membranes fouled by mixtures of organic foulants simulating wastewater effluent.* Journal of Membrane Science, 376, 196-206.
- Arena, J.T.; McCloskey, B.; Freeman, B.D.; McCutcheon, J.R. 2011. *Surface modification of thin film composite membrane support layers with polydopamine: Enabling use of reverse osmosis membranes in pressure retarded osmosis.* Journal of Membrane Science, 375, 55-62.



- Bacchin, P.; Aimar, P.; Field, R.W. 2006. *Critical and sustainable fluxes: theory, experiments and applications*. Journal of Membrane Science, 281, 42-69.
- Baker, J.S.; Dudley, L.Y. 1998. *Biofouling in membrane Systems, Review*. Desalination, 118, 81-90.
- Blanco, J.; García-Rodríguez, L.; Martín-Mateos, I. 2009. *Seawater Desalination by Innovative Solar-Powered Membrane-Thermal Distillation System: MEDESOL project*. Desalination, 246, 567-576.
- Bellona, C.; Drewes, J. 2005. *The role of membrane surface charge and solute physico-chemical properties in the rejection of organic acids by NF membranes*. Journal of Membrane Science, 249, 227-234.
- Bert, J.L.; Fatt, I.; Saraf, D. 1970. *Dynamics of Water Transport in Cellulose Acetate*. The Swelling Phenomenon, 13, 105-119.
- B.O.E. 294/2007: Real Decreto 1620/2007, de 7 de diciembre, por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas. Pp. 50639-50661.
- Bolzonella, D.; Fatone, F.; di Fabio, S.; Cecchi, F. 2010. *Application of membrane bioreactor technology for wastewater treatment and reuse in the Mediterranean region: Focusing on removal efficiency of non-conventional pollutants*. Journal of Environmental Management, 91, 2424-2431.
- Bos, R.; van der Mei, H.C.; Busscher, H.J. 1999. *Physicochemistry of initial microbial adhesive interactions - its mechanisms and methods of study*. FEMS Microbiology Review, 23, 179-230.
- Cadotte, J.E. 1985. *Evaluation of composite reverse osmosis membranes*, in: D.R. Lloyd (Ed.), Materials Science of Synthetic Membranes, American Chemical Society, Washington, DC.
- Cadotte, J.E.; Petersen, R.J.; Larson, R.E.; Erickson, E.E. 1980. *A new thin-film composite seawater reverse osmosis membrane*. Desalination, 32, 25-31.
- Cadotte, J.E.; Rozelle, L.T. 1972. *In situ formed condensation of polymers for reverse osmosis membranes*. OSW PB-Report, No. 927.
- Carey, F.; Sundberg, R. 2000. *Advanced Organic Chemistry: Reactions and Synthesis*, 4th ed., Springer, New York, USA.
- Chen, J.P.; Kim, S.L.; Ting, Y.P. 2003. *Optimization of membrane physical and chemical cleaning by a statistically designed approach*. Journal of Membrane Science, 219, 27-45.
- Chesters, S.; 2010. *Recent Innovations to keep membranes clean*. World Water Congress and Exhibition, Montreal 19-24 September. Genesys International Ltd.
- Childress, E.; Elimelech, M. 2000. *Relating nanofiltration membrane performance to membrane charge (electrokinetic) characteristics*. Environmental Science Technology 34, 3710-3716.
- Chinpa, W.; Quémener, D.; Bèche, E.; Jiratananon, R.; Deratan, E. 2010. *Preparation of poly(etherimide) based ultrafiltration membrane with low fouling property by surface modification with poly(ethylene glycol)*. Journal of Membrane Science, 365, 89-97.
- Cui, Z.F.; Chang, S.; Fane, A.G. 2003. Review. *The use of gas bubbling to enhance membrane processes*. Journal of Membrane Science, 221, 1-35.
- Darton E.G.; Fazell M. 2001. *A statistical review of 150 membrane autopsies*. 62nd Annual International Water Conference, Pittsburgh, October.
- Darton, T.; Annunziata, U.; del Vigo Pisano, F.; Gallego, S. 2004. *Membrane autopsy helps to provide solutions to operational problems*, 167, 239-245.
- De Munari, A.; Capao, D.P.S.; Richards, B.S.; Schäfer, A.I. 2009. *Application of solar-powered desalination in a remote town in South Australia*. Desalination, 248, 72-82.
- Drews, A. 2010. *Membrane fouling in membrane bioreactors-Characterization, contradictions, cause and cures*. Journal of Membrane Science, 363, 1-28.
- Drioli, E.; Romano, M. 2001. *Progress and New Perspectives on Integrated Membrane Operations for Sustainable Industrial Growth Industrial Engineering Chemistry Research*, 40, 1277-1300.
- Edgar, K.J.; Buchanan, C.M.; Debenham, J.S.; Rundquist, P.A.; Seiler, B.D.; Shelton, M.C.; Tindall, D. 2001. *Advances in cellulose ester performance and application*. Progress in Polymer Science, 26, 1605-1688.
- Elimelech, M.; Zhu, X.; Childress, A.E.; Hong, S. 1997. *Role of membrane surface morphology in colloidal fouling of cellulose acetate and composite aromatic polyamide reverse osmosis membranes*. Journal of Membrane Science, 127, 101-109.
- Flemming, H.C.; Schaule, G.; Griebe, T.; Schmitt, J.; Tamachkiarowa, A. 1997. *Biofouling the Achilles hell of membrane processes*. Desalination, 113, 215-225.
- Genesys International AG7 – *Cleaning reverse osmosis (RO) and nanofiltration (NF) membranes*. <Accesible en URL: <http://www.genesysro.com/> 20/04/2011>
- Goosen, M.F.A.; Sablani, S.; Al-Hinai, H.; Al-Obeidani, S.; Al-Belushi, R.; Jackson, D. 2004. *Fouling of reverse osmosis and ultrafiltration membranes: A critical Review*. Separation Science and Technology, 39, 10, 2261-2298.
- Gordon, A. 2006. *Future Outlook for Microfiltration and Ultrafiltration Technology*. The National Water Research Institute. Microfiltration IV. Orange, California USA.
- Hernández, A.; Tejerina, F.; Arribas, J.I.; Martínez, L.; Martínez, F. 1990. *Microfiltración, ultrafiltración y ósmosis inversa*. Secretariado de publicaciones de la Universidad de Murcia, Murcia.
- Herzberg, M.; Elimelech, M. 2007. *Biofouling of reverse osmosis membranes: Role of biofilm-enhanced osmotic pressure*. Journal of Membrane Science, 295, 11-20.
- Hong, S.; Elimelech, M. 1997. *Chemical and physical aspects of natural organic matter (NOM) fouling of nanofiltration membranes*. Journal of Membrane Science, 132, 159-181
- Hydranautics Membrane. 2010. *Foulants and Cleaning Procedures for composite polyamide RO Membrane Elements (ESPA, ESNA, CPA, LFC, NANO and SWC)*. Technical Service Bulletin, 1-15.
- Juang, L.-C.; Tseng, D.-H.; Lin, H.-Y. 2006. *Membrane processes for water reuse from the effluent of industrial park wastewater treatment plant: a study on flux and fouling of membrane*. Desalination, 202, 302-309.



- Kabsch-Korbutowicz, M.; Majewska-Nowak, K.; Winnicki, T. 1999. *Analysis of membrane fouling in the treatment of water solutions containing humic acids and mineral salts*. Desalination, 126, 179-185.
- Kang, G.-D.; Gao, C.-J.; Chen, W.-D.; Jie, X.-M.; Cao, Y.-M.; Yuan, Q. 2007. *Study on hypochlorite degradation of aromatic polyamide reverse osmosis membrane*, Journal of Membrane Science, 300, 165-171.
- Kato, K.; Sano, S.; Ikada, Y. 1995. *Protein adsorption onto ionic surfaces*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 4, 221-230.
- Kim, S.H.; Kwak, S.Y.; Sohn, B.; Park, T.H. 2003. *Design of TiO₂ nanoparticles self-assembled aromatic polyamide thin-film-composite (TFC) membrane as an approach to solve biofouling problem*. Journal of Membrane Science, 211, 157-165.
- Koltuniewicz, A.B.; Drioli, E. 2008. *Membranes in Clean Technologies: Theory and Practice*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Alemania.
- Koros, W.J.; Ma, Y.H.; Shimizu, T. 1996. *Terminology for membranes and membrane processes -IUPAC recommendations*. Journal of Membrane Science, 120, 149-159.
- Kumano, A.; Fujiwara, N. 2008. *Cellulose triacetate membranes for reverse osmosis*, in: Advanced Membrane Technology and Applications. Normam, N. Li, W.S. Winston Ho, Matsuura Takeshi (Eds.), John Wiley & Sons, New Jersey, 21-43.
- Kwak, S.Y.; Kim, S.H.; Kim, S.S. 2001. *Hybrid organic/inorganic reverse osmosis (RO) membrane for bactericidal anti-fouling. 1. Preparation and characterization of TiO₂ nanoparticles self-assembled aromatic polyamide thin-film composite (TFC) membrane*. Environmental Science Technology, 35, 2388-2394.
- Kwon, Y.-N. 2005. *Change of surface properties and performance due to chlorination of crosslinked polyamide membranes*, Ph.D. Dissertation, Stanford University.
- Lappin-Scott, H.M.; Costerton, J.W. 1989. *Bacterial biofilms and surface fouling*. Biofouling, 1, 323-342.
- Lattemann, S.; Kennedy, M.D.; Schippers, J.C.; Amy, G. 2010. Global desalination situation, Sustainability Science and Engineering, in: *Sustainable Water for the Future: Water Recycling versus Desalination*, Escobar, I.; Schäfer, A.I. (Eds.). Elsevier, Chapter 2, 7-39.
- Lau, W.J.; Ismail, A.F.; Misdan, N.; Kassim, M.A. 2011. *A recent progress in thin film composite membrane: A Review*. Desalination. doi:10.1016/j.desal.2011.04.004.
- Lee, H.; Amy, G.; Cho, J.; Yoon, Y.; Moon, S.H.; Kim, S. 2001. *Cleaning strategies for flux recovery of an ultrafiltration membrane fouled by natural organic matter*. Water Research, 35, 3301-3308.
- Lee, K.P.; Arnot, T.C.; Mattia, D. 2011. *A review of reverse osmosis membrane materials for desalination- Development to date and future potencial*. Journal of Membrane Science, 370, 1-22.
- Lee, S.; Elimelech, M. 2007. *Salt cleaning of organic-fouled reverse osmosis membranes*. Water Research, 41, 1134-1142.
- Lee, S.; Seng-Ang, W.; Elimelech, M. 2006. *Fouling of reverse osmosis membranes by hydrophilic organic matter: implications for water reuse*. Desalination, 187, 313-321.
- Li, H.; Chen, V. 2010. *Membrane fouling and cleaning in food and bioprocessing*. Membrane Technology. Elsevier Ltd, Chapter 10, 214-254.
- Li-Jun, M.; Wen-Zhen, Z., 2009. *Hydrophilic modification of polyethersulfone porous membranes via a thermal-induced surface crosslinking approach*. Applied Surface Science, 255, 7273-7278.
- Lim, A.L.; Bai, R. 2003. *Membrane fouling and Cleaning in microfiltration of activated sludge wastewater*. Journal Membrane Science, 216, 279-290.
- Liu, H.; Fang, H.H.P. 2005. *Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges*. Journal of Biotechnolgy, 92, 249-256.
- Loeb, S.; Sourirajan, S. 1963. *Sea Water Demineralization by Means of an Osmotic Membrane*. in: Saline Water Conversion (Ed.), American Chemicals Society, Chapter 9, 117-132.
- Loeb, S.; Sourirajan, S. 1964. *High flow porous membranes for separating water from saline solutions*, US Patent 3,133,132. Washington, D. C., 1963, 117-132.
- Louie, J.S.; Pinnau, I.; Ciobanu, I.; Ishida, K.P.; Ng, A.; Reinhard, M. 2006. *Effects of polyether polyamide block copolymer coating on performance and fouling of reverse osmosis membranes*. Journal of Membrane Science, 280, 762-770.
- Lyko, S.; Wintgens, T.; Al-Halbouni, D.; Baumgarten, S.; Tacke, D.; Drensla, K.; Janot, A.; Dott, W.; Pinnekamp, J.; Melin, T. 2008. *Long-term monitoring of a full-scale municipal membrane bioreactor-characterisation of foulants and operational performance*. Journal of Membrane Science, 317, 78-87.
- Madaeni, S.S.; Samieirad, S. 2010. *Chemical cleaning of reverse osmosis membrane fouled by wastewater*. Desalination, 257, 80-86.
- Mallevalle, J.; Odendaal, E.; Wisner, P.; Mark, R. 1998. *Tratamiento del agua por procesos de membrana. Principios, procesos y aplicaciones*. Traducido por Claudio Míguez Gómez, Madrid, McGraw-Hill, 1998.
- Maskooki, A.; Mortazavi S.A.; Maskooki, A. 2010. *Cleaning of spiralwound ultrafiltration membranes using ultrasound and alkaline solution of EDTA*. Desalination, 264, 63-69.
- McCloskey, B.D.; Park, H.B.; Ju, H.; Rowe, B.W.; Miller, D.J.; Chun, B.J.; Kin, K.; Freeman, B.D. 2010. *Influence of polydopamine deposition conditions on pure water flux and foulant adhesion resistance of reverse osmosis, ultrafiltration, and microfiltration membranes*. Polymer, 51, 15, 3472-3485.
- McCutcheon, J.R.; Elimelech, M. 2006. *Influence of concentrative and dilutive internal concentration polarization on flux behavior in forward osmosis*. Journal of Membrane Science 284, 237-247.
- Membrane Technology Guide, 2009. *Federating Membrane Activities in Europe. Final Dissemination Report*. NanoMemPro, France.
- Meng, J-Q; Chen, C.-L.; Huang, L-P; Du, Q.-Y.; Zhang, Y-F. 2011. *Surface modification of PVDF membrane via AGET ATRP directly from the membrane surface*. doi:10.1016/j.apsusc.2011.02.062.
- Mi, B.; Elimelech, M. 2010. *Organic of forward osmosis membranes: Fouling reversibility and Cleaning without Chemicals reagents*. Journal of Membrane Science, 348, 337-345.
- Mickols, W.E. 1998. *Method of Treating Polyamide Membranes to Increase Flux*, Patent Application No. 5755964.



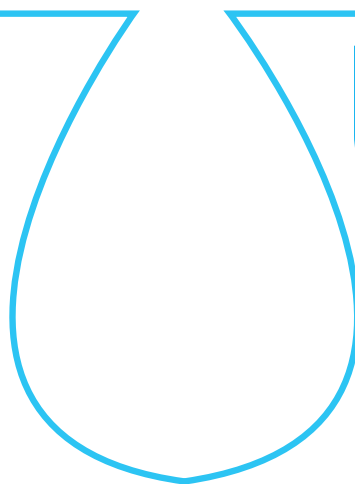
- Mohammadi, T.; Madaeni, S.S.; Moghadam, M.K. 2003. *Investigation of membrane fouling*. Desalination, 153, 155-60.
- Mulder, M. 1997. *Basic Principles of Membrane Technology*, (2Ed.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Muñoz, H.P. 2010. *Gestión medioambiental de salmueras de desalado de bacalao. Tratamiento mediante tecnología de membranas*. Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Valencia.
- Nollet, J.A. 1752. *Investigations on the Causes for the Ebullition of Liquids*. Paris. Histoire de l'Academie Royale des Sciences, 57-104.
- Nystrom, M.; Ruohomaki, K.; Kaipa, L. 1996. *Humic acid as a fouling agent in filtration*. Desalination, 106, 78-86.
- Ortega, E.; Ferrer, Y.; Salas, J.J.; Aragón, C.; Real A. 2010. *Manual para la implantación de sistemas de depuración en pequeñas poblaciones*. Ministerio de Medioambiente, Medio Rural y Marino (ed.), Madrid, 25-46.
- Ozaki, H.; Li, H. 2002. *Rejection of organic compounds by ultralow pressure reverse osmosis membrane*. Water Research, 36, 123-130.
- Peng, K.; C-Arnot, T.; Mattia, D. 2011. *A review of reverse osmosis membrane materials for desalination-Development to date and future potential*. Journal of Membrane Science, 370, 1-22.
- Petersen, R.J. 1993. *Composite reverse osmosis and nanofiltration membranes*. Journal of Membrane Science, 83, 81-150.
- Porcelli, N.; Judd, S. 2010. *Chemical cleaning of potable water membranes: A Review*. Separation and Purification Technology, 71, 137-143.
- Qaisrani, T.M.; Samhaber, W.M. 2011. *Impact of gas bubbling and backflushing on fouling control and membrane Cleaning*. Desalination, 266, 154-161.
- Rana, D.; Matsuura, T. 2010. *Surface Modifications for Antifouling Membranes*. Chemical Review, 110, 2448-2471.
- Ridgway, H.F.; Flemming, H.C. 1996. *Membrane biofouling*, in: Water Treatment Membrane Processes, McGraw Hill, New York.
- Riedl, K.; Girard, B.; Lencki, W. 1998. *Influence of membrane structure on fouling layer morphology during apple juice clarification*. Journal of Membrane Science, 139, 155-166.
- Rodríguez, J.J.; Jimhez, V.; Trujillo, O.; Veza, J.M. 2002. *Reuse of reverse osmosis membranes wastewater treatment in advanced*. Desalination, 150, 219-225.
- Roskill Report, *The Economics of Iodine*, 8th ed., 2002.
- Sahachaiyunta P.; Koo T.; Sheikholeslami, R. 2002. *Effect of several inorganic species on silica fouling in RO membranes*. Desalination, 144, 373-378.
- Sánchez, J.M.; Casañas, A.; Sánchez-Colomer, M.R.; Zarzo, A.J.; Gonzalo, M.; Gallego, S.; Marcó, J.; Benito, B.; Monforte, L.; Urgoiti, N.; Pérez, M.R.; Aznar, R.; Guerrero, L.; Roset, J. 2009. *Guía de Desalación: aspectos técnicos y sanitarios en la producción de agua de consumo humano*. Informes, Estudios e investigación. Ministerio de Sanidad y Política Social. Madrid.
- Santoso, F.; Albrecht, W.; Schroeter, M.; Weigel, Th.; Paul, D.; Schomäcker, R. 2003. *A novel technique for preparation of aminated polyimide membranes with microfiltration characteristics*. Journal of Membrane Science, 223, 171-185.
- Sarkar, A.; Carver, P.I.; Zhang, T.; Merrington, A.; Bruza, K.J.; Rousseau, J.L.; Keinath, S.E.; Dvornic, P.R. 2010. *Dendrimer-based coatings for surface modification of polyamide reverse osmosis membranes*. Journal of Membrane Science, 349, 421-428.
- Schäfer, A.I.; Andritsos, N.; Karabelas, A.J.; Hoek, E.M.V.; Schneider, R.; Nyström, M. 2004. *Fouling in Nanofiltration, in: Nanofiltration – Principles and Applications*, Schäfer A.I., Waite T.D., Fane A.G. (Eds). Elsevier, Chapter 8, 169-239.
- Schäfer, A.; Broeckmann, A.; Richards, B. 2005. *Membranes and renewable energy-a new era of sustainable development for developing countries*. Membrane Technology, 11, 6-10.
- Schäfer, A.I.; Martrup, M.; Lund-Jensen R. 2002. *Particle interactions and removal of trace contaminants from water and wastewaters*. Desalination, 147, 243-250.
- Scott K.; Mahood A.J.; Jachuck R.J.; Hu, B. 2000. *Intensified membrane filtration with corrugated membranes*. Journal of Membrane Science, 173, 1-16.
- Serra, C.; Durand-Bourlier, L.; Clifton, M.J.; Moulin, P.; Rouch, J.C.; Aptel, P. 1999. *Use of air sparging to improve backwashing efficiency in hollow-fibre modules*. Journal of Membrane Science, 161, 95-113.
- Sotto, A. 2008. *Aplicación de la tecnología de membranas de nanofiltración y ósmosis inversa para el tratamiento de disoluciones acuosas de compuestos fenólicos y ácidos carboxílicos*. Tesis doctoral, Universidad Rey Juan Carlos, Madrid.
- Susanto, H.; Arafat, H.; Janssen, E.M.L.; Ulbricht, M. 2008. *Ultrafiltration of polysaccharide-protein mixtures: elucidation of fouling mechanisms and fouling control by membrane surface modification*. Separation and Purification Technology, 63, 558-565.
- Tang, C.Y.; Kwon, Y.-N.; J.O. 2007. *Leckie, Probing the nano- and micro-scales of reverse osmosis membranes—a comprehensive characterization of physicochemical properties of uncoated and coated membranes by XPS, TEM, ATR-FTIR, and streaming potential measurements*. Journal of Membrane Science, 287, 146-156.
- Trägårdh, G. 1989. *Membrane cleaning*. Desalination, 71, 325-335.
- Tu, S.C.; Ravindran, V.; Den, W.; Pirbazari, M. 2001. *Predictive membrane transport model for nanofiltration processes in water treatment*. AIChE Journal, 47, 6, 1346-1362.
- Truby, R. 2004. *Market Outlook for RO/NF and UF/MF Membranes Used for Large-Volume Applications*. Water Executive, 9-11.
- Ulbricht, M.; Richau, K.; Kamusewitz, H. 1998. *Chemically and morphologically defined ultrafiltration membrane surfaces prepared by heterogeneous photo-initiated graft polymerization*. Volume 138, 353-366.
- Van der Bruggen, B.; Mänttari, M.; Nyström, M. 2008. *Drawbacks of applying nanofiltration and how to avoid them: a review*. Separation and Purification Technology, 63, 251-263.



- Van Wagner, E.; Alyson, S.; Sharmab, M.; Young-Hye, L.; Freeman B. 2011. *Surface modification of commercial polyamide desalination membranes using poly(ethylene glycol) diglycidyl ether to enhance membrane fouling resistance*. Journal of Membrane Science, 367, 273-287.
- Verbeck, J.; Worm, G.I.M.; Futselaar, H.; van Dijk, J.C. 2001. *Combined air-water flush in dead-end ultrafiltration*. Water Supply, 1 No 5-6, 393-402.
- Veza, J.M.; Rodríguez-Gonzalez, J.J. 2003. *Second use for old reverse osmosis membranes: wastewater treatment*. Desalination, 157, 65-72.
- Wang, X.L.; Wang, W.N.; Wang, D.X. 2002. *Experimental investigation on separation performance of nanofiltration membranes for inorganic electrolyte solutions*. Desalination 145, 115-122.
- Wei, X.; Wang, Z.; Chen, J.; Wang, J.; Wang, S. 2010. *A novel method of surface modification on thin-film composite reverse osmosis membrane by grafting hydantoin derivative*. Journal of Membrane Science, 346, 152-162. (a)
- Wei, X.; Wang, Z.; Zhang, Z.; Wang J.; Wang, S. 2010. *Surface modification of commercial aromatic polyamide reverse osmosis membranes by graft polymerization of 3-allyl-5,5-dimethylhydantoin*. Journal of Membranes, 351, 222-233. (b)
- Wintgens, T.; Melin, T.; Schäfer, A.; Khan, S.; Muston, M.; Biio, D.; Thoeys, C. 2005. *The role of membrane processes in municipal wastewater reclamation and reuse*. Desalination, 178, 1-11.
- Wu, D.; Liu, X.; Yu, S.; Liu, M.; Gao, C. 2010. *Modification of aromatic polyamide thin-film composite reverse osmosis membranes by surface coating of thermoresponsive copolymers P(NIPAM-co-Am). Preparation and characterization*. Journal of Membrane Science, 35, 76-85.
- Xu, H.; Liu, Y. 2011. *d-Amino acid mitigated membrane biofouling and promoted biofilm detachment*. Journal of Membrane Science, 376, 266-274.
- Yan, L.; Li, Y-S.; Xiang, C-B.; Xianda, S. 2006. *Effect of nano-sized Al₂O₃-particle addition on PVDF ultrafiltration membrane performance*. Journal of Membrane Science, 276, 162-167.
- Yiantsios, S.G.; Karabelas, S. 1998. *The effect of colloid stability on membrane fouling*. Desalination, 118, 143-152.
- Yu, S.; Lu?, Z.; Chen, Z.; Liu, X.; Liu, M.; Gao, C. 2011. *Surface modification of thin-film composite polyamide reverse osmosis membranes by coating N-isopropylacrylamide-co-acrylic acid copolymers for improved membrane properties*. Journal of Membrane Science, 371, 293-306.
- Zhang, K.; Cui, Z.; Field, R.W. 2009. *Effect of bubble size and frequency on mass transfer in flat sheet MBR*. Journal of Membrane Science, 332, 30-37.
- Zou, L.; Vidalis I.; Steele D.; Michelmore A.; Low S.P.; Verberk J.Q.J.C. 2011. *Surface hydrophilic modification of RO membranes by plasma polymerization for low organic fouling*. Journal of Membrane Science, 369, 420-428.
- Zhu, L.P.; Dong, H-B.; Wei, X.Z.; Yi, Z.; Zhu, B.K.; Xu, Y.Y. 2008. *Tethering hydrophilic polymer brushes onto PPESK membranes via surface-initiated atom transfer radical polymerization*. Journal of Membrane Science, 320, 407-415.

escuela de posgrado
ESTUDIOS UNIVERSITARIOS DE POSGRADO EN **HIDROLOGÍA**

UAH URJC



máster universitario

en hidrología y gestión de recursos hídricos

proyectos
2011

Modelo geológico 3D del sector I del acuífero detrítico del tramo bajo del Jarama

autor

Ariana Mabeth Montoya Colonia

director

Dr. Francisco Carreño Conde (URJC)

Dr. Javier Lillo Ramos (URJC)

Alcalá de Henares, 16 de Junio de 2011



AGRADECIMIENTOS

A la Fundación Carolina, por la beca otorgada para desarrollar los estudios de Máster y por mostrar su continuo interés durante este proceso.

A Francisco Carreño Conde, por brindarme un constante apoyo en cada una de las etapas de este trabajo, por su orientación, dedicación y continua enseñanza.

A mi Madre, por su continuo apoyo, por darme siempre aliento y ánimo en cada uno de los propósitos que emprendo en la vida. Por creer siempre en mí, y por hacerme entender que cada logro en la vida no es más que el resultado de la perseverancia, el compromiso y la dedicación.

A mi Familia, por su interés, acompañamiento, y cariño en todo el proceso del Máster, sin sus detalles, la estancia en España no hubiese sido tan fácil.

A mi Esposo, por creer en mí y por compartir mis sueños, por ser mi constante apoyo y mi impulso de vida, por apostar en la unión a pesar de la distancia, por sacrificar nuestra compañía para alcanzar mis metas. Por brindarme cada momento de felicidad a pesar de la distancia, y por darme a cada instante el impulso y la fuerza necesaria para llevar adelante el Máster.



ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. Resumen	45
2. Introducción	45
2.1. Objetivos	45
2.2. Justificación	45
2.3. Zona de estudio	46
2.3.1 Localización	46
2.3.2 Geología	46
2.3.3 Hidrogeología del acuífero del río Jarama.....	48
2.3.4 Problemática ambiental	49
3. Metodología	50
3.1. Programas informáticos.....	50
3.2. Proceso metodológico	50
3.2.1. Revisión de información	51
3.2.2. Generación de cartografía digital	51
3.2.2.1. Georreferenciación	51
3.2.2.2. Digitalización de la información cartográfica	51
3.2.3. Construcción de perfiles	51
3.2.3.1. Modelo digital de elevación (MDE).....	51
3.2.3.2. Construcción de perfiles topográficos ..	52
3.2.3.3. Correlación de perfiles	52
3.2.3.4. Construcción de ficheros.....	53
3.2.4. Generación del modelo 3D.....	53
3.2.4.1. Construcción de cilindros 3D.....	53
3.2.4.2. Construcción de superficies	54
3.2.4.3. Modelo 3D.....	55
4. Resultados	55
4.1 Mapa geológico.....	55
4.2 Mapas de isopiezas	55
4.3 Mapas de isopacas.....	57
4.4 Modelo 3D.....	57
5. Discusión	59
6. Conclusiones	60
7. Bibliografía	60

Figura 7. Comparación de los Modelos Digitales de Elevación (MDE).....	52
Figura 8. Correlación de perfiles – variación de la topografía.....	52
Figura 9. Ubicación de perfiles Hidrogeológicos y de SEV.....	53
Figura 10. Vista tridimensional de los cilindros del perfil PP1-5 con el río Jarama (5x).....	54
Figura 11. Vista tridimensional de los cilindros en sector sur con el río Jarama (5x)	54
Figura 12. Superficie del techo de las gravas	54
Figura 13. Superficie del muro de las gravas	55
Figura 14. Superficie del muro de las gravas y cilindros 3D (5x) y río Jarama	55
Figura 15. Superficies de techo y muro de las gravas y cilindros 3D (5x) y río Jarama	55
Figura 16. Mapa geológico generalizado	55
Figura 17. Evolución de la superficie freática	56
Figura 18. Mapas de isopacas	57
Figura 19. Variación de espesores (5x)	58
Figura 20. Variación de espesores saturados – nivel freático (5x)	58
Figura 21. Visualización 3D de la superficie del muro de las gravas (5x)	58
Figura 22. Visualización 3D de la superficie del techo de las gravas (5x)	58
Figura 23. Modelo 3D (5x)	59
Figura 24. Localización de Graveras	59
Figura 25. Vista tridimensional de la localización de graveras.....	59
Figura 26. Cambios en la topografía y descensos en el nivel freático	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Delimitación de la zona de estudio por municipios	46
Figura 2. Delimitación de la parte española de la Demarcación Hidrográfica del Tajo por provincias y localización general de la zona de estudio	47
Figura 3. Mapa Geológico de la zona de estudio.....	47
Figura 4. Mapa de Permeabilidad MAS Jarama-Tajuña.....	49
Figura 5. Mapa de Vulnerabilidad.....	49
Figura 6. Esquema metodológico construcción Modelo 3D.....	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Distribución superficial (km ²) y porcentual por municipio.....	46
Tabla II. Caracterización MAS Jarama-Tajuña	49
Tabla III. Estructuración de los ficheros .txt	53
Tabla IV. Estructuración de los ficheros .xls	53



1. RESUMEN

Este trabajo presenta una propuesta metodológica para desarrollar un modelo geológico 3D en el sector I del acuífero detrítico del tramo bajo del Jarama. El modelo 3D permite, tener una visión más real del acuífero, tanto en su disposición como en su geometría, así mismo brinda un escenario de mayor interacción con los factores que pueden influenciar directamente las condiciones de este, como las explotaciones mineras de áridos, los focos de contaminación, las zonas de sobreexplotación, entre otras; de esta manera el modelo 3D se convierte en una excelente herramienta de gestión de los recursos hídricos subterráneos.

Para la elaboración del modelo 3D del acuífero se ha utilizado una metodología constructiva, en la que se han procesado datos de diferentes capas de información para finalmente, generar un único modelo. En la construcción del modelo 3D, se han considerado diferentes niveles de información y finalmente se han integrado un modelo digital de elevación (MDE), la información geológica, hidrogeológica, y geofísica de la zona de estudio, mediante el uso de Sistemas de Información Geográfica (SIG), en este caso particular los software ArcGIS 9.3 y ArcView 3.2. La fuente de información primaria de este trabajo fue el "Estudio para la ordenación de la actividad extractiva en el tramo bajo del río Jarama (Bardají et al., 1990)".

La construcción de este modelo geológico 3D, constituye una herramienta que permite obtener una visión más amplia y detallada de las características del acuífero, entre ellas, la disposición y variación de espesor de los depósitos aluviales que conforman el acuífero, la relación de estos con las demás unidades litológicas y la variación en los niveles piezométricos, además ha permitido analizar la intensiva actividad minera que se desarrolla sobre los recursos de áridos del acuífero.

2. INTRODUCCIÓN

La representación de modelos geológicos en tres dimensiones (3D), cada día tiende a adquirir mayor importancia. A partir de la síntesis de diferentes tipos de datos (geológicos y geofísicos, datos superficiales y subsuperficiales) (De Donatis, et al., 2005), se obtienen representaciones virtuales avanzadas que permiten tener una visión más clara, real, y precisa de la disposición y configuración de las diferentes estructuras (fallas, discontinuidades, etc.) y formaciones (yacimientos minerales, acuíferos, unidades lito-estratigráficas, etc.) geológicas. Los mapas geológicos convencionales en dos dimensiones (2D) no muestran relaciones espaciales entre los cuerpos y estructuras geológicas, y su interpretación resulta difícil, mientras que los modelos en 3D sí que permiten realizar análisis más complejos y realizar cálculos sobre el marco geológico (Nury, et al., 2009).

Actualmente existen diversas metodologías para la construcción de modelos geológicos en 3D, sin embargo, cada una de ellas coincide en la utilización de Sistemas de Información Geográfica (SIG), ya que estas son las herramientas que mejor desempeño presentan a la hora de integrar información de diferente tipo (vector y raster) y escalas, además son herramientas que cuentan con una amplia versatilidad para la visualización. La

complejidad y tipo de modelo que se construya va a depender tanto de la calidad y tipo de datos que se ingresen al sistema, como de las herramientas SIG de las que se dispongan.

Existe una clara relación y un equilibrio natural entre los recursos naturales, los ecosistemas, los usos de la tierra (agricultura y minería) y los sistemas de agua subterránea, que puede someterse a serios cambios si ocurre un incremento en la intensidad en el uso de los recursos. Por esta razón, el análisis de los cambios que ocurren en el territorio, deben realizarse sobre una base adecuada para tomar las decisiones más correctas con respecto a la gestión del medio ambiente. En este trabajo se muestra como los datos cartográficos de topografía, geología e hidrogeología pueden ser integrados para generar un modelo geológico en 3D, dando como resultado una fuerte base para el manejo de los recursos hídricos subterráneos (Carreño et al., 2010).

2.1. OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo es definir un modelo geológico en tres dimensiones (3D) del sector I del acuífero detrítico del tramo bajo del río Jarama, que permita comprender su geometría y distribución espacial, tanto en profundidad como en extensión para conocer con mayor precisión la disponibilidad, características de sus recursos hídricos y su función en el medio.

La construcción de este modelo permitirá tener una visión más completa y real del sistema acuífero, ya que este integra la información hidrológica, geológica (superficial y subsuperficial) e hidrogeológica, que hasta ahora había sido tratada de manera independiente. Con este modelo se podrá obtener información más detallada y precisa de las reservas de agua del acuífero, los volúmenes de material detrítico que los conforma, los sectores con mayor volumen que pueden ser focos de explotación de la minería de áridos, los niveles piezométricos del agua y la variación de estos, las zonas de recarga y descarga, entre otros. En síntesis, este modelo se plantea como una herramienta de apoyo para los procesos de gestión de los recursos hídricos del acuífero detrítico del tramo bajo del río Jarama.

2.2. JUSTIFICACIÓN

El acuífero del río Jarama, es definido por Navas et al. (1998) como una unidad cuaternaria "de vulnerabilidad muy alta, constituida por depósitos fluviales de gravas y arenas, y en menor proporción limos y arcillas, con una zona no saturada altamente permeable y nivel freático a menos de 5 m de profundidad". La vulnerabilidad del sistema acuífero viene dada por múltiples factores, entre los que cabe destacar: la demanda de agua para riego de cultivos localizados a lo largo de la vega del río Jarama, la extracción de áridos que demandan las diferentes obras de infraestructura de la Comunidad de Madrid, y la contaminación por infiltración directa de compuestos químicos y/o orgánicos que se derivan de la actividad agraria, vertidos urbanos e industriales.

De acuerdo a las consideraciones citadas anteriormente, es claro que se requieren estrategias y medidas que permitan el apro-



vechamiento y conservación del recurso, así como el cumplimiento de los objetivos medioambientales dispuestos por la Directiva Marco del Agua¹, lo cual sólo es posible si se tiene un conocimiento amplio y claro del medio; la construcción de este modelo geológico 3D constituye un elemento importante para la consolidación de dicho conocimiento.

2.3. ZONA DE ESTUDIO

2.3.1. LOCALIZACIÓN

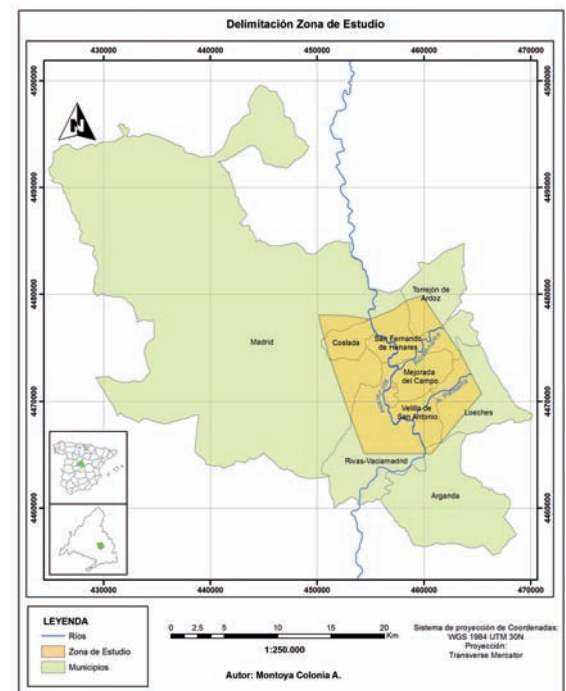
La zona de estudio abarca una extensión de 148,23 km², y se sitúa en la cuenca baja del río Jarama, en el sector suroriental de la Comunidad de Madrid. La zona ocupa parte de las hojas 559 (Madrid) y 560 (Alcalá de Henares), pertenecientes al Mapa Topográfico Nacional escala 1:50.000. La zona de estudio incluye área de municipios de: Madrid, Torrejón de Ardoz, San Fernando de Henares, Coslada, Loeches, Mejorada del Campo, Rivas-Vaciamadrid, Velilla de San Antonio y Arganda, todos ellos pertenecientes a la Comunidad de Madrid. En la tabla 1 se presenta la distribución de los municipios en la zona de estudio y en la figura 1 su localización general.

Tabla 1. Distribución superficial (km²) y porcentual por municipio

Superficie dentro de la Zona de Estudio		
Municipio	Área (km ²)	Porcentaje (%)
Madrid	19,566	13,20
Torrejón de Ardoz	7,892	5,32
San Fernando de Henares	26,053	17,58
Coslada	11,541	7,79
Loeches	17,863	12,05
Mojorada del Campo	17,935	12,10
Riveras-Vaciamadrid	32,227	21,74
Velilla de San Antonio	14,373	9,70
Arganda	0,783	0,53
Total	148,23	100

El componente más importante de la zona de estudio, es el sistema "río-acuífero aluvial" de la cuenca del río Jarama, comprendido dentro de la demarcación hidrográfica del Tajo (Figura 2).

Figura 1. Delimitación de la zona de estudio por municipios



El río Jarama es uno de los afluentes más importantes del río Tago en la Comunidad de Madrid, nace en Peña Cebollera (Somosierra, 2.119 m), junto al Hayedo de Montejo y desemboca en el Tajo en la Flamenca, cerca de Aranjuez² su comportamiento es meandriforme; en la zona de estudio el río recorre una distancia de 19,9 km en direcciónNW-SE, y recibe por la margen izquierda las aguas del río Henares y el arroyo de Pantueña. El acuífero aluvial del río Jarama es de tipo libre y su extensión en la zona de estudio queda definida por la propia superficie aluvial. Su sustrato geológico lo constituyen gravas poligénicas, arenas y limos (primeras terrazas aluviales) y arenas, limos arenosos y cantos (fondos de valle), todos ellos depósitos de alta permeabilidad (ITGME-CAM, 1988).

De manera general la zona de estudio está definida por dos unidades fisiográficas, una es la de Vegas, que ocupa todo el valle del río Jarama, y la otra es la de Vertientes, situada a ambos lados en los bordes del mismo, dichas unidades conforman un relieve suave y alomado, sin mayores accidentes topográficos, exceptuando los escarpes que se generan como límite entre las dos unidades (Bardají *et al.*, 1990), localizados principalmente hacia el sector nororiental. Las pendientes medias en las Vegas varían entre el 0% y 5% y en las Vertientes entre el 5% y 15%.

2.3.2. GEOLOGÍA

De acuerdo a Bardají *et al.* (1990), la geología de la zona de estudio (Figura 3) está definida por un sustrato de materiales terciarios de la Cuenca de Madrid, de origen continental, sobre los cua-

¹ Directiva 2000/60 CE Directiva Marco de Aguas (DMA), por la que se establece un marco comunitario para la protección de las aguas superficiales continentales, de transición, costeras y subterráneas, para prevenir o reducir su contaminación, promover su uso sostenible, proteger el medio ambiente, mejorar el estado de los ecosistemas acuáticos y atenuar los efectos de las inundaciones y las sequías.
<http://hispania.cedex.es/documentacion/especiales/dma/index.htm>.

² Atlas Básico: Cursos de agua superficial.
<http://parqueregionalsureste.org/valores-naturales/medio-fisico>



Figura 2. Delimitación de la parte española de la Demarcación Hidrográfica del Tajo por provincias y localización general de la zona de estudio

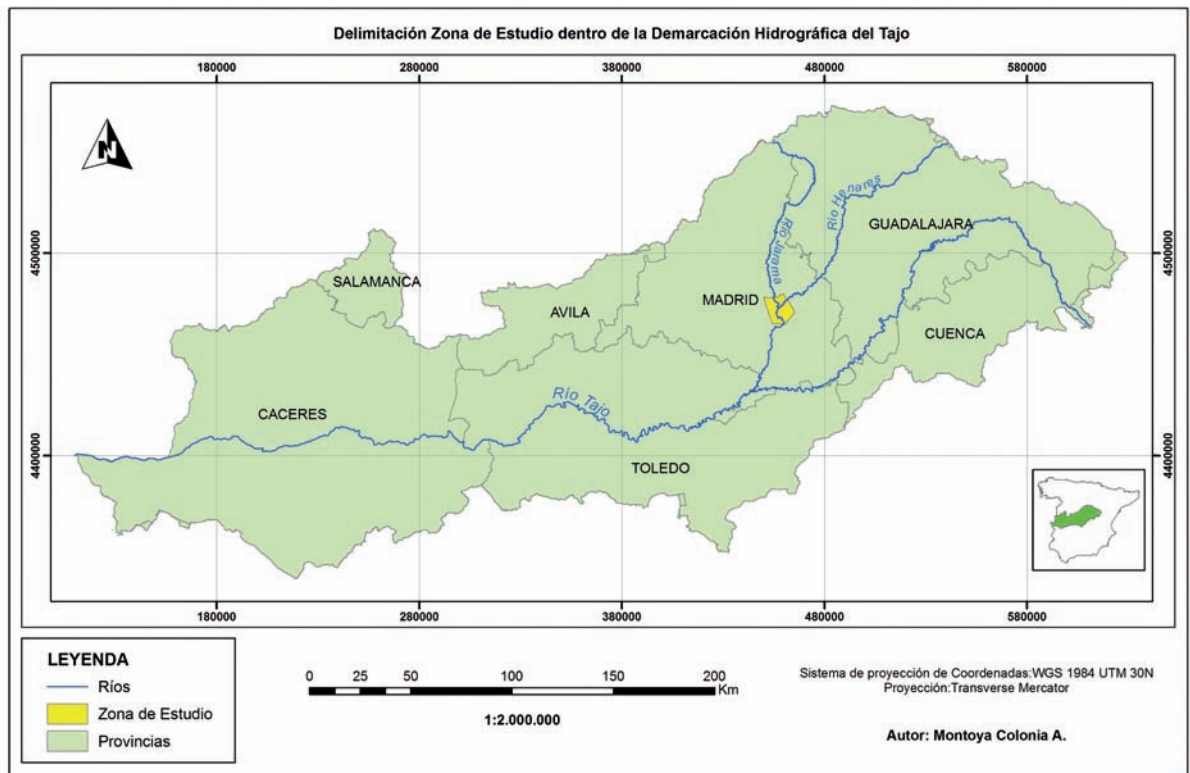
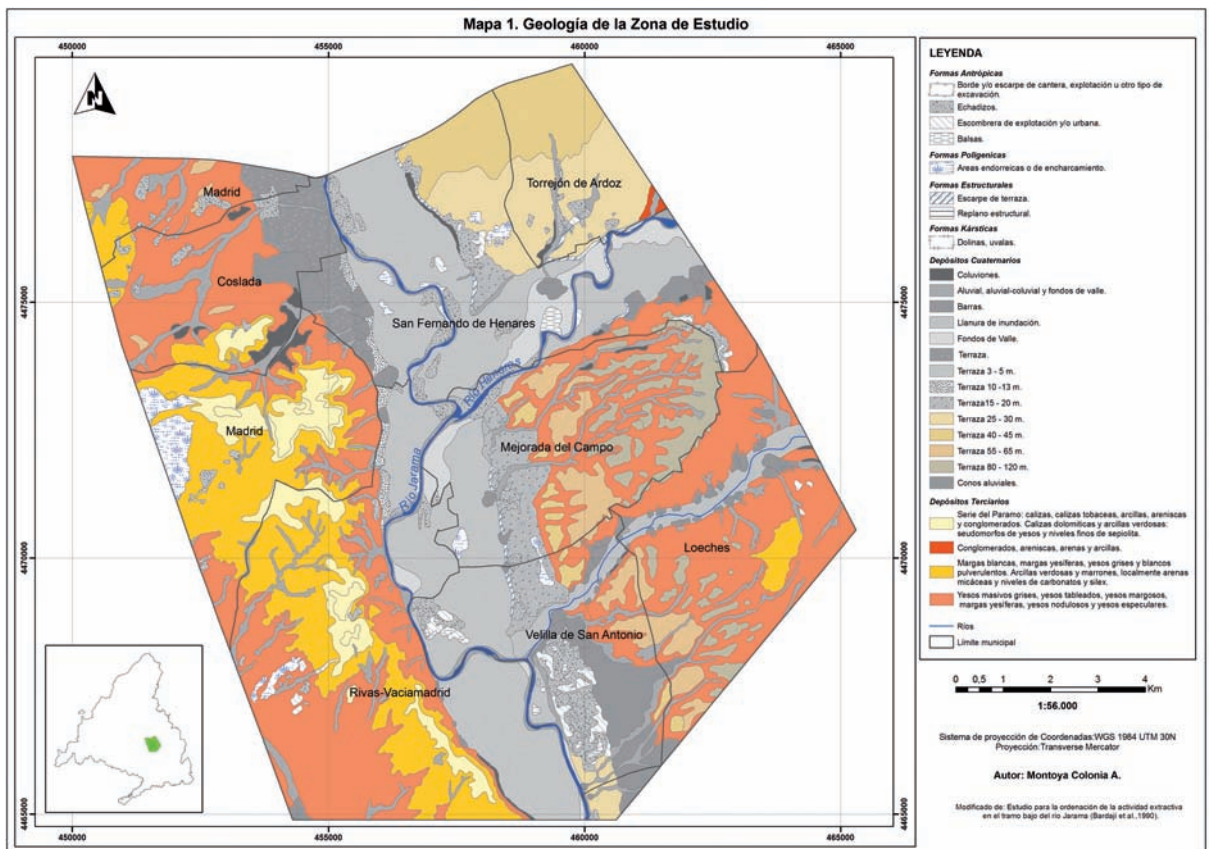


Figura 3. Mapa Geológico de la zona de estudio





les se sitúan las formaciones cuaternarias asociadas a la dinámica fluvial del río Jarama (aluviales, abanicos, terrazas, etc.). Los materiales terciarios, que afloran a ambos lados del aluvial del Jarama, aparecen en cuatro unidades características:

- **Yesos:** corresponde al conjunto más inferior aflorante, consiste en paquetes gruesos de yesos y margas yesíferas, localmente separados por pasadas finas de arcilla, pertenecientes a las facies distales del Terciario detrítico de la Cuenca de Madrid. Estos niveles yesíferos son muy destacables en los farallones que limitan la depresión del Jarama, alcanzando un espesor próximo a los 100 m, particularmente en su margen derecha. Estos materiales se encuentran en el subsuelo formando la base sobre la que se disponen los depósitos aluviales del río Jarama. Su edad es Mioceno medio.
- **Margas:** este nivel cubre el conjunto yesífero, y está estratificado horizontalmente, compuesto por calizas, con intercalaciones arcillosas y arenosas, y yesos, representan una facies más distal dentro de la Cuenca de Madrid. Este conjunto aflora a ambos lados de la depresión del Jarama, con un espesor máximo de unos 50 m. La edad de esta sucesión de materiales abarca gran parte del Mioceno medio.
- **Conglomerados:** corresponde a un conjunto de carácter terrígeno (gravas y arenas, localmente y hacia el techo arcillas), el cual reposa en discordancia erosiva sobre las margas. Esta unidad tiene una representación mínima, casi nula dentro de la zona de estudio. Este conjunto pertenece a lo que se le ha llamado informalmente “Red Fluvial Intramiocena” del Mioceno Superior.
- **Calizas:** este nivel está constituido principalmente por calizas de carácter lacustre. Este conjunto pertenece a la “Serie de Páramo del Mioceno superior y plioceno. Este nivel y el de conglomerados definen un conjunto que no supera los 40 m de espesor.

Los depósitos cuaternarios dentro de la zona son de diversos tipos, entre estos se pueden citar: las barras, los fondos de valle y/o llanura de inundación, terrazas, conos de deyección, coluviones, glaciares, cauces abandonados, entre otros. De acuerdo a la distribución y posición morfológica que estos depósitos aluviales presentan tanto transversal como longitudinalmente en el valle del río Jarama, se han agrupado en tres conjuntos bien diferenciados, cada uno de ellos con una disposición específica con respecto a los niveles freáticos y, frecuentemente, con una asociación de litologías característica. Los tres conjuntos diferenciados denominados inferior, medio y superior en función de su posición topográfica con respecto al cauce actual del río (Bardají et al. (1990), son:

Conjunto Inferior: incluye los sedimentos actuales ubicados en el cauce del río, los sedimentos de fondo de valle y/o llanura de inundación, y las terrazas del río Jarama. Dentro de estas se incluyen las terrazas que se encuentran a 3–5 m por encima del cauce actual hasta la situada a 10–13 m. Este conjunto de depósitos aparecen solapados o encajados entre sí. La litología de este

conjunto está dada principalmente por gravas de cuarcita y cuarzo, se reconocen niveles de arenas y, al techo limos areno-arcillosos relacionados con las facies de llanura de inundación, con potencias en ocasiones superiores a los 2 m.

- **Conjunto Medio:** incluye los niveles de terraza situados a 15–20 m y 25–30 m por encima del cauce actual. La separación de este nivel se debe fundamentalmente al escarpe morfológico existente entre este nivel y el inferior. Los dos niveles de terraza que componen este conjunto se presentan solapadas entre sí. El espesor máximo reconocible en afloramiento de este conjunto es de unos 25 m. Litológicamente este conjunto es similar al inferior, sin embargo, en este, los limos de inundación presentan menos potencia, hay presencia de cementaciones y a veces costras laminares.
- **Conjunto Superior:** se integran en él los niveles de terrazas más altos, los situados a 40–45 m hasta 80–120 m. Son en particular las terrazas que se encuentran colgadas separadas entre sí por taludes de materiales terciarios. El material que compone estos depósitos consiste en gravas de cuarcita y cuarzo, de tamaños medios (6–17 cm); la matriz usualmente es arenosa con laminación cruzada, en ocasiones se presentan niveles arcillosos de poco espesor.

2.3.3. HIDROGEOLOGÍA DEL ACUÍFERO DEL RÍO JARAMA

El acuífero detrítico del sector bajo del río Jarama está definido por la unidad hidrogeológica de “Terrazas bajas y medias-aluviones y coluviones” (Bardají et al., 1990), conformada principalmente por el conjunto de terrazas bajas y medias conectadas entre sí hidráulicamente, y estas a su vez con el río; en general está unidad abarca las unidades geológicas definidas en los conjuntos inferior y medio descritos anteriormente. Se caracteriza por ser un acuífero libre, con recarga a partir de la infiltración de la lluvia y de la percolación del Terciario infrayacente (yesos) y con descarga directamente a los ríos; su nivel freático se encuentra próximo a la superficie, entre 0,25 y 6 m de profundidad.

Los parámetros hidráulicos del acuífero se obtuvieron mediante 11 ensayos hidráulicos de bombeo y recuperación, realizados en el *Estudio para la ordenación de la actividad extractiva en el tramo bajo del río Jarama* (Bardají et al., 1990), obteniéndose valores de transmisividad que oscilaban entre 632–3.500 m²/d y un coeficiente de almacenamiento de 0,7.

Aunque en este apartado se ha hablado de unidad hidrogeológica, es importante resaltar que este concepto actualmente empieza a quedar en desuso, debido a que a partir de la puesta en marcha de la Directiva Marco del Agua DIR 2000/60 CE (DMA), el manejo de los recursos subterráneos debe hacerse en función de unidades de Masa de Agua Subterránea (MAS). En el Estudio General sobre la Demarcación Hidrográfica del Tajo (2007), esta consideración ya es tenida en cuenta, de tal manera que las MAS han sido delimitadas, caracterizadas y codificadas. Para el caso particular de este estudio, el acuífero del río Jarama ha sido definido dentro de la MAS Jarama-Tajuña, y ha



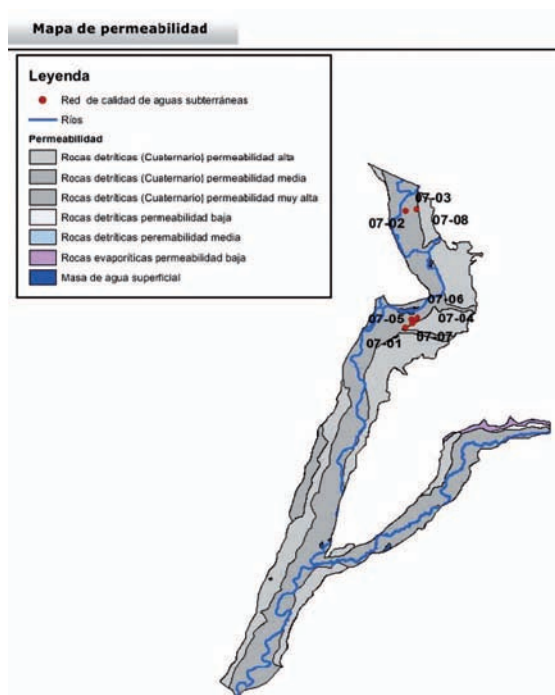
sido definida como se presenta en la tabla 2. En la figura 4 se presenta el mapa de permeabilidad de la MAS Jarama-Tajuña.

Tabla II. Caracterización MAS Jarama-Tajuña.

Nombre	Aluviales Jarama-Tajuña
Código	030.007
Geología/Hidrogeología	Formada por depósitos aluviales y llanura de inundación de los ríos Jarama y una parte del Tajuña, junto con depósitos de terraza. Incluye gravas poligénicas, arenas, limos y arcillas de edad Cuaternario.
Zona no saturada	Gravas poligénicas, arenas, limos y arcillas del Cuaternario
Límites de la masa	Los rellenos aluviales del Jarama y el Tajuña discurren sobre facies evaporíticas del Terciario.
Recarga	Se debe a retornos de riego e infiltración de la precipitación.
Descarga natural	Principalmente al río Tajo.
Permeabilidad	Variable de baja a muy alta. En la zona de estudio es muy alta (Figura 4).
Composición química	De acuerdo a las estaciones de control, el agua es mayoritariamente Sulfatada-Bicarbonatada Cálcica (Diagrama de Piper).

Fuente: Estudio General sobre la Demarcación Hidrográfica del Tajo (2007)

Figura 4. Mapa de Permeabilidad MAS Jarama-Tajuña. Fuente: Red de Control de Calidad Aguas Subterráneas- Confederación Hidrográfica del Tajo



2.3.4. PROBLEMÁTICA AMBIENTAL

La problemática ambiental del acuífero del río Jarama viene dada por sus características intrínsecas, tanto geológicas como geográficas. Las geológicas se detallan en este apartado y las geo-

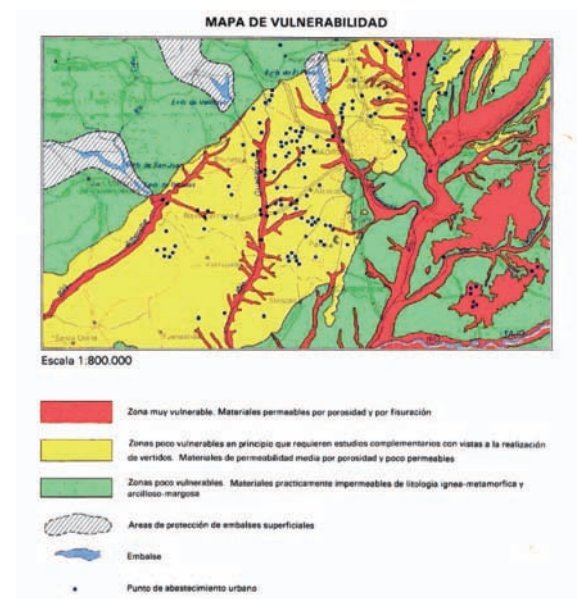
gráficas, están relacionadas a la cercanía que tiene este sistema con el principal foco de desarrollo urbano, como es Madrid.

En el Mapa Hidrogeológico de España escala 1:200.000 (45, Madrid), se ha determinado la vulnerabilidad de los diferentes acuíferos (Figura 5), siendo los aluviales los de mayor vulnerabilidad, en este caso, el acuífero del río Jarama no es la excepción. La memoria de este mapa describe que el impacto contaminante sobre estos acuíferos puede ser muy elevado y de difícil solución si llega a degradar la calidad de las aguas subterráneas. Los focos contaminantes que mayor interés demandan son clasificados en extensivos y puntuales. Los primeros se originan debido a las prácticas agrícolas (abonos, pesticidas, etc.) y los segundos por la concentración local de vertidos principalmente de origen urbano e industrial.

Otro de los factores que genera impacto sobre el acuífero del río Jarama, es la extracción de áridos. Con el emplazamiento de una gravera sobre el acuífero se pueden generar diversos efectos, tal y como lo señala Bardají et al. (1990). Si la extracción se genera por debajo del nivel freático algunas de las incidencias son:

- Desaparición física de una parte del acuífero.
- Descenso en el nivel freático en el área de extracción, teniendo como consecuencia la modificación de la red de flujo.
- Descenso del nivel del agua subterránea en el entorno del agua explotada, lo que se traduce en el descenso de los caudales de explotación de los pozos.
- Aparición de lagunas residuales.
- Susceptibilidad a la degradación de la calidad del agua de tales lagunas por causas naturales -salinización progresiva por efecto de la evaporación- o artificiales -vertidos incontrolado de todo tipo de residuos-.
- Incremento del riesgo de contaminación de las aguas subterráneas en el entorno.

Figura 5. Mapa de Vulnerabilidad



Fuente: Mapa hidrogeológico de España escala 1:200.000, 45 (Madrid).



Si la explotación se realiza por encima del nivel freático las afecciones serán:

- Desaparición del soporte susceptible de albergar agua subterránea en el supuesto de incrementos del nivel por causas naturales (ciclos húmedos) o artificiales (recarga artificial).
- Descenso del nivel de protección de las aguas subterráneas frente a la contaminación procedente de la superficie, por aproximación de ésta al límite superior de la zona saturada.
- Posibilidad de percolación hacia el acuífero de sustancias contaminantes, hipotéticamente contenidas en los rellenos (cuando éstos se producen), movilizadas por las aguas de infiltración.

En síntesis la explotación de áridos sobre este acuífero, causa efectos de importante significancia, una razón más, que sustenta la alta vulnerabilidad del acuífero.

Por otra parte, con la Directiva Marco del Agua se busca que las masas de agua subterránea cumplan los objetivos medioambientales, para lo cual se realiza un análisis de presiones e impactos de las actividades antropogénicas sobre estas. En el Estudio General sobre la Demarcación Hidrográfica del Tajo (2007), se presenta el análisis para masa de agua "Aluviales Jarama-Tajuña", en el cual se identifican que las presiones de origen puntual son menos importantes, que las de origen difuso que son importantes, las cuales conjugadas en un enfoque global resultan en la categoría de importantes, haciendo que la masa de agua se encuentre en un estado de riesgo medio.

3. METODOLOGÍA

La modelación 3D del acuífero detrítico del sector I del tramo bajo del río Jarama se ha centrado en su delimitación geométrica, a fin de conocer la disposición en profundidad de los depósitos aluviales que conforman el acuífero y las variaciones de espesor que estos presentan. La definición del modelo ha partido de la integración del Modelo Digital de Elevación (MDE) y la información geológica, geofísica, e hidrogeológica del *Estudio para la ordenación de la actividad extractiva en el tramo bajo del río Jarama* (Bardají et al., 1990), mediante el uso de los programas ArcGIS 9.3 y ArcView 3.2 principalmente.

La metodología constructiva que se ha utilizado, ha consistido en obtener por separado las superficies de techo y muro de cada una de las unidades geológicas para finalmente unificarlas en un único modelo. Los datos de dichas superficies se han derivado a partir de los cilindros 3D construidos con la extensión 3DCB (3D Core Building) de Arcview 3.2 que muestran claramente la disposición en profundidad de los cuerpos geológicos del acuífero: su espesor, límites y su disposición espacial con respecto a otros cuerpos.

3.1. PROGRAMAS INFORMÁTICOS

Para construir el modelo, se han empleado los siguientes programas informáticos:

- *AUTOCAD* (Autodesk, 2009): este programa se empleó para correlacionar los perfiles topográficos, con los perfiles del estudio (Bardají et al., 1990).
- *ARC GIS 9.3* (ESRI, 2008): de esta plataforma se emplearon los siguientes programas.
 - *ARC/INFO (WORKSTATION)*: se utilizó para digitalizar la información cartográfica y crear los perfiles topográficos.
 - *ARC/MAP*: empleado para elaborar los mapas y visualizar la información cartográfica. Con la extensión *georeferencing* se realizó la georreferenciación de mapas, y con la extensión *3D analyst* se hicieron las interpolaciones.
 - *ARC/SCENE*: con este programa se visualizó la información generada en 3D (cilindros, superficies, MDE, etc.).
- *ARC VIEW 3.2* (ESRI, 1998): empleado para la construcción de los cilindros 3D a partir de la extensión *3D Core Builder (3DCB)* del Indiana Geological Survey (O'Neill, 1999), indicar que la extensión 3DCB funciona con el módulo *3D Analyst* de ArcView.

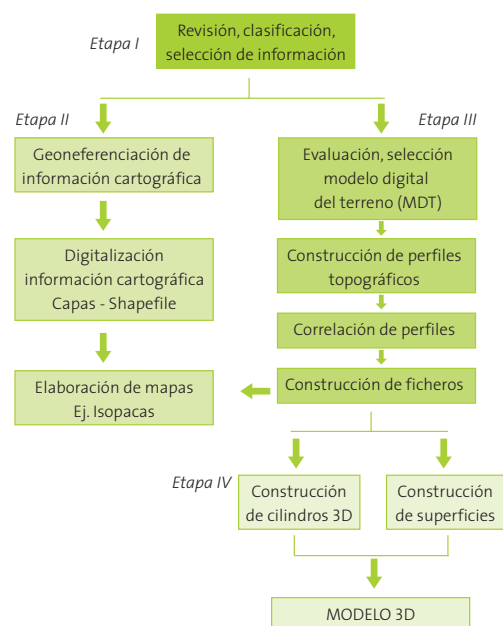
3.2. PROCESO METODOLÓGICO

El proceso metodológico empleado para la construcción del modelo geológico 3D se dividió en cuatro etapas, así:

- Revisión de información.
- Generación de la cartografía digital – Mapas.
- Construcción de perfiles.
- Generación del modelo 3D.

A continuación, se presenta el esquema metodológico general.

Figura 6. Esquema metodológico construcción Modelo





3.2.1. REVISIÓN DE INFORMACIÓN

La primera etapa en el proceso de modelado geológico ha consistido en recopilar, clasificar y seleccionar la información útil y necesaria. Este trabajo inicial, aunque exigente, resulta esencial para poder construir un modelo aceptable.

La principal fuente de información de este trabajo ha sido el *Estudio para la ordenación de la actividad extractiva en el tramo bajo del río Jarama* (Bardaji et al., 1990). El objeto de este estudio fue la elaboración de un plan de ordenación y gestión que permitiese el uso racional de los recursos mineros, en este caso particular la extracción de áridos; el plan diseñado partió de un análisis detallado del sistema acuífero, el cual consideró los componentes hídricos, geológicos, e hidrogeológicos, además de calcular los volúmenes de áridos disponibles por encima y por debajo del nivel freático.

El área de estudio del mencionado trabajo se dividió en tres zonas, cada una de ellas definidas por las hojas del Mapa Topográfico Nacional, escala 1:50.000:

- Zona Norte: Hojas número 559 (Madrid) y 560 (Alcalá de Henares).
- Zona Centro: Hojas número 582 (Getafe) y 583 (Arganda del Rey).
- Zona Sur: Hojas 605 (Aranjuez) y 606 (Chinchón).

En este trabajo también se han integrado parte de los resultados obtenidos en un estudio previo realizado por Sandra García en la edición 2010 de este mismo Máster (*Modelado 3D del acuífero detrítico del tramo bajo del río Jarama*) que es la continuación hacia el sur de la zona del presente trabajo.

Cabe destacar que la información cartográfica del *Estudio para la ordenación de la actividad extractiva en el tramo bajo del río Jarama* (Bardaji et al., 1990) empleada en este trabajo, corresponde a mapas escaneados y no a los mapas originales, por tanto la calidad y precisión de la información obtenida ha de ser tenida en cuenta en los resultados finales de este trabajo.

Como información complementaria y necesaria para la construcción de un modelo válido, se seleccionó información cartográfica básica de la comunidad de Madrid (hojas topográficas, shapefiles de curvas de nivel, red hídrica, etc.), así como ortoimágenes de 0,5 m de resolución del área de interés. Las ortoimágenes permitieron obtener un mayor detalle de las condiciones físicas del área a modelar, además sirvieron para precisar trazados de ríos, lagunas, áreas de extracción minera, y límites de unidades geológicas, elementos indispensables en la construcción del modelo.

3.2.2. GENERACIÓN DE CARTOGRAFÍA DIGITAL

La información cartográfica digital derivada de esta fase y las siguientes se ha estructurado y homogenizado en la base de datos geográfica del proyecto. La cartografía digital es el punto de partida para ejecutar cualquier proceso en un Sistema de Información Geográfico (SIG), por tanto la obtención de esta, es el primer paso para la construcción del modelo 3D.

3.2.2.1. Georreferenciación

La georreferenciación es el procedimiento que consiste en asignar un sistema de referencia espacial a los mapas escaneados de este estudio con unas coordenadas determinadas, en este caso el sistema de coordenadas definido fue WGS 1984 UTM 30, proyección Transverse Mercator, este procedimiento se realizó con la herramienta *Georeferencing* de *ArcGIS 9.3*. Los mapas georreferenciados fueron los correspondientes a la geología, hidrogeología, isopiezas (1973, marzo-abril de 1989, septiembre de 1989), perfiles de sondeos eléctricos verticales (en adelante, SEV) y perfiles hidrogeológicos.

3.2.2.2. Digitalización de la información cartográfica

Una vez georreferenciados los mapas se procedió a digitalizar la siguiente información:

- Mapa de geología: se digitalizó cada una de las unidades litológicas definidas en el mapa original, así como las estructuras geológicas. La información geológica fue complementada con la información del Mapa geológico de España, Escala 1:50.000 – Hojas: Madrid (559), Alcalá de Henares (560).
- Mapa de isopiezas: se digitalizaron los mapas de isopiezas para diferentes los períodos: agosto de 1973, marzo-abril de 1989 y septiembre de 1989, las líneas de isopiezas en cada uno de estos mapas se encuentran con intervalos de 2 m.
- Perfiles de SEV: se digitalizaron las 7 líneas de los perfiles de SEV correspondientes a la zona norte y se añadieron los 11 perfiles del estudio de García (2010).
- Perfiles hidrogeológicos: se digitalizaron un total 10 líneas de perfiles hidrogeológicos que cubrían las zonas de estudio.

3.2.3. CONSTRUCCIÓN DE PERFILES

Para construir este modelo geológico 3D, ha sido necesario disponer de un modelo digital de terreno y datos de profundidad del techo y muro de las unidades geológicas que constituyen los límites del acuífero. A continuación se detalla el procedimiento empleado para integrar dicha información en el modelo.

3.2.3.1. Modelo digital de elevación (MDE)

A fin de definir el modelo digital de elevación (MDE) más adecuado para la modelación, se realizó un proceso de comparación entre tres modelos, el primero corresponde al MDE de la Comunidad de Madrid con tamaño de pixel de 50 m, el segundo corresponde también a un MDE de la Comunidad de Madrid pero en este caso con un tamaño de pixel de 25 m, y por último un MDE generado a partir de curvas de nivel cada 5 m. El primero se descartó por ser poco preciso para la escala de trabajo, en concreto no mostraba con suficiente detalle las zonas de explotación minera. El tercer modelo, a pesar de tener información más detallada, no daba la resolución esperada, por tanto, el modelo seleccionado para este trabajo fue el realizado por la Comunidad de Madrid con tamaño de pixel de 25 m. En la figura 7 se presenta un ejemplo de la comparación de los tres modelos.

Figura 7. Comparación de los Modelos Digitales de Elevación (MDE)

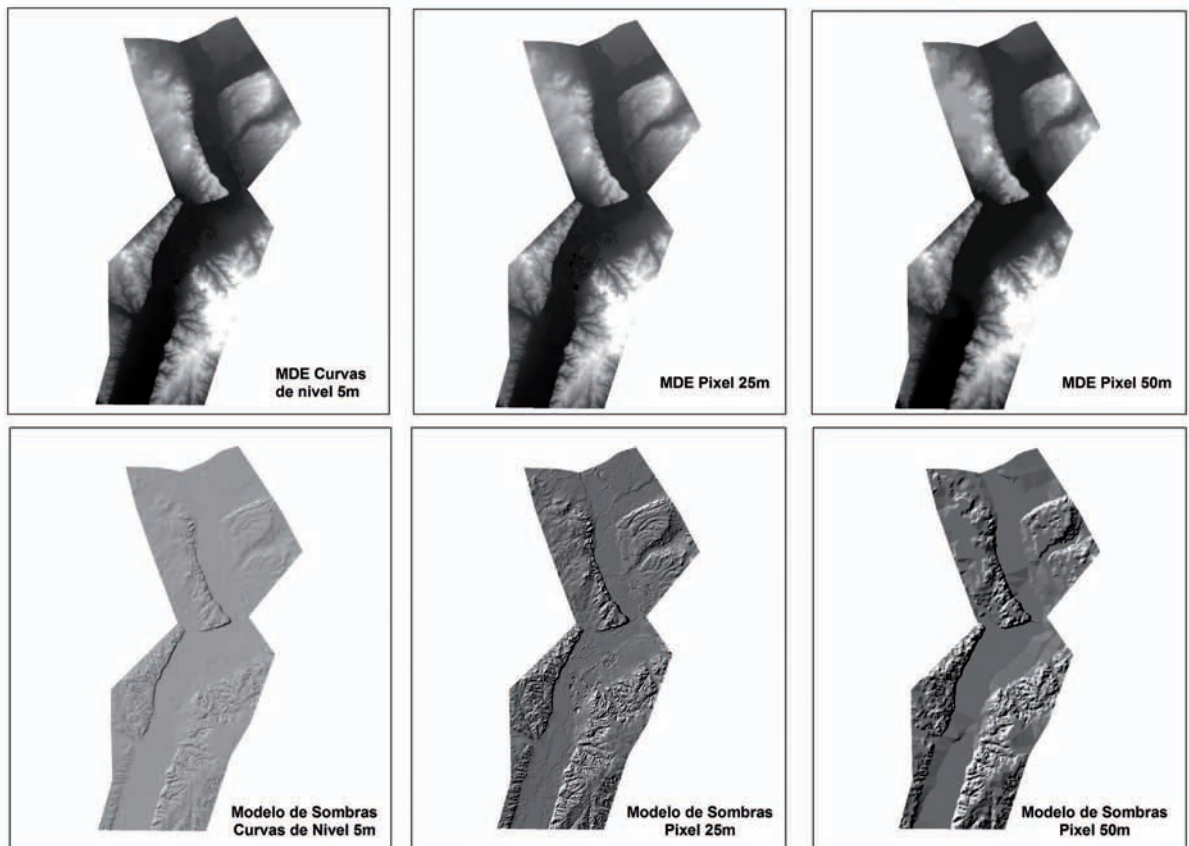
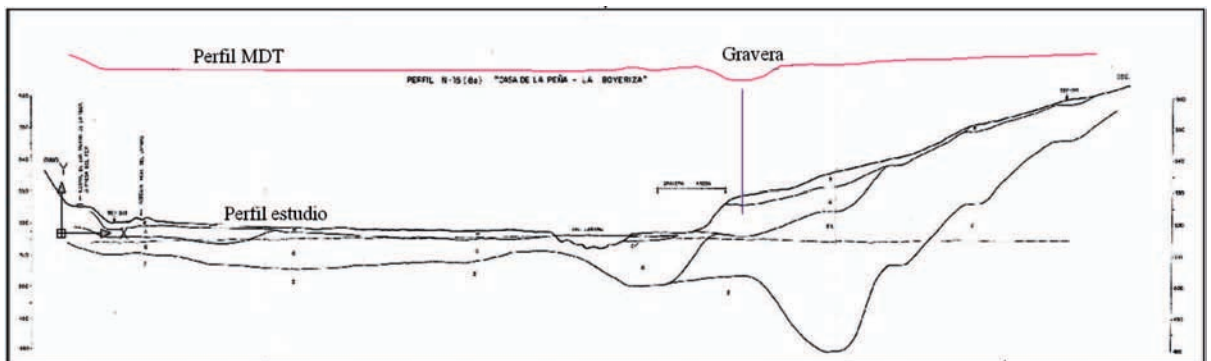


Figura 8. Correlación de perfiles – variación de la topografía



3.2.3.2. Construcción de perfiles topográficos

Empleando la herramienta *Grid de Arcinfo* (Workstation) y las capas de líneas de los perfiles de SEV e hidrogeológicos y el MDE, se construyeron los perfiles topográficos requeridos para establecer los espesores de las unidades litológicas que conforman el acuífero del río Jarama.

3.2.3.3. Correlación de perfiles

En el estudio de Bardají et al. (1990) se presentan los perfiles hidrogeológicos y de SEV realizados en la campaña geofísica. En ellos se observa claramente la conformación topográfica del terreno y la disposición en profundidad de los depósitos aluviales que conforman el acuífero. En el proceso de construcción de

los perfiles topográficos a partir del MDE se observa que la topografía ha sufrido modificaciones (construcción de estructuras como diques, generación de lagunas, profundización en áreas de explotación, etc.). Por tanto, los espesores de la unidad gravas (aluviales del río Jarama) se ven también afectados. En la figura 8 se muestra un claro ejemplo de las modificaciones que ha sufrido la topografía desde 1990.

La estimación de los espesores y la correlación de los perfiles, se realizó en *Autocad*, ya que este permitía establecer una relación horizontal (escalado) entre los perfiles de estudio y los obtenidos del MDE.

La correlación entre los perfiles del estudio (Bardají et al., 1990), y los obtenidos a partir del MDE, permite definir con mayor pre-



cisión los espesores que actualmente pudiera tener la unidad de gravas. Aunque este ejercicio da una buena aproximación, es importante mencionar que los perfiles obtenidos del MDE se encuentran a escala real tanto en la vertical como en la horizontal, mientras que los del estudio presentan una escala horizontal (1:5.000), y otra vertical (1:500), factor que de alguna manera añade errores a la estimación.

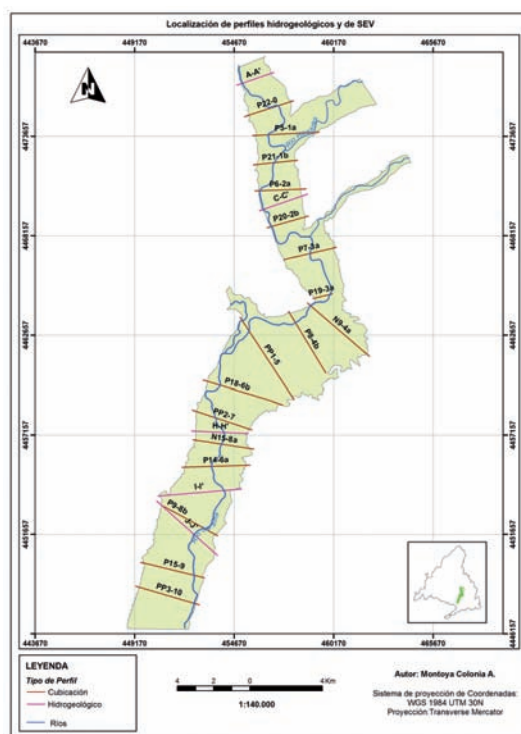
3.2.3.4. Construcción de ficheros

Después de hacer la correlación de perfiles y valorar la información de estos, se definieron los perfiles que se iban a emplear en la construcción del modelo, en la figura 9 se muestra la ubicación de estos.

Cada una de las líneas de los perfiles escogidos, fue dividida en segmentos de 50 m; a partir de los segmentos se generó una capa de puntos, cada punto corresponde con un punto del perfil topográfico y del perfil del estudio; por tanto con estos puntos se pueden calcular los espesores de las unidades litológicas que constituyen el acuífero, principalmente la de los depósitos aluviales – “gravas” - unidad hidrogeológica de interés; el espesor saturado de esta unidad también se calculó. Cada uno de estos puntos está definido por un par de coordenadas X y Y. Esta capa de puntos es la base para construir los ficheros.

Los ficheros son un tipo de archivo con información alfanumérica que sirve para generar información cartográfica espacial. En el este estudio se generaron dos tipos de ficheros, unos de tipo .txt requeridos para generar los cilindros 3D y los otros de tipo .xls (Excel) para generar las superficies litológicas y los mapas de isopacas.

Figura 9. Localización de perfiles Hidrogeológicos y de SEV



- *Ficheros .txt*: a estos corresponden dos archivos, uno de localización y el otro de litología. El archivo de localización, contiene los pares de coordenadas (X, Y) para cada uno de los puntos. El archivo de litología, almacena la información de la litología en profundidad de cada uno de los puntos, es decir, que cada punto “X, Y” recoge la cota del techo (denominada “top”) y la cota del muro (denominada “bottom”) de cada unidad litológica. (García, M. S., 2010). El archivo de litología se duplicó para los puntos que tenían espesores saturados. En la siguiente tabla se presenta el esquema de los ficheros.

Tabla III. Estructuración de los ficheros .txt

Archivo	Campo	Descripción
Localización.txt	POINT ID	Identificador único del punto
	X	Coordenada x
	Y	Coordenada y
	GRID CODE	Elevación del punto (cota)
Litología.txt	POINT ID	Identificador único del punto (mismo número que en el archivo de <i>Localización</i>).
	TOP	Elevación del techo de la unidad litológica.
	BOTTOM	Elevación del muro de la unidad litológica. Litología
	TYPE	Identificador de la litología (gravas, yesos, margas).

- *Ficheros .xls*: se generaron dos archivos, uno para el muro de las gravas y otro para el techo de las gravas saturadas, el muro de las gravas saturadas no se consideró puesto que coincide con el de las gravas; en estos ficheros se consideran los espesores de las unidades y las cotas límites de estas. En la siguiente tabla se presenta el esquema de los archivos.

Tabla IV. Estructuración de los ficheros .xls

Archivo	Campo	Descripción
Gravas.xls	POINT ID	Identificador único del punto
	X	Coordenada x
	Y	Coordenada y
	BOTTOM	Cota del muro de las gravas
Gravas_saturadas.xls	POINT ID	Identificador único del punto
	X	Coordenada x
	Y	Coordenada y
	ESPESOR	Espesor de las gravas saturadas

3.2.4. GENERACIÓN DEL MODELO 3D

3.2.4.1. Construcción de cilindros 3D

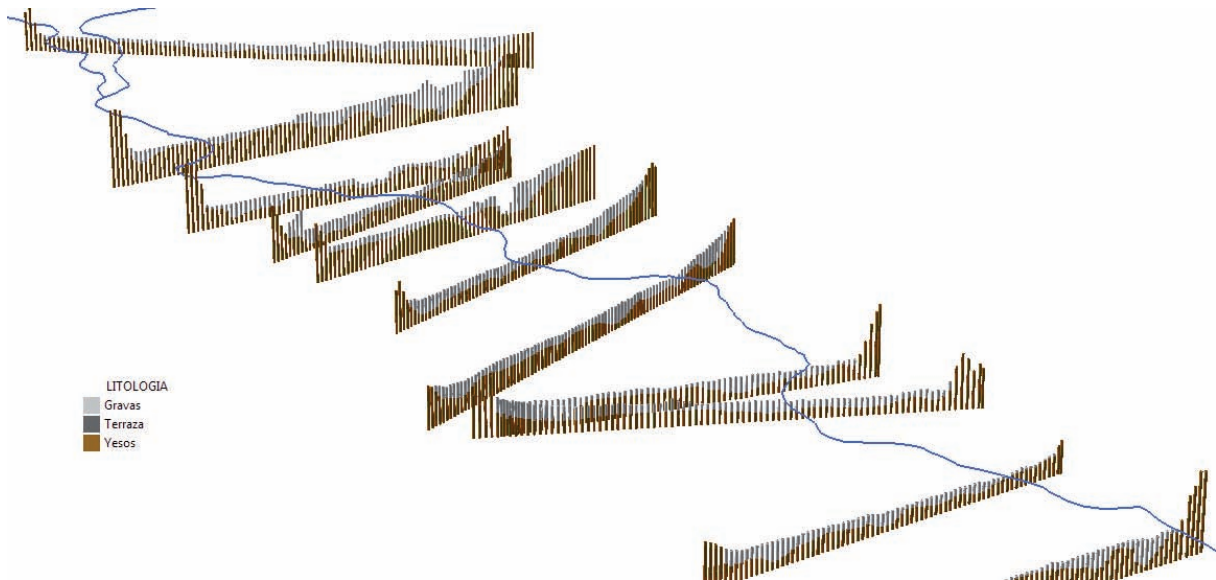
Los cilindros 3D se construyen a partir de los archivos “Localización.txt” y “Litología.txt”, empleando la extensión 3DCB para ArcView con 3D Analyst. El diámetro establecido para la cons-



Figura 10. Vista tridimensional de los cilindros del perfil PP1-5 con el río Jarama (5x)



Figura 11. Vista tridimensional de los cilindros en sector sur con el río Jarama (5x)



trucción de los cilindros fue de 25 m, esto es debido a que al espaciado entre los puntos fue de 50 m.

La representación de los cilindros se hace mediante escenas de ArcScene de ArcGIS 9.3; dado que los espesores de las gravas no son muy grandes desde un punto de vista regional, fue necesario incluir a las escenas un factor de exageración de 5 puntos, de tal manera que se pudieran apreciar bien las relaciones entre las unidades litológicas. A continuación se muestran algunos ejemplos de los cilindros generados (Figuras 10 y 11).

3.2.4.2. Construcción de superficies

Las superficies construidas para integrar el modelo, corresponden a las del muro y techo de la unidad de gravas. La superficie del muro se construyó a partir de la interpolación de la capa de puntos obtenida del archivo gravas.xls. La interpolación se realizó a partir del campo BOTTOM, empleando el método *Spline*³ tipo tensión del módulo 3D Analyst de ArcGIS 9.3, los parámetros considerados fueron: peso 5, número de puntos 12 y tamaño de celda 50 m. El techo de las gravas se obtuvo directamente del MDE. En las figuras 12 y 13 se muestran las superficies.

Para las gravas saturadas también se construyó la superficie del techo, la interpolación en este caso se hizo a partir de la capa de puntos generada del archivo gravas_saturadas.xls, la interpolación se realizó a través del campo TOP, y los parámetros de interpolación son los mismos que en el caso descrito anteriormente.

Figura 12. Superficie del techo de las gravas



³ Este método de interpolación de uso genérico ajusta una superficie de curvatura mínima a través de los puntos ingresados.



Figura 13. Superficie del muro de las gravas



3.2.4.3. Modelo 3D

El modelo 3D es el resultado de la integración de los cilindros 3D y las superficies litológicas, la visualización del modelo se hace a través de ArcScene de ArcGIS 9.3.

Figura 14. Superficie del muro de las gravas y cilindros 3D (5x) y río Jarama

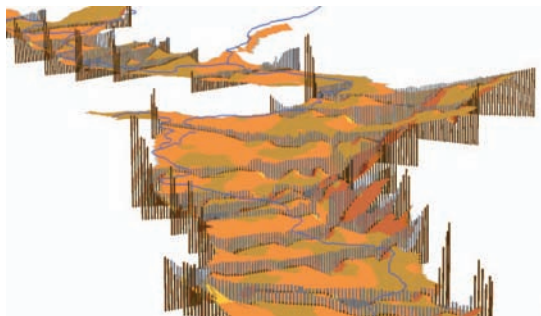
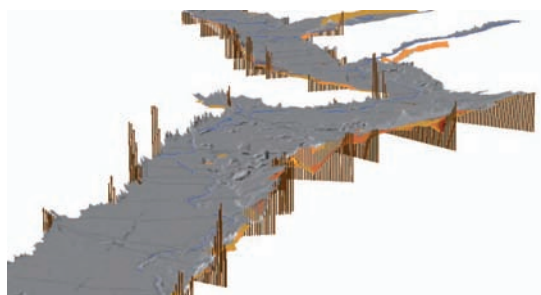


Figura 15. Superficies de techo y muro de las gravas y cilindros 3D (5x) y río Jarama



4. RESULTADOS

4.1. MAPA GEOLÓGICO

El mapa geológico del área de estudio, se obtuvo de la digitalización del mapa geológico del estudio de Bardají et al. (1990) como se mencionó anteriormente, y es el que se presenta en la sección de geología del presente documento.

La información del mapa geológico de la zona de estudio fue revisada, corregida y generalizada (Figura 16), con el objeto de ser integrada dentro del modelo que se había obtenido de García (2010).

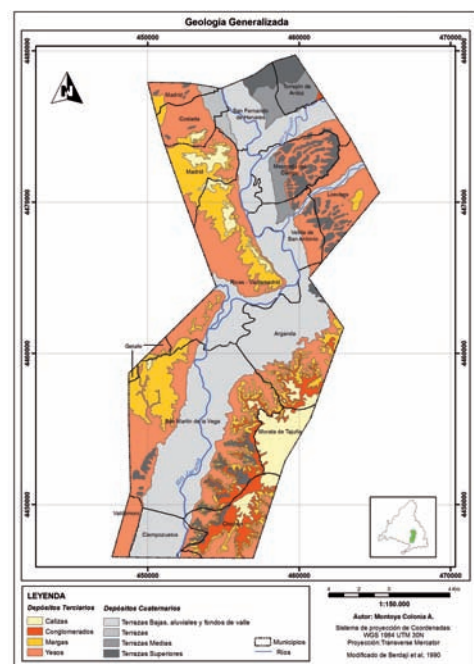
El proceso de generalización consistió en integrar las diferentes formas aluviales (conos cauces de afluentes), coluviales (glacis) y antrópicas (echadizos, lagunas de explotación minera) en la unidad de "Terrazas Bajas, aluviales y fondos de valle", de tal manera que los depósitos cuaternarios quedaran claramente definidos en los 3 conjuntos de terrazas y la modelación fuera más precisa y coherente.

4.2. MAPAS DE ISOPIEZAS

A partir de las capas de isopiezas, se construyeron las superficies freáticas para cada uno de los periodos de agosto de 1973, abril-marzo de 1989, y septiembre de 1989. Para conseguir estas superficies, lo primero que se hizo fue dividir las líneas de isopiezas en segmentos de 25 m, a partir de los cuales se creó una capa de puntos. Con la capa de puntos se realizó una interpolación empleando el método *Inverso de la Distancia*⁴ (3D Analyst, ArcGIS 9.3), los parámetros empleados en este método fueron: radio fijo, distancia y número de puntos 150 y tamaño de pixel de 50 m.

Además de calcular las superficies freáticas para estos periodos, se calculó la superficie freática "aparente" definida en los cilindros 3D. En este caso la superficie freática corresponde con la del techo de las gravas saturadas. Se habla de superficie freática aparente, porque esta se obtiene ajustando el espesor de los perfiles topográficos con la información de los perfiles hidrogeológicos y de los SEV. Para conseguir información más precisa sería necesario disponer de datos más recientes de piezometría. La superficie freática final se consiguió mediante la interpolación de la capa de puntos generados a partir del archivo gravas_saturadas.xls (campo TOP). El método de interpolación empleado fue el *Inverso de la Distancia* con los mismos parámetros que se describieron anteriormente. En la figura 17 se presenta la evolución de las superficies freáticas.

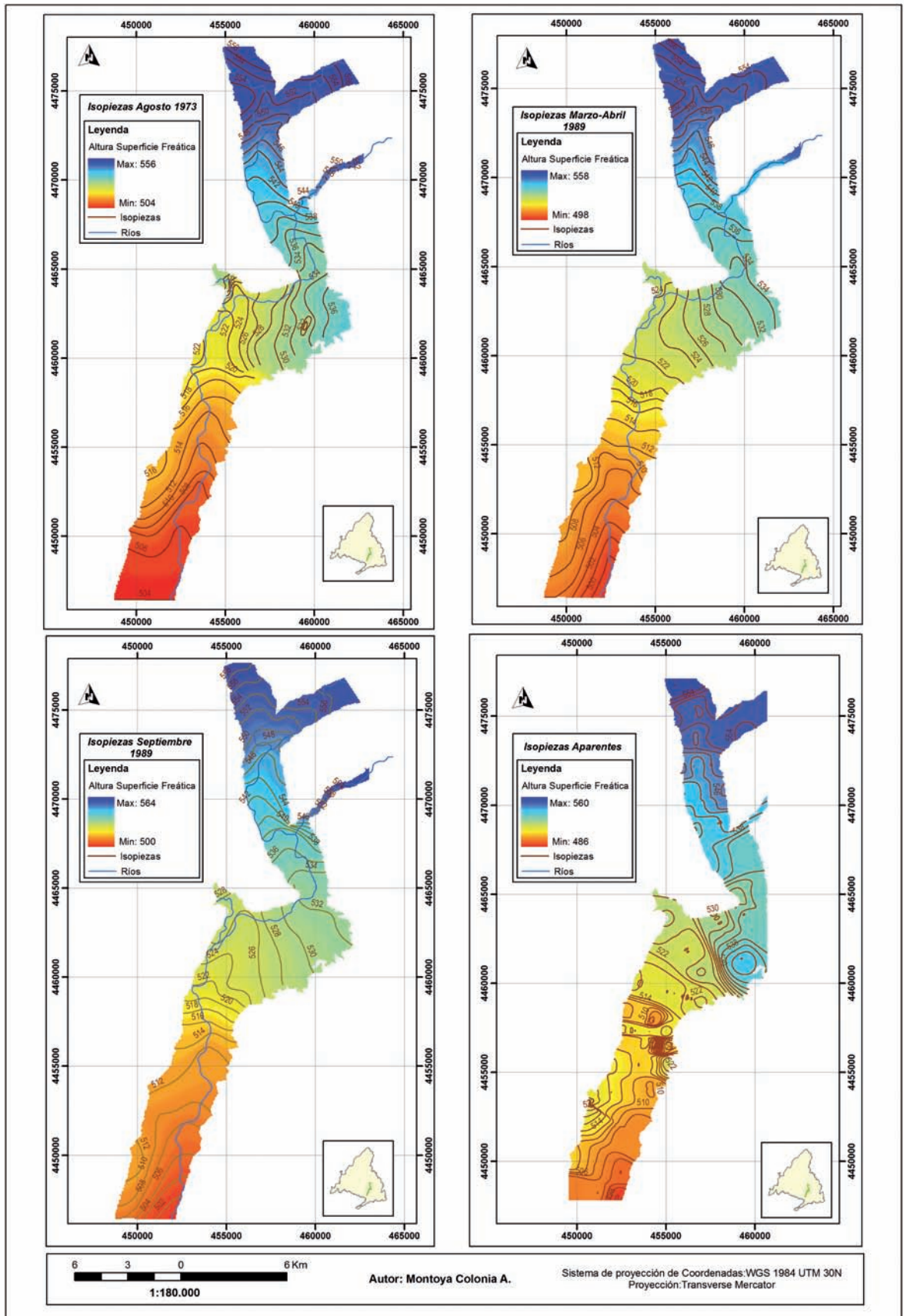
Figura 16. Mapa geológico generalizado



⁴ Este método de interpolación asume que cada punto posee una influencia local que disminuye con la distancia. De esta manera, el método pondera con mayor fuerza a los puntos cercanos a la celda proceso y con menor intensidad sobre aquellos ubicados a mayor distancia.



Figura 17. Evolución de la superficie freática





De manera general, el trazado de las isopiezas en los diferentes mapas, muestra que el acuífero presenta un flujo paralelo al río Jarama, donde este es ganador, sin embargo en el mapa de isopiezas aparentes se observan depresiones puntuales, donde el nivel freático baja bruscamente y el río Jarama se comporta como perdedor.

4.3. MAPAS DE ISOPACAS

Se construyeron dos mapas de isopacas, uno para la unidad total de gravas, a fin de conocer la distribución y concentración de áridos, y otro en el que se representan los espesores de la unidad de gravas saturadas, que permiten inferir los lugares donde se puede hacer mayor aprovechamiento del agua subterránea.

Los mapas de isopacas se construyeron a partir de las capas de puntos obtenidas de los ficheros *gravas.xls* y *gravas_saturadas.xls*. Las capas de puntos se interpolaron a partir del campo espesor, el método de interpolación empleado fue *Inverso de la Distancia (3D Analyst, ArcGIS 9.3)*, y los parámetros considerados fueron: radio fijo, distancia y número de puntos 150 y tamaño de pixel de 50 m. Los mapas se presentan en la figura 18.

Las curvas isopacas permiten definir la variación del espesor de la unidad litológica de gravas, y estas a su vez, dan una aproximación de la dimensión del acuífero y del yacimiento de áridos.

El espesor de la unidad litológica de gravas varía desde 1 hasta 59 metros, los mayores espesores se concentran hacia la mar-

gen izquierda del río Jarama, y los menores hacia las confluencias de los ríos Henares y Manzanares. De acuerdo a Bardaji et al. (1990), los aumentos anómalos de potencia de las gravas en el conjunto inferior y medio (en Arganda y en San Martín de la Vega) pueden deberse a procesos de disolución de yesos y generación de huecos (hundimiento) en los que los sedimentos se han acumulado. Las isopacas de las gravas saturadas, muestran una relación directa con las isopacas de la unidad de gravas.

4.4. MODELO 3D

El modelo 3D permite tener una visualización más detallada del acuífero, de tal modo que se puede observar la variación en los espesores, identificar los sectores sobre los cuales hay disminución en el nivel freático y entender claramente la relación del sistema río-acuífero. En las figuras que se presentan a continuación se ilustran dichos aspectos.

A partir del modelo se pudo calcular también el volumen total de gravas y el volumen de gravas saturadas, obteniéndose los valores de 7.060,50 hm³ y 3.395,70 hm³ respectivamente, de acuerdo con los datos de partida de Bardaji et al. (1990). Los cálculos se realizaron a través de la función *Surface Analyst* del módulo *3D Analyst* de *ArcGIS 9.3*. Con el volumen de gravas saturadas y el coeficiente de almacenamiento del acuífero (0.7) se calculó el volumen de agua disponible, en otras palabras se hizo el cálculo de las reservas del acuífero, obteniéndose un valor de 2.376,99 hm³. Debe tenerse en cuenta que este valor es apro-

Figura 18. Mapas de isopacas

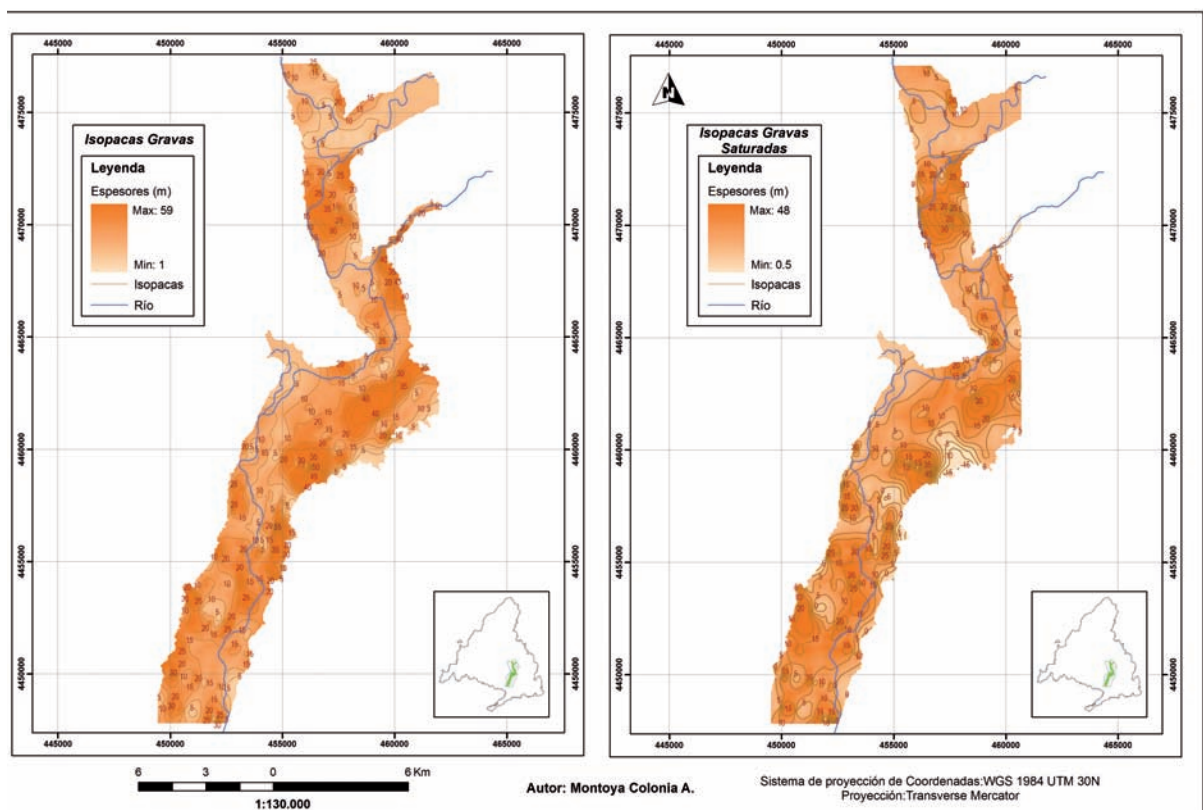




Figura 19. Variación de espesores (5x)

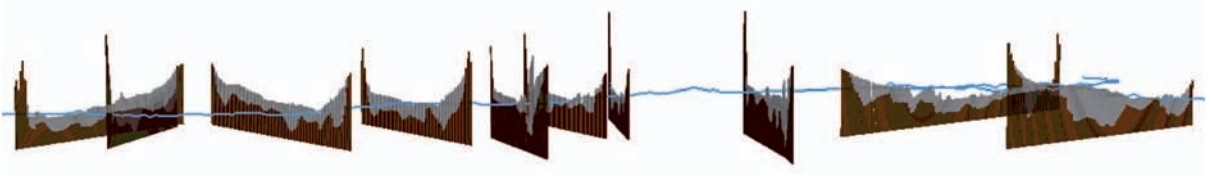


Figura 20. Variación de espesores saturados – nivel freático (5x)

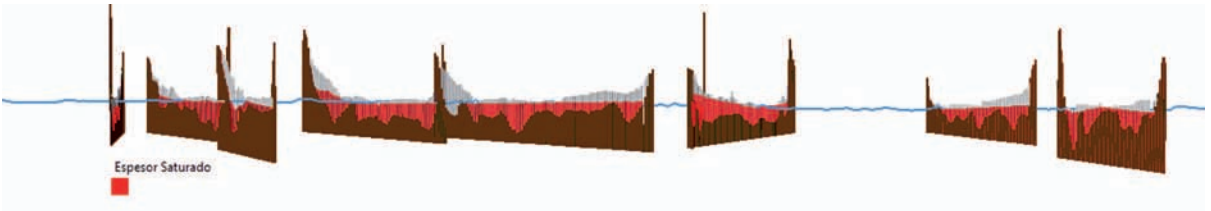


Figura 21. Visualización 3D de la superficie del muro de las gravas (5x)

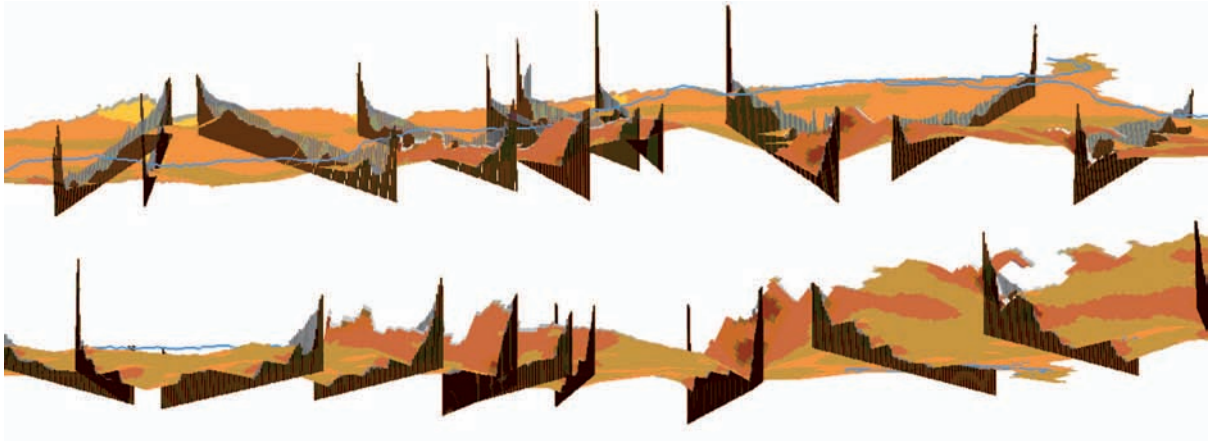
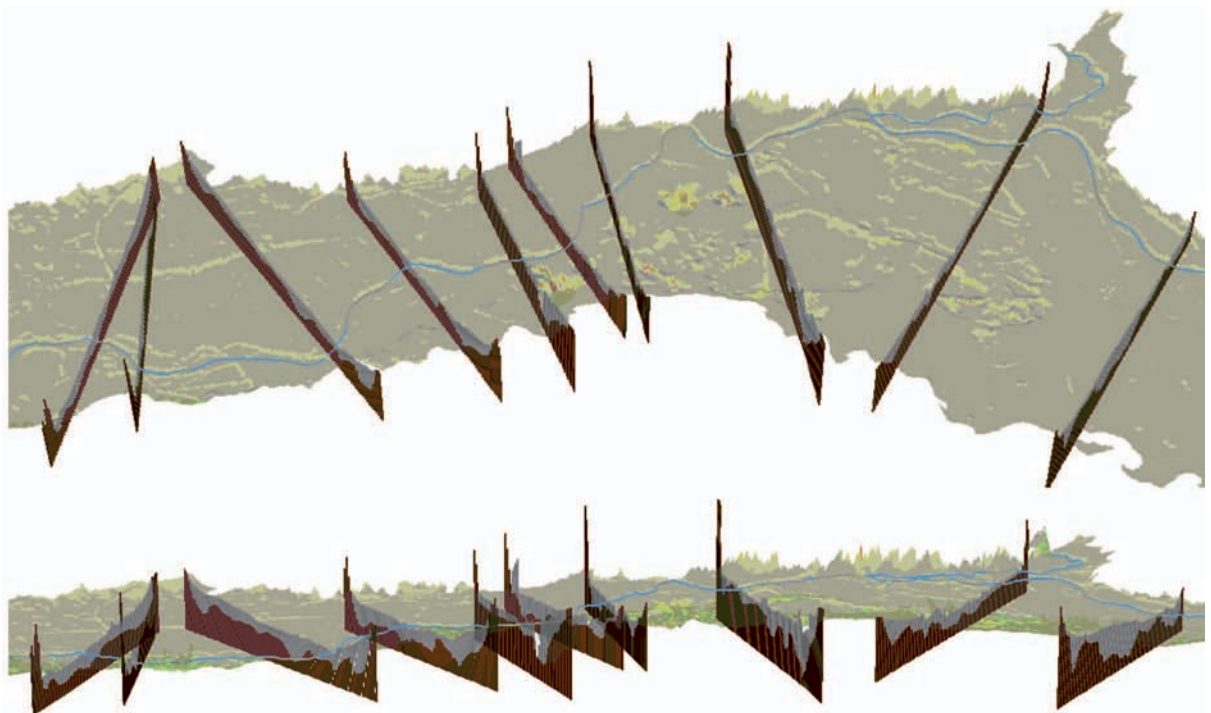


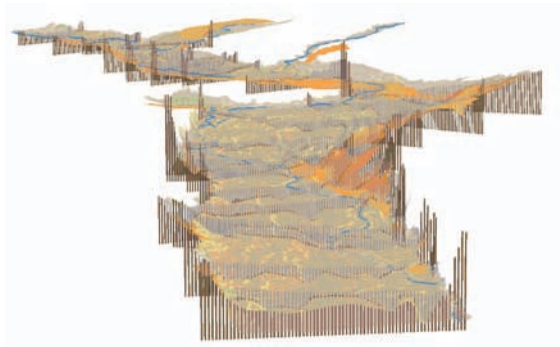
Figura 22. Visualización 3D de la superficie del techo de las gravas (5x)





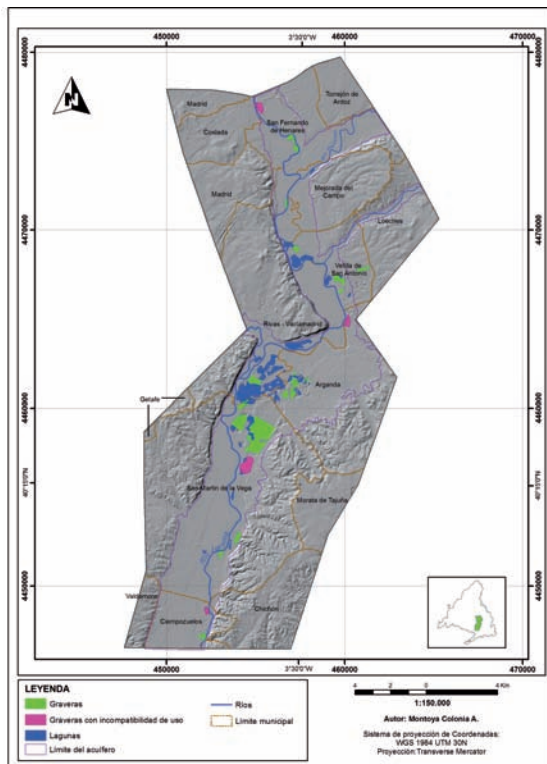
ximado y solo deberá ser empleado como referencia, ya que para tener un valor preciso es necesario obtener un balance hídrico exhaustivo y completo, así como un hacer un seguimiento detallado y actualizado de los niveles piezométricos del acuífero.

Figura 23. Modelo 3D (5x)



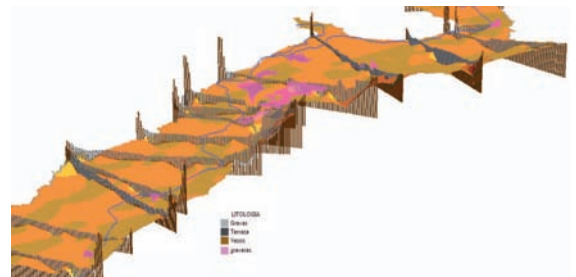
Un análisis detallado de la localización de las explotaciones de áridos⁵ con respecto al modelo del acuífero (Figura 25) pone de manifiesto que las graveras se sitúan principalmente en el margen izquierda del río Jarama coincidiendo con los sectores de mayor espesor. Algunas también se localizan muy cerca del cauce del río, donde hay incompatibilidad de usos, puesto que se encuentran en la franja de protección del río (Artículo 30.4 Ley6/94), dentro del Parque Regional Sureste.

Figura 24. Localización de Graveras



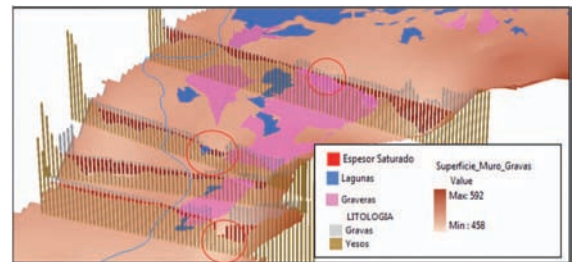
⁵ Inventario de graveras del informe *Explotaciones de áridos en suelos incompatibles del Parque Regional del Sureste* y explotaciones identificadas en las ortoimágenes.

Figura 25. Vista tridimensional de la localización de graveras



Por otra parte, se ha podido comprobar que en las zonas de las explotaciones intensivas de áridos se ha modificado notoriamente la topografía del terreno, comparando la topografía actual con la presentada en los SEV. También se aprecia un descenso acusado del nivel freático en estas zonas de explotación, y la formación de lagunas derivadas de esta actividad extractiva de áridos (Figura 26).

Figura 26. Cambios en la topografía y descensos en el nivel freático



5. DISCUSIÓN

De modo general señalar que aunque los resultados obtenidos en este trabajo con la modelización 3D del acuífero detrítico pueden considerarse válidos, es importante resaltar que la información de partida con la que se desarrolló el modelo presenta deficiencias de calidad y fiabilidad suficiente para construir un modelo que permita trabajar a una escala de detalle, la variabilidad de escalas en la información, desde 1:50.000 del MDE hasta 1:10.000 de la cartografía temática, introducen factores de distorsión que implica una escala de trabajo máxima del modelo 1:50.000. A pesar de esto, la metodología empleada para generar el modelo consideró dichos factores de distorsión realizando validaciones del modelo y efectuando correcciones. Para ello se consideraron fuentes adicionales y más recientes de información con mayor detalle y precisión, como el caso de los modelos digitales del terreno y las ortoimágenes, que facilitaron el ajuste de la información y la creación de un modelo más realista.

Es importante destacar en este apartado que a pesar que se hicieron ajustes a la información, no se debe olvidar que la fuente de información primaria es superior a 20 años, por tanto el modelo es solo una aproximación y no una realidad. Es necesario para mejorar el modelo, incorporar datos más actuales tanto de piezometría como de espesores, de ser posible debe incluirse una nueva campaña geofísica de sondeos eléctricos verticales.



Aunque existen diversas tecnologías para generar modelos en tres dimensiones, la elección de cada una de ellas va estar en función de la cantidad y calidad de los datos disponibles, así como del objetivo que se quiera conseguir. Por tanto para este proyecto se emplearon las tecnologías de ArcGIS 9.3 y ArcView 3.2 que permiten el manejo de grandes volúmenes de información y presentan gran versatilidad de herramientas para los diferentes procesos que se requieren en la construcción del modelo; desde la digitalización de información cartográfica, hasta la integración de la información en una base de datos geográfica, y la generación y visualización del modelo 3D.

La metodología empleada en este trabajo puede ser extendida para el resto del acuífero, a fin de que toda la MAS quede modelada de modo coherente y unificada para el sector bajo del Jarama.

6. CONCLUSIONES

Los resultados de un modelamiento, están en función de la calidad y cantidad de la información fuente y de la tecnología que se disponga.

Un modelo en 3D es la mejor herramienta para entender y visualizar las relaciones existentes entre las diferentes unidades litológicas en profundidad, además es el marco sobre el cual se puede integrar todo tipo de información y, establecer variaciones y cambios, que en modelos de dos dimensiones (2D) pueden resultar en ocasiones imperceptibles o difíciles de entender.

La metodología empleada, permite construir y visualizar un modelo (3D) geométrico preliminar, que integra la información geológica superficial con la de profundidad, estableciendo una relación más cercana a la real, y despeja las incertidumbres que se presentan en profundidad.

Con la construcción del modelo 3D se ha podido apreciar con más detalle, como las explotaciones de áridos han modificado drásticamente la topografía del terreno, han disminuido el nivel freático de la zona y han incrementado la vulnerabilidad del acuífero.

El modelo 3D debe considerarse como un importante instrumento de gestión, ya que este permite la integración e interacción de diversa información que en la mayoría de los casos se presenta e interpreta de manera aislada. Con el modelo se puede presentar una visión más amplia del medio, es más fácil entender que y como inciden los diferentes factores sobre este.

7. BIBLIOGRAFÍA

Asociación Ecologista del Jarama El Soto.; Jarama Vivo.; GRAMA. 2010. *Explotaciones de áridos en suelos incompatibles del Parque Regional del Sureste.*

Atlas Básico: Cursos de agua superficial. Parque Regional del Sureste. <Accesible en URL: <http://parqueregionalsureste.org/valores-naturales/medio-fisico>>

Bardaji de Azcárate, I.; Cabra Gil, P.; Calvo Sorando, J. P.; Gil de Mingo, R.; Martín Barajas, S.; Mogrovejo Gil, J.; Ordóñez Delgado, S.; Sanz Montero, E.; Sastre Merlin, A.; de Vega García, M.T.; Vela López, A. 1990. *Estudio para la ordenación de la actividad extractiva en el tramo bajo del río Jarama.* Servicio de Estudios y Planificación. Agencia de Medio Ambiente. Comunidad de Madrid.

Barrientos M, M. *3D Analyst. Arc toolbox: Guía Rápida de Herramientas.*

Carreño Conde, F.; Martínez García, S.; Fernández Martínez, R.; Lillo Ramos, J. 2010. *Modelado 3D del acuífero detrítico del tramo bajo del río Jarama, una herramienta para la gestión de los recursos hídricos del Parque Regional de los cursos bajos de los ríos Manzanares y Jarama* (Madrid, España). PROCEEDING DEL CONGRESO. ISBN: 978-84-693-6884-8.

CHT. 2007. *Estudio General sobre la Demarcación Hidrográfica.* Parte española de la Demarcación Hidrográfica del Tajo. Confederación Hidrográfica del Tajo.

CHT. 2007. *Red de Control de Calidad Aguas Subterráneas.* Confederación Hidrográfica del Tajo.

De Donatis, M.; Gallerini, G.; Susini, S. 2005. *3D Modelling Techniques for Geological and Environmental Visualisation and Analysis.* LINEE-Laboratory of Information-Technology for Earth and Environmental Sciences. Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo". 253.

Directiva 2000/060 CE Directiva Marco de Aguas (DMA). <Accesible en URL: <http://hispagua.cedex.es/documentacion/especiales/dma/index.htm>>.

IGME. Mapa geológico de España, Escala 1:50.000 – Hojas: Madrid (559), Alcalá de Henares (560).

ITGME. 1997. *Mapa Hidrogeológico de España.* Escala 1:200.000. Instituto Tecnológico Geominero de España. Madrid. Segunda Edición.

ITGME-CAM. 1988. *Atlas geocientífico del medio natural de la Comunidad de Madrid.* Ed: Instituto Tecnológico Geominero de España y Comunidad de Madrid. Madrid. Memoria de 83 pp. + 7 mapas.

García Martínez, S. 2010. *Modelado 3D del Acuífero Detrítico del Tramo Bajo del Río Jarama.*

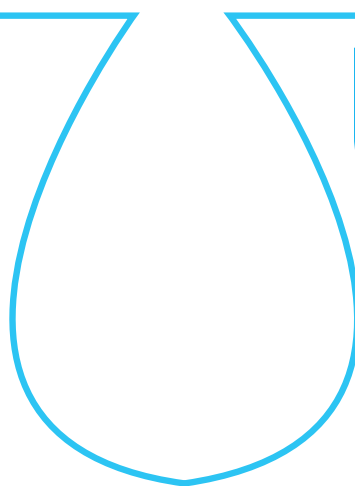
Navas, E.; Garcia, M.; Llamas, R.; Vrba, J. 1998. *La vulnerabilidad de las aguas subterráneas en el Plan Regional de la Comunidad Autónoma de Madrid.* En: Jornadas sobre la contaminación de las aguas subterráneas: un problema pendiente: 429-436. AIHGE. Valencia.

Nury S.; Zhu, X.; Cartwright, I.; Ailleres, L. 2009. *Aquifer visualization for sustainable water management.* Management of Environmental Quality: An International Journal 21. 2: 253-274.

O'Neill, M. 1999. *User Manual 3D Core Builder.* Version 3a. Indian Geological Survey.

escuela de posgrado
ESTUDIOS UNIVERSITARIOS DE POSGRADO EN **HIDROLOGÍA**

UAH URJC



máster universitario
en hidrología y gestión de recursos hídricos

proyectos
2011

Determinación del estado de las aguas del río Jarama y comparación entre índices biológicos de calidad ecológica

autor

Rubén Rasines Ladero

director

**Dra. Irene de Bustamante Gutiérrez (UAH)
Timur Pavluk (Investigador IMDEA-agua)**

Alcalá de Henares, 19 de Mayo de 2011



AGRADECIMIENTOS

Aprovecho la ocasión brindada en este apartado para agradecer, en primer lugar, al Instituto Madrileño de Estudios Avanzados IMDEA-agua, la beca que actualmente disfruto y mediante la cual he podido realizar este Máster Oficial en Hidrología y Gestión de los Recursos Hídricos y el proyecto que en este informe se presenta.

Quisiera agradecer a mi directora de proyecto, la Dra. Irene de Bustamante, su ofrecimiento a dirigirme en la elaboración de este proyecto y brindarme la oportunidad de trabajar con ella. Por su puesto, agradecerle también todas sus aportaciones a este informe, sin las cuales, no hubiera podido llevarse a cabo a tiempo.

Por otro lado, quisiera agradecer también a Timur Pavluk, codirector del proyecto y compañero de fatiga en los numerosos viajes realizados a los ríos de la Comunidad de Madrid para la realización de muestreos, todo lo que me ha enseñado a lo largo de este año sobre los macroinvertebrados bentónicos, métodos de muestreo, trabajo de campo y otras muchas cosas que he aprendido de y con él.

Finalmente, mencionar y agradecer la contribución a este proyecto de todas las personas que indirectamente han trabajado o han aportado datos para su realización, como el personal del laboratorio del IMDEA-agua, personal del Centro de Estudios y Experimentación (CEDEX), personal de la Confederación Hidrográfica del Tajo, etc.



ÍNDICE

1. Resumen	65
2. Introducción	65
2.1. Estado ecológico	66
2.1.1. Indicadores biológicos	66
2.1.2. Indicadores fisicoquímicos	67
2.1.3. Indicadores hidromorfológicos	67
2.2. Estado químico	68
2.3. Descripción del área de estudio.....	68
3. Objetivos	69
4. Metodología	69
4.1. Selección de los puntos de muestreo.....	69
4.2. Muestreo en campo.....	70
4.3. Determinación del estado ecológico.....	71
4.3.1. Cálculo de indicadores biológicos	71
4.3.1.1. Tratamiento de la muestra	71
4.3.1.2. Cálculo del Índice IBMWP.....	72
4.3.1.3. Cálculo del Índice BBI	72
4.3.1.4. Cálculo del Índice ITC	73
4.3.2. Cálculo de indicadores fisicoquímicos.....	73
4.3.2.1. Determinaciones analíticas.....	73
4.3.2.2. Cálculo del Índice ISQA.....	74
4.3.3. Cálculo de indicadores hidromorfológicos	74
4.4. Determinación del estado químico	74
4.5. Determinación del estado de las masas de agua ..	74
5. Resultados	74
5.1. Determinación del estado ecológico.....	74
5.1.1. Indicadores biológicos.....	74
5.1.2. Indicadores fisicoquímicos	76
5.1.3. Indicadores hidromorfológicos.....	77
5.2. Determinación del estado químico.....	78
5.3. Determinación del estado de las masas de agua ..	78
6. Discusión	79
7. Conclusiones	80
8. Bibliografía	80
9. Anexos	82

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema explicativo sobre la determinación del Estado de las masas de agua superficiales según la DMA.....	66
Figura 2. Situación del área de estudio	68
Figura 3. Principales impactos detectados sobre el cauce del río Jarama	69
Figura 4. Situación de los puntos de muestreo a lo largo del cauce del río Jarama y su relación con las masas de agua identificadas por la Confederación Hidrográfica del Tajo	70
Figura 5. Sustratos artificiales (DAS) utilizados en los muestreos y Proceso de limpieza de los mismos realizados en el campo para la obtención de muestra biológica	70
Figura 6. Procedimiento de muestreo biológico Kicking-net	71
Figura 7. Proceso de limpieza – identificación de la muestra biológica	71
Figura 8. Procedimiento a seguir para la determinación del estado de las masas de agua a partir de los estados ecológico y químico de las mismas	74
Figura 9. Mapas con la evolución del índice IBMWP durante los meses de muestreo (Agosto – Octubre de 2010).....	74
Figura 10. Mapas con la evolución del índice BBI durante los meses de muestreo (Agosto – Octubre de 2010)	75
Figura 11. Mapas con la evolución del índice ITC durante los meses de muestreo (Agosto – Octubre de 2010)	75
Figura 12. Mapas con los resultados para el índice ISQA (Agosto – Septiembre 2010).....	76
Figura 13. Mapas con los resultados de los índices hidromorfológicos QBR e IHF.....	77
Figura 14. Mapa del estado químico para los tramos estudiados	78
Figura 15. Estado de los tramos estudiados del río Jarama para el periodo comprendido entre los meses de Agosto y Octubre de 2010	78



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Correlación entre los puntos de muestreo del proyecto y las masas de agua definidas por la Confederación Hidrográfica del Tajo.....	69
Tabla 2. Puntuación según familias, para el cálculo del índice biológico IBMWP	72
Tabla 3. Categoría de calidad ecológica según los valores del índice IBMWP.....	72
Tabla 4. Tablas utilizadas para el cálculo del índice BBI.....	72
Tabla 5. Categoría de calidad ecológica según los valores del índice BBI.....	73
Tabla 6. Categoría de calidad ecológica según los valores del índice ITC	73
Tabla 7. Métodos analíticos utilizados para las determinaciones analíticas necesarias para la realización del proyecto	73
Tabla 8. Categoría de calidad ecológica según los valores del índice ISQA	74
Tabla 9. Categoría de calidad ecológica según los valores de los índices IHF y QBR	74
Tabla 10. Resultados obtenidos para los indicadores biológicos de calidad ecológica utilizados en el proyecto	75
Tabla 11. Resultados obtenidos para el indicador físico-químico de calidad ecológica ISQA.....	76
Tabla 12. Resultados obtenidos para los indicadores hidromorfológicos de calidad ecológica IHF y QBR	77
Tabla 13. Resultados obtenidos para el estado químico conforme a la Directiva 2008/105/CE y el RD 60/2011	78
Tabla 14. Resultados obtenidos para el estado de los tramos estudiados (Agosto – Octubre de 2010)	78

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Fichas descriptivas sobre los puntos de muestreo establecidos para la realización del proyecto.....	82
Anexo 2. Tablas de macroinvertebrados bentónicos identificados en cada uno de los puntos de muestreo seleccionados para la realización del proyecto.....	85



1. RESUMEN

En este proyecto se determina el estado de las masas de agua del río Jarama, estudiándose por tramos, a su paso por los territorios de la Comunidad de Madrid siguiendo las directrices establecidas por la Directiva Marco del Agua 2000/60/CE, el RD 907/2007 y la Orden Ministerial OM ARM 2656/2008, además de otra legislación aplicable.

Para ello, se recurre a la utilización de los diferentes indicadores recogidos por la propia Directiva Marco del Agua, para, estimando el estado ecológico y químico de las diferentes masas de agua del río Jarama, poder calcular el Estado de las mismas. De los diferentes indicadores de calidad, este proyecto se centra sobre todo en los de calidad biológica utilizados para la determinación del estado ecológico, basados en la utilización de macroinvertebrados bentónicos como son el *Iberian BioMonitoring Working Party* (IBMWP), el *Belgian Biotic Index* (BBI) y el *Index of Trophic Completeness* (ITC), seleccionándose como óptimo el IBMWP por ser el más sencillo en cuanto a aplicabilidad se refiere, y el más fiable a utilizar en los ríos de la Península Ibérica.

Otros índices utilizados para la estimación del estado ecológico fueron, los índices de calidad fisicoquímica, entre los cuales se seleccionó el Índice Simplificado de Calidad de Aguas (ISQA), por su mayor simplicidad y gran fiabilidad de los resultados; así como los índices de calidad hidromorfológica QBR e IHF.

Con respecto al estado químico, se observa si, en base a los datos disponibles obtenidos en la Confederación Hidrográfica del Tajo, las masas de agua cumplen con la legislación vigente.

En base a los resultados obtenidos para el estado ecológico, y el estado químico, a lo largo de tres meses de muestreo (Agosto – Octubre de 2010) en el río Jarama a su paso por la Comunidad de Madrid, puede determinarse que sólo uno de los 5 puntos de muestreo estudiados alcanza el “Buen Estado” definido por la Directiva Marco del Agua, siendo por tanto necesario, tomar medidas con la finalidad de alcanzar el buen estado en el resto de las masas de agua antes de 2015, tal y como establece la propia directiva.

2. INTRODUCCIÓN

La Directiva Marco del Agua 2000/60/CE (DOCE, 2000) en adelante DMA, aprobada el 23 de Octubre de 2000, por el Consejo Europeo, y transpuesta al ordenamiento jurídico español, parcialmente a través del RD Legislativo 1/2001 de aprobación del Texto Refundido de la Ley de Aguas (BOE, 2001), y completamente mediante la Ley 62/2003 (BOE, 2003), de medidas fiscales, administrativas y del orden social en su artículo 129 y la Disposición adicional vigésimo tercera del mismo, dio lugar a la aparición de una serie de normas, entre las que cabe destacar el RD 907/2007 por el que se aprueba el Reglamento de Planificación Hidrológica (BOE, 2007); y la Orden Ministerial OMR 2656/2008, por el que se aprueba la Instrucción Técnica de Planificación Hidrológica (BOE 2008).

La DMA supuso el cambio de considerar el agua no sólo como un recurso, sino además como un elemento básico de los ecosistemas acuáticos y por tanto, fundamental para el mantenimiento de una buena calidad ambiental que, a la vez, garantiza el recurso (Torres *et al.*, 2010; Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, 2011).

El principal objetivo de la DMA es la protección de los recursos hídricos, los cuales están clasificados en: aguas superficiales continentales, aguas de transición, aguas costeras y aguas subterráneas. Éstos, no son estudiados únicamente desde el punto de vista fisicoquímico, tal y como se venía haciendo de forma previa a la aprobación de la DMA, sino también teniendo en cuenta aspectos biológicos, lo que supone el requerimiento del estudio del ecosistema en su conjunto.

La DMA establece como límite el año 2015 para que los Estados Miembros de la Unión Europea alcancen un “buen estado de todas las masas de aguas”; entendiendo como “masa de agua superficial” una parte diferenciada y significativa de agua superficial, como un lago, un embalse, una corriente, río o canal, unas aguas de transición o un tramo de aguas costeras; y, entendiéndose el “buen estado de las aguas superficiales” como el estado alcanzado por una masa de agua superficial cuando tanto su estado ecológico como su estado químico son, al menos, buenos. Ambas definiciones vienen recogidas en el artículo 2 de la DMA.

Por tanto, la calidad de las masas de agua, entendiendo la calidad como aquellas características físicas, químicas y biológicas que definen la composición del agua, debe estudiarse desde dos puntos de vista: estado ecológico y estado químico. A partir de los resultados obtenidos para cada uno de los dos estados posibles, se obtiene lo que la DMA en su artículo 2, define como “estado de las aguas superficiales”, que viene determinado por el peor valor de su estado ecológico y de su estado químico.

La DMA introduce una serie de indicadores de calidad como elementos fundamentales para el seguimiento y caracterización del estado de las masas de agua. Dichos indicadores, permiten evaluar las repercusiones de las actividades humanas y determinar el riesgo de que una masa de agua no alcance los objetivos medioambientales previstos en el artículo 4 de la propia DMA. Además en el artículo 8, se obliga a los estados miembros a establecer programas de seguimiento del estado de las aguas, con el objetivo de obtener una visión general del mismo en cada una de las demarcaciones hidrográficas, considerándose éstas como principal unidad a efectos de gestión de las cuencas hidrográficas.

La figura 1 presenta un esquema explicativo sobre como se determina el estado de las masas de agua superficiales de acuerdo a la DMA y que ha servido de guía en la realización de este proyecto.

Figura 1. Esquema explicativo sobre la determinación del Estado de las masas de agua superficiales, según la DMA



Fuente: Confederación Hidrográfica del Júcar, 2009.

2.1. ESTADO ECOLÓGICO

El estado ecológico, es un valor de la calidad ambiental o del grado del equilibrio en el ecosistema acuático, ya que no indica exclusivamente la composición y naturaleza físicoquímica de sus aguas como se venía haciendo hasta ahora, sino que es una expresión de la calidad de la estructura y el funcionamiento de los ecosistemas acuáticos asociados a las aguas superficiales, las cuales, según el anexo V de la DMA pueden clasificarse en: Ríos, Lagos, Aguas de Transición, Aguas Costeras y Masas de Aguas Superficiales Artificiales y Muy Modificadas (denominándose potencial ecológico, y no estado ecológico, en las masas de aguas superficiales artificiales y muy modificadas) (DOCE, 2000).

Tradicionalmente, para el estudio de la calidad de aguas de ríos y embalses se han venido utilizando parámetros físicoquímicos como el pH, temperatura, conductividad, etc. Sin embargo, a raíz de la entrada en vigor de la DMA, se hace necesario el estudio de parámetros biológicos con la finalidad de poder calcular el estado ecológico de la masa de agua en cuestión. Dichos parámetros o indicadores de estado ecológico pueden clasificarse en: indicadores biológicos; indicadores físicoquímicos e indicadores hidromorfológicos.

2.1.1. INDICADORES BIOLÓGICOS

Los índices de calidad biológica o indicadores biológicos se han venido utilizando desde hace mucho tiempo para el estudio de la calidad de las aguas. Éstos, se basan en la utilización de organismos capaces de reflejar las características o condiciones ambientales del medio en que se encuentran (organismos indicadores), de modo que su presencia o ausencia, así como su densidad o abundancia están relacionadas con una calidad u otra en base a un valor numérico adimensional tabulado en función al tipo de organismo (Metcalf, 1989).

La principal diferencia con respecto a los indicadores físicoquímicos, es que indican la calidad del agua en un periodo prolongado de tiempo, de al menos la duración de un ciclo vital de cada especie indicadora. Sin embargo, no permite la identificación de los agentes contaminantes, por lo que ambos índices se han venido utilizando de forma complementaria y no sustitutiva (Agencia Catalana del Agua, 2011)

De todos los índices biológicos existentes, los usados en el proyecto fueron aquellos basados en la utilización de organismos macroinvertebrados bentónicos, que son organismos invertebrados con alguna fase de su ciclo vital en el medio acuático y cuyo tamaño es superior a los 2 mm. Este grupo de organismos abarca grupos de insectos, moluscos, crustáceos, turbelarios y anélidos principalmente, con una función importante en el ecosistema acuático. Dichas funciones abarcan, desde la particulación de la materia orgánica de gran tamaño, hasta la depredar o parasitar otros invertebrados, además de consumir la materia orgánica fina, microorganismos y algas o servir de nexo de unión entre los microorganismos y los vertebrados mediante relaciones tróficas (bij de Batel *et al.*, 2003; Cummins, 1992).

Este grupo de organismos son uno de los grupos biológicos mas ampliamente usados como indicadores de calidad del agua debido a que integran muchas de las cualidades que se esperan de un indicador (Metcalf, 1989; bij de Batel *et al.*, 2003), como:

- Sensibilidad y rapidez en la reacción ante distintos contaminantes con una amplia gradación en la respuesta frente a un variado espectro de clases y grados de estrés.
- Ubicuidad, abundancia y facilidad de muestreo.
- Carácter relativamente sedentario, reflejando las condiciones locales de un tramo fluvial.
- Fases del ciclo de vida suficientemente largas como para ofrecer un registro de la calidad medioambiental a lo largo de un periodo de tiempo.
- Gran diversidad de grupos faunísticos con numerosas especies, entre las cuales siempre existe alguna que tiene una reacción ante un cambio en las condiciones ambientales.

El más extendido, en cuanto a utilización se refiere en España, especialmente entre las Confederaciones Hidrográficas españolas, es el IBMWP (*Iberian Biomonitoring Working Party*). No obstante, en este proyecto, y con el fin de evaluar las diferencias y/o semejanzas entre unos y otros, se utilizaron además, el BBI (*Belgian Biotic Index*) e ITC (*Index of Trophic Completeness*).

- **IBMWP (*Iberian Biomonitoring Working Party*):** se basa en las diferentes tolerancias que tienen las especies de organismos macroinvertebrados acuáticos a la contaminación del medio. En función a esa tolerancia, se obtiene una puntuación para cada familia. Dichas puntuaciones pueden observarse en la Tabla 2.

Este índice proviene de la última adaptación para los ríos españoles, del índice BMWP' (*Biomonitoring Working Party*), realizada por Alba-Tercedor *et al.* (2002). Dicha modificación surge como consecuencia de un acuerdo alcanzado en el III Con-



greso Ibérico de Limnología, que supuso una serie de actualizaciones taxonómicas y modificación de las puntuaciones de algunas familias de macroinvertebrados con respecto a versiones previas de éste índice, que fue elaborado originalmente por Hellawell en 1978 para los ríos de Gran Bretaña, denominado BMWP. (Torres *et al.*, 2010)

Para el cálculo de este índice, el nivel de identificación requerida para los macroinvertebrados bentónicos es el de Familia, lo cual hace que sea un método bastante sencillo, y muy ampliamente utilizado.

- **BBI (Belgian Biotic Index)**: este índice fue desarrollado en 1983 y es muy utilizado a nivel Europeo. (Confederación Hidrográfica del Ebro, 2005). En este caso, además de estudiar la presencia/ausencia de organismos de determinados grupos taxonómicos, este método tiene en cuenta la variabilidad (diversidad). Por ello, el nivel de identificación requerido puede variar entre familia o género, haciendo más laboriosa su utilización (Aristica *et al.*, 2006).
- **ITC (Index of Trophic Completeness)**: este índice difiere con respecto a los anteriores en cuanto a la forma de abordar el estudio de las comunidades de macroinvertebrados. Fue diseñado en 1998 mediante una investigación llevada a cabo entre el "Russian Institute of Water Management and Protection" (ROS NIIHV) y el Dutch Institute RIZA (Pavluk *et al.*, 2000).

Para la estimación de la calidad, lo que estudia este método no es la simple presencia/ausencia de organismos de diferentes taxones, sino que estudia el ecosistema en base a las relaciones de flujo de energía y sustancias a lo largo de la cadena trófica. Para ello se crea una base de datos para cada especie de macroinvertebrado bentónico, indicando el grupo trófico al que pertenece, el tamaño de las partículas de las que se alimenta, como se transmite la energía, el modo de alimentación, y el comportamiento alimenticio que poseen, generando una información tratable mediante un software informático ("MaTros") que permite la estimación del valor de dicho índice (Pavluk *et al.*, 2000; bij de Batel *et al.*, 2003).

En este caso, el nivel de identificación requerido para los macroinvertebrados, es el de especie, implicando un mayor conocimiento de los mismos, por tener que describir toda la información anteriormente enunciada, otorgándole una mayor robustez (bij de Batel *et al.*, 2003).

2.1.2. INDICADORES FISICOQUÍMICOS

Mediante la utilización de los índices fisicoquímicos, se obtiene un valor numérico adimensional que engloba las magnitudes de ciertos parámetros individuales cuyo número y tipo varían en función al índice seleccionado. Estos índices se utilizan para conocer la calidad de una masa de agua y su evolución con el tiempo (Ingeniería Civil y Medio Ambiente - Miliarium Aureum S.L, 2011).

De entre todo un conjunto de parámetros fisicoquímicos tradicionalmente medidos en las muestras de aguas y de los recogidos en la legislación, los más importantes fueron los sólidos totales en suspensión, la temperatura, la conductividad, el oxí-

geno disuelto y la Demanda Química de Oxígeno (DQO), ya que con ellos, es suficiente para poder calcular el Índice Simplificado de Calidad de Aguas (ISQA), utilizado en el proyecto.

A continuación se comentan brevemente dos de los indicadores fisicoquímicos más ampliamente utilizados e importantes.

- **Índice de Calidad General (ICG)**: Es el índice más utilizado en España. Se trata de una adaptación del índice de Provencher y Lamontagne del Servicio de Calidad de las Aguas del Ministerio de Riquezas Naturales del Estado de Québec (Canadá). Su valor (adimensional) se obtiene a partir de 23 parámetros (9 básicos y 14 complementarios). Los básicos son: coliformes totales, conductividad, DBO, DQO-Mn, fósforo total, materias en suspensión, nitratos, oxígeno disuelto y pH, garantizándose recoger características del medio referentes a toxicidad, capacidad de albergar vida, fenómenos de eutrofización, y presencia de determinados compuestos de origen industrial (Mingo, 1981).
- **Índice Simplificado de Calidad de Aguas (ISQA)**: Se trata de un índice mucho más sencillo, que proporciona una idea rápida e intuitiva de la calidad de un agua sin necesidad de utilizar tantos parámetros como el ICG. Este índice fue diseñado por Queralta en 1982 y se obtiene a partir de una fórmula que combina 5 parámetros fisicoquímicos, que son: temperatura, DQO, sólidos en suspensión, oxígeno disuelto y conductividad (Hernández Muñoz, 1990).

2.1.3. INDICADORES HIDROMORFOLÓGICOS

Se trata del último grupo de indicadores básicos para la estimación del estado ecológico de las masas de agua. En este caso, la valoración de la calidad viene definida por las características del cauce y su conservación o grado de naturalidad, de modo que los factores que deben tenerse en cuenta para su valoración son el régimen hidrológico, los caudales y la hidrodinámica de los flujos del agua, la conexión con masas de aguas subterráneas, la continuidad del río, las condiciones morfológicas, las variaciones en la profundidad y anchura del río, la estructura y sustrato del lecho del río y, la estructura de la zona ribereña (Torres *et al.*, 2010; C.H. del Ebro, 2005; Ollero *et al.*, 2009; C.H. del Tajo, 2011).

Dentro de los índices hidromorfológicos, los más utilizados, son los que a continuación se comentan:

- **Índice Bosque de Ribera (QBR)**: este índice evalúa el grado de conservación de las riberas, basándose en el grado de cobertura riparia, en la estructura de la cobertura, en la cantidad de superficie cubierta y en el grado de naturalidad del canal fluvial (Munne *et al.*, 1998).
- **Índice del Hábitat Fluvial (IHF)**: este índice valora la capacidad del hábitat físico para albergar una determinada fauna, de modo que a mayor heterogeneidad y diversidad estructural del hábitat, mayor diversidad albergará (Benke *et al.*, 2003).

Así pues mientras que el hábitat suministra el espacio físico y proporciona el alimento, la heterogeneidad del mismo es el fac-



tor limitante para el establecimiento de las comunidades bentónicas (Pardo *et al.*, 2004).

Para el cálculo de estos índices, la Confederación Hidrográfica del Tajo utiliza unos estadillos de campo accesibles desde su página web (C.H. del Tajo, 2011).

2.2. ESTADO QUÍMICO

El estado químico de las masas de agua indica el cumplimiento o no de la legislación de ámbito europeo y español, con respecto a la presencia/ausencia de determinadas sustancias químicas en las masas de agua.

Debe entenderse como "buen estado químico del agua superficial", lo definido por la propia DMA, en su artículo 2, es decir, *el estado químico necesario para cumplir los objetivos medioambientales para las aguas superficiales establecidos en la letra a) del Apartado 1 del artículo 4, es decir, el estado químico alcanzado por una masa de agua superficial en la que las concentraciones de contaminantes no superan las normas de calidad medioambiental establecidas en el anexo IX, y con arreglo al apartado 7 del artículo 16, así como en virtud de otras normas comunitarias pertinentes que fijen normas de calidad medioambiental a nivel comunitario.* Además, en el artículo 10 de la DMA se hace mención a otras directivas a tener en cuenta para los controles y límites de emisión de determinadas sustancias.

No obstante, en el año 2008 aparece una actualización de la DMA, la Directiva 2008/105/CE (DOUE, 2008), que modifica varios Anexos de la DMA, entre ellos, el Anexo X referente a las sustancias prioritarias, por lo que a efectos legales, supone la necesidad de cumplirse ambas.

A nivel español, la Directiva 2008/105/CE (DOUE, 2008) fue transpuesta mediante RD 60/2011 (BOE, 2011), siendo éste el Real Decreto a considerar para el cumplimiento o no del buen estado químico en España.

A diferencia de los indicadores utilizados para la estimación del estado ecológico de las masas de agua comentados (biológicos, fisicoquímicos e hidromorfológicos), no existen índices a utilizar para la caracterización de la calidad química de las masas de agua, sino que debe recurrirse a analíticas de los diferentes elementos contaminantes contemplados en la legislación, considerándose como buen estado químico, si no se superan dichos niveles.

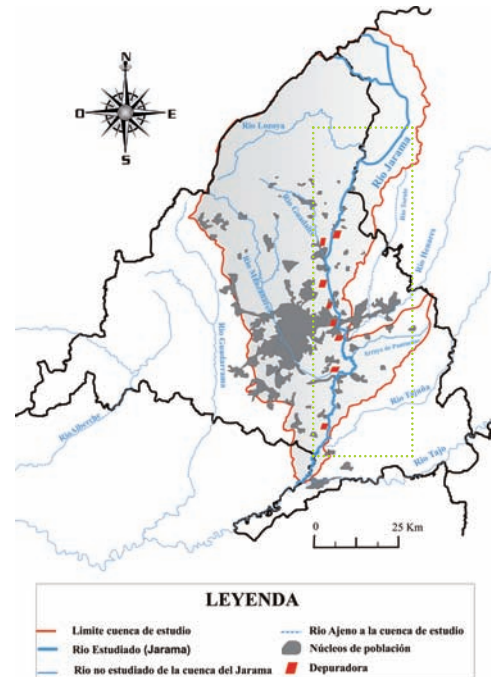
2.3. DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

La Comunidad de Madrid situada en el centro de la Península Ibérica y con una extensión de 8.030,1 Km² y una población de 6.458.684 habitantes (I.N.E., 2010), está atravesada por varios ríos, todos ellos pertenecientes a la cuenca hidrográfica del Tajo. Así pues, es la Confederación Hidrográfica del Tajo el organismo de gestión hídrica a máxima escala, la cual depende del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.

La zona de estudio (figura 2) se sitúa en el cauce del río Jarama. Éste, es el río más largo de los que recorren la Comunidad

de Madrid. Atraviesa esta comunidad de Norte a Sur en su sector Este, sirviendo como límite entre las comunidades de Castilla-La Mancha y Madrid. Es uno de los afluentes más importantes del Río Tajo, posee una longitud de 190 kilómetros y la superficie de su cuenca es de 11.597 km² (CEDEX, 1994).

Figura 2. Situación del área de estudio



El río Jarama nace a 1.860 metros de altitud, en el Pico Peña Cebillera de la Sierra de Ayllón (Montejo de la Sierra, Madrid), presentando un perfil con una pendiente media de un 7% desde su nacimiento a su desembocadura en río Tajo a 480 metros de altitud. En un primer tramo, atraviesa la provincia de Guadalajara, entrando de nuevo al territorio de la Comunidad de Madrid a la altura de Patones de Abajo, donde recibe por la margen derecha las aguas del río Lozoya y, posteriormente, del río Guadalix y del Manzanares; por su margen izquierda recibe aguas del río Henares y Tajuña, hasta que finalmente desemboca en el Tajo a la altura de Aranjuez (Izquierdo *et al.*, 1998).

Desde el punto de vista de su ecotipo, lo cual es especialmente relevante para el cálculo del estado ecológico de las masas de agua por establecerse unas condiciones de referencia en cada uno de ellos, el río Jarama pertenece a la categoría 115 (15 según Anexo III de la ORM 2656/2008), "Ejes mediterráneo – continentales poco mineralizados" (Torres *et al.*, 2010; C.H. del Tajo, 2011).

Las masas de agua del río Jarama identificadas dentro de la zona de estudio son las siguientes:

- 12107: Río Jarama desde Río Lozoya hasta Río Guadalix.
- 12117: Río Jarama desde Río Guadalix hasta confluencia con A. Valdebebas.
- 12109: Río Jarama desde conf. con A. Valdebebas hasta conf. con Río Henares.
- 12110: Río Jarama desde Río Henares hasta E. del Rey.
- 12114: Río Jarama desde embalse del Rey hasta Río Tajuña.

La zona climática en la que se encuadra el cauce del río Jarama es la mediterránea continental, caracterizada por inviernos muy rigurosos y veranos muy extremos, con periodos de lluvia en primavera y otoño, lo que hace que el régimen del río sea pluvionival, que quiere decir que posee dos periodos máximos de aporte de agua a su cauce, uno en primavera por la fusión de las nieves y otro en otoño por las lluvias. (Izquierdo *et al.*, 1998).

La precipitación media anual en la cuenca del Jarama, según datos de la Confederación Hidrográfica del Tajo, (2011), es de 3.178 hm³ (661 mm), con una Evapotranspiración de 3.417 Hm³ (711 mm) y con una aportación media de 998 Hm³, siendo el aporte mayoritario que recibe en los tramos medio-bajo, donde recibe las Aguas de sus principales afluentes como el Manzanares, Henares o Tajuña.

La distribución de las lluvias responde a un gradiente altitudinal, de modo que en las zonas montañosas se produce mayor precipitación. Las temperaturas mínimas medias anuales se mueven entre 6 y 10°C, y las temperaturas máximas medias anuales rondan los 17°C. (Torres *et al.*, 2010).

Desde el punto de vista botánico cabe destacar que existen dos tipos de series de vegetación dentro de la cuenca, una ligada a las masas de agua (comunidades riparias o edafohídrofilas), y otra ligada a ambientes alejados del cauce (Comunidades climatófilas) (Torres *et al.*, 2010).

A lo largo del cauce, la fauna que aparece es muy variada, destacando las rapaces en el tramo alto y medio, y fauna ligada a ambientes más antropizados en el tramo bajo del mismo (Izquierdo *et al.*, 1998).

En cuanto a los impactos sobre el río Jarama, cabe destacar la fuerte regulación por embalses, lo cual, junto al marcado régimen pluvionival modifica las condiciones fisicoquímicas del agua y las comunidades de organismos que habitan en el cauce (CEDEX, 1994). No obstante, el factor crítico que afecta a la calidad del agua y la biodiversidad, será la contaminación que se produce por vertidos de núcleos de población y polígonos industriales.

En la Figura 3, se pueden observar algunas de las presiones observadas sobre el cauce del río Jarama, destacándose la acumulación de basuras en las orillas del río, extracción abusiva de agua, grandes extensiones de cultivo, uso de fertilizantes, presencia de grandes núcleos de población, etc.

Figura 3. Principales impactos detectados sobre el cauce del río Jarama



3. OBJETIVOS

El principal objetivo de este estudio es conocer el estado de las aguas del río Jarama en sus diferentes tramos, a lo largo de su recorrido por la Comunidad de Madrid (desde Uceda hasta Titulcia), siguiendo los procedimientos establecidos por la Directiva Marco del Agua 2000/60/CE (DOCE, 2000) y la legislación española derivada de la misma. Para ello se utilizan datos correspondientes a los meses de Agosto, Septiembre y Octubre de 2011, obtenidos mediante trabajo de campo y a partir de los recopilados de la Confederación Hidrográfica del Tajo.

Un segundo objetivo, es el de comparar diferentes índices biológicos de calidad ecológica utilizados para la estimación del estado ecológico de las masas de agua (IBWMP, BBI e ITC), con el fin de determinar sus diferencias, sus similitudes, fiabilidad, robustez, etc.

4. METODOLOGÍA

4.1. SELECCIÓN DE LOS PUNTOS DE MUESTREO.

Se realizó una selección de los puntos de muestreo, con el fin de obtener tramos representativos del cauce del río en la Comunidad de Madrid, no coincidiendo éstos con las masas de agua establecidas por la Confederación Hidrográfica del Tajo. Se trata de 5 puntos de muestreo (Figura 4), localizados entre Uceda (Guadalajara) y Titulcia (Madrid). En la Tabla 1, aparecen dichos puntos junto con las masas de agua definidas por la Confederación Hidrográfica del Tajo relacionadas con ellos.

Tabla 1. Correlación entre los puntos de muestro del proyecto y las masas de agua definidas por la Confederación Hidrográfica del Tajo

Masa de agua definida por la C.H. del Tajo	Punto de Muestreo del Proyecto
12107: Río Jarama desde Río Lozoya hasta Río Guadalix	E1: Uceda
12117: Río Jarama desde Río Guadalix hasta confluencia con A. Valdebebas	E2: Paracuellos del Jarama
12109: Río Jarama desde confluencia con A. Valdebebas hasta confluencia con Río Henares	E3: San Fernando de Henares
12110: Río Jarama desde Río Henares hasta E. del Rey	-
12114: Río Jarama desde embalse del Rey hasta Río Tajuña	E4: Rivas Vaciamadrid E5: Titulcia

La selección de los 5 puntos de muestreo, se realizó en base a su representatividad con respecto a los distintos tramos del río (tramo alto, medio y bajo), así como a diferentes presiones a las que está sometido el cauce, como por ejemplo: cercanía a núcleos de población o actividades industriales; proximidad a Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDAR), proximidad a puntos de conexión con afluentes, etc.

En el Anexo 1 se recoge las fichas de los 5 puntos de muestreo seleccionados para el estudio, donde se describen brevemente dichos puntos, así como el motivo de su selección y algunos



datos, como su correspondencia con las masas de agua identificadas por la Confederación Hidrográfica del Tajo o con las estaciones de muestreo de la propia Confederación, utilizadas como complemento para la obtención de los datos fisicoquímicos necesarios en el estudio que no pudieron ser determinados en laboratorio.

Figura 4. Situación de los puntos de muestreo a lo largo del cauce del Río Jarama y su relación con las masas de agua identificadas por la Confederación Hidrográfica del Tajo



4.2. MUESTREO EN CAMPO

La metodología de muestreo en campo, así como transporte, conservación y tratamiento de las muestras, se realizó siguiendo los protocolos de el "Manual on pro-rata Multi-Habitat-Sampling of benthic invertebrates from wadeable rivers in the HKH region" (Abril 2005), los protocolos de muestreo establecidos por la Confederación Hidrográfica del Ebro (Confederación Hidrográfica del Ebro, 2005) y por la Confederación Hidrográfica del Tajo (Torres *et al.*, 2010), habiendo otras metodologías estandarizadas, como las recogidas en el Anexo V, punto 1.3.6, de la DMA (DOCE, 2000), que también deben considerarse a estos efectos.

Los muestreos biológicos se realizaron mediante la utilización de sustratos artificiales, complementados con otros métodos que serán comentados a lo largo de este apartado. La utilización de los sustratos artificiales se debe a que en los artículos de Pauw *et al.* (2004) y de bij de Vaate *et al.* (1990) se indica la gran utilidad de los mismos y los buenos niveles de información obtenidos sobre los macroinvertebrados bentónicos, utilizando los conocidos como Dutch Artificial Substrates (DAS). Éstos consisten en una caja metálica cuadrada de 20 x 20 x 20 cm., llena de canicas de vidrio de 20mm de diámetro (Figura 5), que per-

miten eliminar alguno de los hábitats a muestrear (sustratos duros; Detritos vegetales; Bancos vegetados; Macrófitos sumergidos; Arena y otros sedimentos finos) establecidos, entre otros por Torres *et al.* (2010). La utilización de este método, supuso la necesidad de realizar campañas de muestreo con una periodicidad mensual.

En cada punto de muestreo, se determina *in situ* las variables fisicoquímicas: pH, temperatura, conductividad y oxígeno disuelto, además de realizarse una toma de muestra de 2 litros de agua para posteriores determinaciones químicas en laboratorio.

Para realizar el muestreo biológico se instalan los sustratos artificiales (DAS), tres en cada localización sobre el cauce del río, próximos a la orilla, garantizando una corriente mínima y situando la llave de apertura de las cajas de modo transversal a la corriente para asegurar que el agua atraviese la totalidad de la superficie lateral de la caja sin verse ésta reducida.

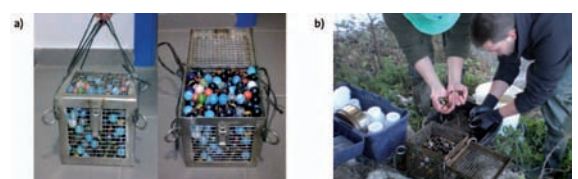
En Agosto y Septiembre, no se disponía de los DAS suficientes para su instalación en todos los puntos de muestreo, lo cual hizo necesaria la obtención de muestras procedentes de otros sustratos naturales presentes en el cauce como rocas, macrófitos, etc.

El procedimiento para utilizar los DAS es el siguiente:

1. Primero se localizan en el cauce los DAS instalados el mes anterior, se sacan fuera del agua poniéndose en un barreño rápidamente para evitar la pérdida de muestra, de modo que en la orilla se vacían las canicas sobre el barreño, se lava el contenedor metálico y se lavan las canicas, devolviéndose éstas a medida que se van limpiando, al contenedor (Figura 5).
2. Una vez limpios, la muestra contenida en el barreño se filtra mediante un tamiz de 0,5 mm de luz de malla, quedando retenida en él, la muestra de interés. Dicha muestra es dispuesta en frascos con etanol, claramente identificados con etiquetas. Tras finalizar la limpieza de estos DAS, se devuelven a su posición original en el cauce del río, asegurando su correcto posicionamiento para el muestreo siguiente que será realizado al cabo de un mes.

Los sustratos utilizados como sustitutos de los DAS en caso de falta, pérdida o robo de éstos, son: macrófitos sumergidos - semi-sumergidos, y/o rocas sumergidas próximas a la superficie. Las muestras obtenidas son filtradas en el tamiz de 0,5 mm y la muestra retenida, introducida en los botes de plástico con etanol para su conservación, con su correspondiente etiqueta.

Figura 5. a) Sustratos Artificiales (DAS) utilizados en los muestreos; b) Proceso de limpieza de los mismos realizados en el campo para la obtención de muestra biológica





Otra actividad realizada para el muestreo biológico (no sustitutivo de los DAS), realizada siempre que las condiciones de seguridad para el muestreo sean adecuadas, es el realizado con una red de 25 x 25 cm de superficie y 0,5 mm de luz de malla, mediante el método conocido como *kicking net*. Éste, supone establecer una zona del cauce no demasiado profunda de unos 10 metros de longitud, de modo se dispone la red lo mas pegado al fondo del cauce posible, aguas abajo de la persona que la sujeta. La persona que esta realizando el muestreo se desplaza en contracorriente por esos 10 metros dando patadas a las rocas, sedimentos y plantas que se encuentren en el lecho del río a medida que avanza, quedando retenidos los macroinvertebrados y gran cantidad de sustancias en la red. Una vez recorridos esos 10 metros de la forma descrita (Figura 6), se lava la red en un cubo de modo que todos los macroinvertebrados atrapados queden en éste. Tras ello, se filtra la muestra a través del tamiz de 0,5mm y, lo retenido, se conserva en etanol en botes etiquetados.

Figura 6. Procedimiento de muestreo biológico Kicking-net



4.3. DETERMINACIÓN DEL ESTADO ECOLÓGICO

Para la determinación del estado ecológico de los tramos en los que se dividió el cauce del río Jarama, es necesario calcular diferentes indicadores (biológicos, fisicoquímicos e hidromorfológicos), de modo que el estado ecológico a utilizar para la determinación del estado de las masas de agua, vendrá determinado por el peor valor de ellos correspondientes al periodo Agosto – Octubre de 2010.

A pesar de que se hace necesaria la normalización de los valores obtenidos para cada uno de los indicadores mediante lo que se define como EQR (*Environmental Quality Ratio*) en la Orden Ministerial AMR 2656/2008 (BOE, 2008), en este proyecto no se realiza tal normalización debido a que el ecotipo al que pertenece el río Jarama, 115, según la Confederación Hidrográfica del Tajo, o 15, según la ORM 2656/2008, no presenta unos rangos establecidos para dicha normalización. Por todo ello, el cálculo de las categorías de calidad ecológica se realiza con los datos en bruto, obtenidos directamente de la aplicación de las fórmulas utilizadas para el cálculo de los distintos índices.

4.3.1. CÁLCULO DE INDICADORES BIOLÓGICOS

4.3.1.1. Tratamiento de la muestra

Con el fin de identificar los macroinvertebrados bentónicos para determinar los índices biológicos de calidad, es necesario tratar la muestra previamente. Para ello se limpian las muestras obtenidas en campo, separando los macroinvertebrados del resto de materia como ramas, palos, restos orgánicos, vegetación, etc. Una vez separados, se identifican mediante la utilización de microscopios, lupas y claves taxonómicas a nivel de especie o al máximo nivel posible. Tras su identificación, se cuenta el número de individuos de cada especie, se pesan y se les valora de acuerdo a una serie de índices.

El procedimiento del tratamiento de las muestras biológicas, puede verse en la Figura 7.

Figura 7. Proceso de limpieza - identificación de la muestra biológica





Tabla 5. Categoría de calidad ecológica según los valores del índice BBI

Valor BBI	Estado Ecológico	Categoría
9 - 10	Muy Bueno	Categoría I
7 - 8	Bueno	Categoría II
5 - 6	Aceptable	Categoría III
3 - 4	Deficiente	Categoría IV
1 - 2	Malo	Categoría V

Fuente: *Aristica Balaban et al., 2006.*

4.3.1.4. Cálculo del índice ITC

Para el cálculo de este índice, no se utiliza una tabulación como en el caso de los dos anteriores, sino que se requiere un conocimiento más específico de los organismos macroinvertebrados bentónicos, especialmente desde el punto de vista de su comportamiento trófico. Así pues, este índice estudia las relaciones tróficas entre los organismos, dándose una mayor puntuación cuanto mayor número de especies representantes de diferentes grupos tróficos aparezcan.

Para su cálculo se recurre a la utilización de software informático (MaTroS), en el que se introducen todas las especies identificadas y sus datos correspondientes, de modo que el propio programa calcula el valor del Índice ITC (Pavluk *et al.*, 2000; *bj de Batel et al.*, 2003).

Un problema con respecto a este software es su base de datos, la cual debe actualizarse lo máximo posible para que contemple todas las especies determinadas en el río Jarama. En cualquier caso y debido a esta limitación, es necesario tener en cuenta que puede producirse una subestimación del valor del ITC y, por tanto, en la estimación de la calidad ecológica de la masa de agua. Esa calidad ecológica se define en función al valor del ITC tal y como se recoge en la Tabla 6.

Tabla 6. Categoría de calidad ecológica según los valores del índice ITC

Valor ITC	Significado	Categoría
11 - 12	Buena calidad, sin impactos antrópicos o finalizado el proceso de autodepuración.	Categoría I
9 - 10	Alteración moderada debida a una contaminación moderada de las aguas por origen natural o descargas artificiales en cauces regulados.	Categoría II
6 - 8	Alterado, por presencia constante de sustancia tóxicas o modificación del lecho del río, que supone una mayor concentración de partículas en suspensión.	Categoría III
3 - 5	Muy Malo, los flujos de energía se producen en un solo sentido, con un gran descenso en el número de grupos tróficos presentes.	Categoría IV
1 - 2	Ecosistema Destruído, con muy poca representación de organismos, y en consecuencia escasos grupos tróficos presentes. Ecosistema no funcional.	Categoría V

4.3.2. CÁLCULO DE INDICADORES FISICOQUÍMICOS

Los índices fisicoquímicos, son muy variados, tal y como se comentó en la introducción de este informe. En este proyecto, se utilizó el Índice Simplificado de Calidad de Aguas (ISQA), debido a su mayor simplicidad y fiabilidad.

4.3.2.1. Determinaciones analíticas

Las determinaciones analíticas se realizaron siguiendo los métodos que aparecen en la Tabla 7. Sin embargo, al no poderse realizar la determinación de Sólidos Totales en Suspensión (SST), que es un parámetro fundamental para la obtención del índice ISQA, se recurrió a la utilización de los datos de la Confederación Hidrográfica del Tajo, a partir de las siguientes estaciones de control:

- Estación número 302 UCEDA, que se corresponde aproximadamente con el punto de muestreo E1: Uceda.
- Estación número 47 SAN SEBASTIAN DE LOS REYES, que se corresponde aproximadamente con el punto de muestreo E2: Paracuellos del Jarama.
- Estación número 48 SAN FERNANDO DE HENARES, que se corresponde aproximadamente con el punto de muestreo E3: San Fernando de Henares.
- Estación número 50 E. PRESA DEL REY, que se corresponde aproximadamente con el punto de muestreo E4: Rivas vaciamadrid.
- Estación número 204 SAN MARTÍN DE LA VEGA, que se corresponde aproximadamente con el punto de muestreo E5: Titulcia.

Las fichas de estas estaciones, así como los datos fisicoquímicos medidos en ellas durante la anualidad 2010 sirvieron como complemento a los datos obtenidos en campo o en laboratorio para poder estudiar la calidad de las aguas del río Jarama en los distintos tramos del proyecto. (C.H. del Tajo, 2011).

Tabla 7. Métodos analíticos utilizados para las determinaciones analíticas necesarias para la realización del proyecto

Determinación	Instrumentación
Temperatura	Termómetro Digi-Thermo_ OREGON
Conductividad	Conductímetro CM 35. Crison
pH	pHmetro PH 25. Crison
Dureza	Sistema de Cromatografía iónica de doble canal Metrohm Advanced Compact IC.
Alcalinidad	Valorador Titrand 809 Metrohm
Cloruros	Sistema de Cromatografía iónica de doble canal Metrohm Advanced Compact IC
Nitratos	Sistema de Cromatografía iónica de doble canal Metrohm Advanced Compact IC
Sulfatos	Sistema de Cromatografía iónica de doble canal Metrohm Advanced Compact IC
Carbonatos	Valorador Titrand 809 Metrohm
Bicarbonatos	Valorador Titrand 809 Metrohm
Sodio	Sistema de Cromatografía iónica de doble canal Metrohm Advanced Compact IC
Potasio	Sistema de Cromatografía iónica de doble canal Metrohm Advanced Compact IC
Magnesio	Sistema de Cromatografía iónica de doble canal Metrohm Advanced Compact IC
Calcio	Sistema de Cromatografía iónica de doble canal Metrohm Advanced Compact IC

4.3.2.2. Cálculo del índice ISQA

El índice ISQA, se calcula de acuerdo a la expresión: $ISQA = T \cdot (A+B+C+D)$, siendo: T, la temperatura del agua en °C; A, la oxidabilidad al permanganato (DQO-Mn en mg/l); B, los Sólidos en Suspensión Totales (SST en mg/l); C, el Oxígeno Disuelto (O_2 en mg/l); y D, la Conductividad (CE) en (µS/cm a 18°C). En la Tabla 8 aparecen las categorías ecológicas correspondientes a los posibles valores del índice ISQA (Hernández Muñoz, 1990).

Tabla 8. Categoría de calidad ecológica según los valores del Índice Simplificado de Calidad de Aguas (ISQA)

Valor ISQA	Estado Ecológico	Categoría
80 - 100	Muy Bueno	Categoría I
60 - 80	Bueno	Categoría II
40 - 60	Aceptable	Categoría III
20 - 40	Deficiente	Categoría IV
0-20	Malo	Categoría V

4.3.3. CÁLCULO DE INDICADORES HIDROMORFOLÓGICOS

Los valores de los Índices Hidromorfológicos (IHF y QBR) se obtuvieron directamente de la Confederación Hidrográfica del Tajo, de modo que la relación entre sus valores y la categoría ecológica correspondiente aparece en la Tabla 9.

Tabla 9. Categoría de calidad ecológica según los valores de los índices IHF y QBR

Valor QBR	Valor IHF	Estado Ecológico	Categoría
> 95	> 90	Muy Bueno	Categoría I
75 - 95	71 - 90	Bueno	Categoría II
55 - 75	50 - 70	Aceptable	Categoría III
25 - 55	31 - 49	Deficiente	Categoría IV
< 25	< 30	Malo	Categoría V

Fuente: Real et al., 2006.

4.4. DETERMINACIÓN DEL ESTADO QUÍMICO

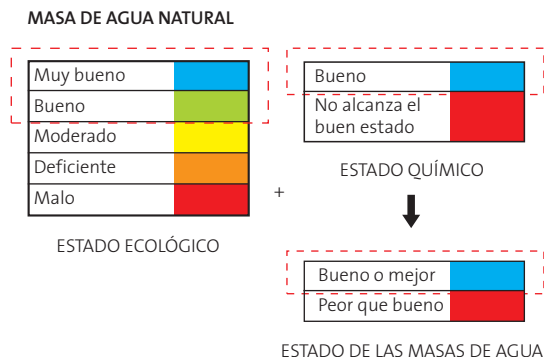
Para la determinación del estado químico de los tramos del río Jarama seleccionados para el estudio, se recurre a los mismos datos utilizados y comentados en el apartado 4.3.2.1.

4.5. DETERMINACIÓN DEL ESTADO DE LAS MASAS DE AGUA

Para la determinación del estado de las masas de agua, se procedió tal y como se recoge en la DMA (DOCE, 2000) y en la Orden Ministerial OM AMR 2656/2008 (BOE, 2008). El estado de las masas de agua estudiadas en el proyecto, fueron calculados para el periodo comprendido entre Agosto y Octubre de 2010.

A continuación (Figura 8) se presenta el procedimiento llevado a cabo para la estimación del estado de cada uno de los tramos estudiados en el proyecto.

Figura 8. Procedimiento a seguir para la determinación del estado de las masas de agua a partir de los estados ecológico y químico de las mismas



5. RESULTADOS

5.1. DETERMINACIÓN DEL ESTADO ECOLÓGICO

5.1.1. INDICADORES BIOLÓGICOS

Los resultados obtenidos para los índices biológicos (IBMWP, BBI e ITC), calculados a partir de los datos obtenidos en los muestreos biológicos realizados en cada uno de los puntos de muestreo seleccionados para el proyecto, aparecen en la Tabla 10 y en las Figuras 9, 10 y 11.

Además, en el Anexo 2 aparecen todos los datos correspondientes a los macroinvertebrados bentónicos identificados en cada uno de los puntos de muestreo.

Figura 9. Mapas con la evolución del índice IBMWP durante los meses de muestreo (Agosto – Octubre de 2010)

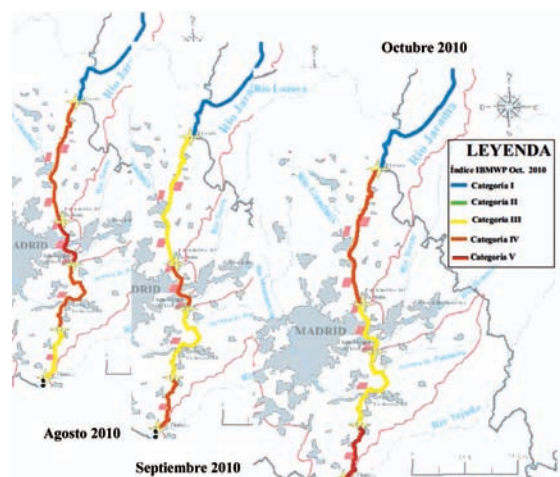


Figura 10. Mapas con la evolución del índice BBI durante los meses de muestreo (Agosto – Octubre de 2010)

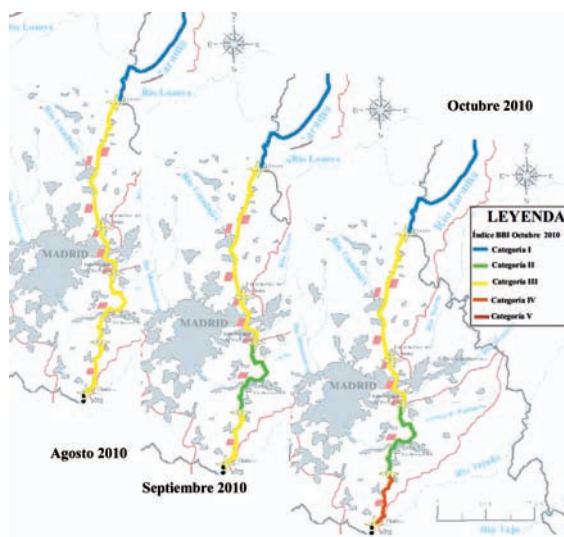


Figura 11. Mapas con la evolución del índice ITC durante los meses de muestreo (Agosto – Octubre de 2010)

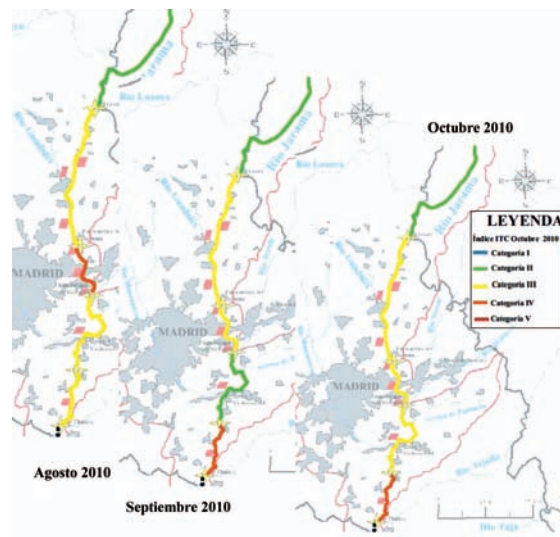


Tabla 10. Resultados obtenidos para los indicadores biológicos de calidad ecológica utilizados en el proyecto

Punto de muestreo	Mes	INDICADORES BIOLÓGICOS DE CALIDAD						
		IBMWP	Cat.	BBI	Cat	ITC	Cat.	Peor estado
E1- Uceda	Agosto	132	I	9	I	10	II	II
	Septiembre	140	I	10	I	9	II	II
	Octubre	109	I	10	I	9	II	II
E2- Paracuellos del Jarama	Agosto	25	IV	5	III	7	III	IV
	Septiembre	37	III	6	III	7	III	III
	Octubre	27	IV	6	III	6	III	IV
E3- San Fernando de Henares	Agosto	12	V	5	III	4	IV	V
	Septiembre	33	IV	6	III	7	III	IV
	Octubre	44	III	6	III	7	III	III
E4- Rivas Vaciamadrid	Agosto	31	IV	6	III	7	III	IV
	Septiembre	47	III	7	II	9	II	III
	Octubre	50	III	7	II	8	III	III
E5- Titulcia	Agosto	36	III	6	III	3	III	III
	Septiembre	23	IV	6	III	5	IV	IV
	Octubre	13	V	4	IV	5	IV	V



5.1.2. INDICADORES FISICOQUÍMICOS

A continuación se presentan los resultados obtenidos para el índice ISQA (Tabla 11) y sus correspondientes mapas (Figura 12).

Figura 12. Mapas con los resultados para el índice ISQA (Agosto – Septiembre 2010).

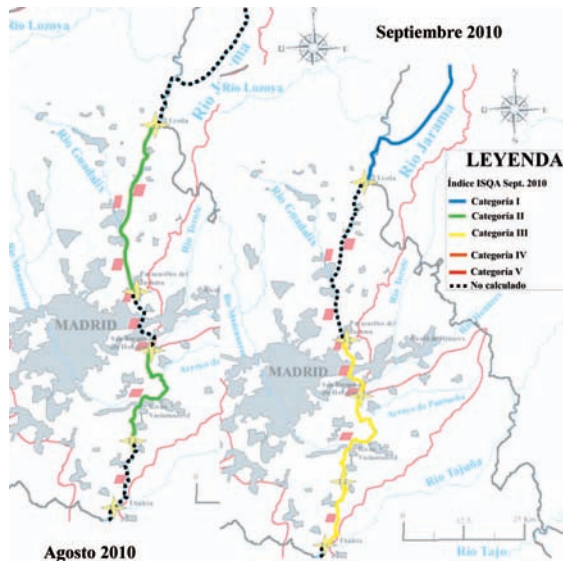


Tabla 11. Resultados obtenidos para el indicador fisicoquímico de calidad ecológica ISQA

Punto de muestreo	Mes	E: Temp. (°C)	A: DQO (mg/l)	B: TTS. (mg/l)	C: Oxígeno Disuelto (mg/l)	D: Cond. (uS/cm)	Valor ISQA	Calidad del Agua
E1	Agosto	18,4	6,2	-	8,4	249	-	-
	Septiembre	14	4,5	19	9,14	252	87,2	Clase I
	Octubre	12,3	5,9	-	9,83	259	-	-
E2	Agosto	21,8	20,7	6	5,69	948	60,2	Clase II
	Septiembre	20,3	18,1	-	5,91	847	-	-
	Octubre	14,9	11,9	-	7,44	700	-	-
E3	Agosto	24,7	21,7	-	7,93	1336	-	-
	Septiembre	21,7	29,5	25	4,57	767	53,1	Clase III
	Octubre	17,9	19,1	-	5,33	1090	-	-
E4	Agosto	23	18,2	5	6,86	1475	60,1	Clase II
	Septiembre	22,9	21,2	6	5,51	1191	57,3	Clase III
	Octubre	19,8	22	-	8,15	1197	-	-
E5	Agosto	24,2	16,8	-	8,55	1752	-	-
	Septiembre	21,9	19,9	9	1,63	1131	49,3	Clase III
	Octubre	17	19,4	-	3,9	1234	-	-

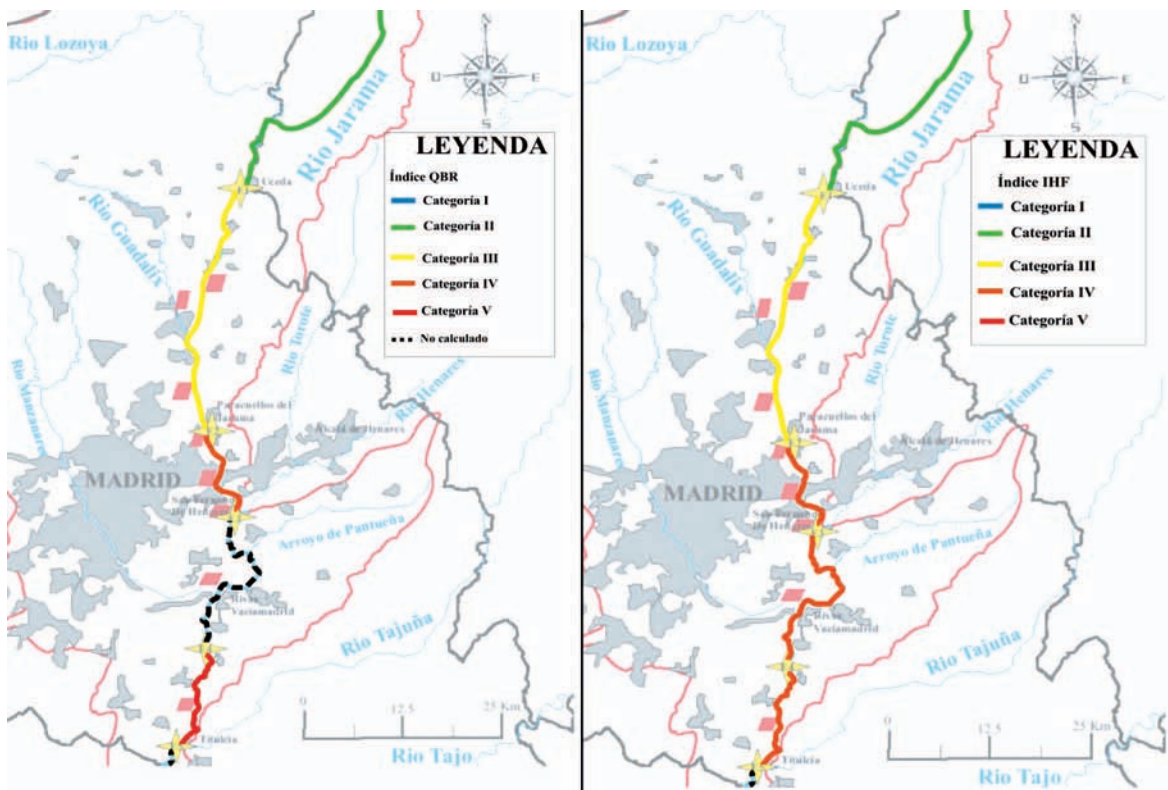
5.1.3. INDICADORES HIDROMORFOLÓGICOS

En la Tabla 12, y en la Figura 13 se presentan los resultados obtenidos para los índices hidromorfológicos utilizados en el proyecto.

Tabla 12. Resultados obtenidos para los indicadores hidromorfológicos de calidad ecológica IHF y QBR

Punto de muestreo	Mes	INDICADORES BIOLÓGICOS DE CALIDAD				
		QBR	Cat.	IHF	Cat.	Peor estado
E1- Uceda	Agosto					
	Septiembre	80	Bueno	78	Bueno	Bueno
	Octubre					
E2- Paracuellos del Jarama	Agosto					
	Septiembre	70	Moderado	56	Moderado	Moderado
	Octubre					
E3- San Fernando de Henares	Agosto					
	Septiembre	40	Deficiente	34	Deficiente	Deficiente
	Octubre					
E4- Rivas Vaciamadrid	Agosto					
	Septiembre	-	-	32	Deficiente	Deficiente
	Octubre					
E5- Titulcia	Agosto					
	Septiembre	10	Malo	39	Deficiente	Malo
	Octubre					

Figura 13. Mapas con los resultados de los índices hidromorfológicos QBR (izquierda) e IHF (derecha). (Periodo de Agosto a Octubre de 2010)





5.2. DETERMINACIÓN DEL ESTADO QUÍMICO

En este caso, el análisis químico estuvo muy limitado por la falta de datos. En cualquier caso con los datos disponibles obtenidos de la Confederación Hidrográfica del Tajo, los resultados son los que se presentan en la Figura 14 y en la Tabla 13, donde el color azul indica que se cumple con la legislación vigente (Directiva 2008/105/CE o RD 60/2011) respecto a las sustancias recogidas en ella, estimándose como "Bueno" el estado químico.

Figura 14. Mapa del estado químico para los tramos estudiados



5.3. DETERMINACIÓN DEL ESTADO DE LAS MASAS DE AGUA

Una vez conocidos los estados ecológico y químico de los tramos de río estudiados, siguiendo la metodología presentada en

la Figura 8, se obtienen los resultados que aparecen en la Tabla 14 y en la Figura 15.

Tabla 14. Resultados obtenidos para el estado de los tramos estudiados (Agosto-Octubre 2010)

Punto de muestreo	Índice Ecológico	Índice Químico	Estado de la masa de agua
E1- Uceda	Bueno	Bueno	Bueno o mejor
E2- Paracuellos del Jarama	Moderado	Bueno	Peor que Bueno
E3- San Fernando de Henares	Deficiente	Bueno	Peor que Bueno
E4- Rivas Vaciamadrid	Deficiente	Bueno	Peor que Bueno
E5- Titulcia	Deficiente	Bueno	Peor que Bueno

Figura 15. Estado de los tramos estudiados del río Jarama para el periodo comprendido entre los meses de Agosto y Octubre de 2010

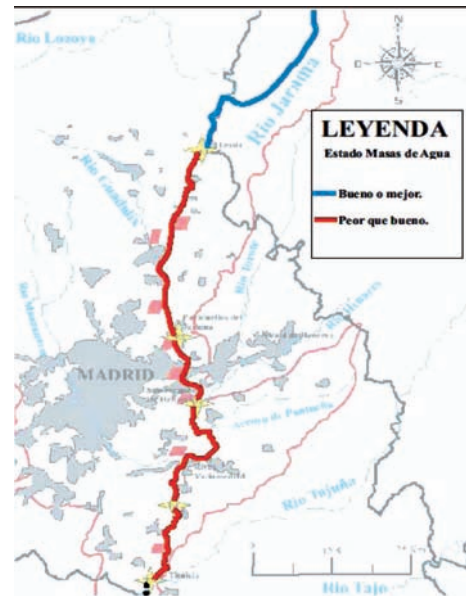


Tabla 13. Resultados obtenidos para el estado químico conforme a la Directiva 2008/105/CE y el RD 60/2011. (Azul: cumple con la normativa; Rojo: No cumple)

ESTACIÓN	E1 - UCEDA		E2 - PARACUELLOS		E3 - SAN FERNANDO		E4 - RIVAS VACIAMADRID		E5 - TITULCIA	
	SEPT	AGO	SEPT	AGO	SEPT	AGO	SEPT	AGO	SEPT	AGO
Mercurio (mgHg/l)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Cadmio (mgCd/l)	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025
Plomo (mgPb/l)	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Hidrocarb. Dis. (mg/l)	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	1,1	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Cianuros (mgCN/l)	<0,016	<0,016	<0,016	<0,016	<0,016	<0,016	<0,016	<0,016	<0,016	<0,016
Fluoruros (mgF/l)	0,14	0,28	0,29	0,39	0,33	0,35				
Arsénico (mgAs/l)	<0,004	0,005	0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004
Cromo total (mgCr/l)	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005
Cobre (mgCu/l)	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005
Cinc (mgZn/l)	<0,005	<0,005	0,008	0,010	0,011	0,008				



6. DISCUSIÓN

Con respecto a los tres índices biológicos utilizados para la caracterización del estado ecológico (IBMWP, BBI e ITC), cabe destacar que la principal diferencia entre ellos es el nivel de información y conocimiento requeridos con respecto a los organismos macroinvertebrados bentónicos, para su cálculo. De entre ellos el más sencillo de todos, por necesitar únicamente llegar a un nivel de identificación de familia, es el IBMWP (*Iberian Biomonitoring Working Party*), siguiéndole el BBI (*Belgian Biotic Index*) que requiere un nivel de identificación superior (género), siendo el más complejo el ITC (*Index of Trophic Completeness*) que requiere una identificación a nivel de especie, además de requerir un grado de conocimiento superior de los organismos con respecto a sus hábitos alimenticios, debido a que este índice tiene en cuenta dichas variables para su cálculo. Todo esto supone, un mayor requerimiento de tiempo e información, cuanto más complejo sea el índice utilizado.

Si atendemos a los resultados obtenidos con estos índices biológicos, cabe destacar que existe una gran semejanza entre los tres, lo que estaría indicando además, que no necesariamente una mayor información con respecto a los organismos o, una mayor complejidad del método (índice) utilizado, arroja mejores resultados que los estimados con métodos más prácticos y sencillos.

Cabe destacar las limitaciones detectadas con respecto al índice ITC, producida a consecuencia de la falta de información en la base de datos del software utilizado para su cálculo, sobre macroinvertebrados bentónicos identificados en el río Jarama. A raíz de esto, se producen desviaciones a veces en sentido positivo (mejor valoración de calidad) y a veces negativo (peor valoración de calidad), con respecto al índice utilizado en España (IBMWP) y, que puede considerarse como referente para los otros dos por estar adaptado especialmente para la Península Ibérica (Torres *et al.*, 2010).

Para el punto E1: Uceda, el valor estimado de calidad por el IBMWP, corresponde con un estado ecológico "muy bueno", al igual que el obtenido con el índice BBI; sin embargo, el valor del índice ITC, es "Bueno", lo cual resulta extraño, teniendo en cuenta el grado de naturalidad y conservación de dicho punto. No obstante, esta variación observada en el índice ITC tiene su explicación al tenerse en cuenta lo comentado en el párrafo anterior, considerándose que se está produciendo una subestimación de la calidad ecológica debido a que no todas las especies identificadas fueron consideradas en su cálculo.

Si se observa el resto de puntos de muestreo, la variación, en cuanto a la categoría de calidad ecológica determinada entre el IBMWP y el ITC, es siempre positiva o neutra, es decir, o interpreta una mejor calidad que el IBMWP, o se mantiene constante, pudiendo considerarse entonces un índice bastante bueno, robusto y fiable como para poder ser utilizado en futuras campañas de muestreo, una vez que, naturalmente, se haya actualizado la base de datos del software utilizado para el cálculo del índice ITC (MaTroS). Además este índice, tiene la ventaja de que la estimación del estado ecológico, no reside solo en el hecho de la aparición/desaparición de especies y/o familias como es el caso del IBMWP o el BBI, sino que va un paso más allá y estu-

dia las relaciones tróficas de los diferentes grupos taxonómicos de macroinvertebrados, dando una información más funcional sobre el ecosistema.

Con respecto a la comparación entre el índice BBI y el IBMWP, es necesario comentar que también aparece una similitud entre dichos índices, aunque, al igual que sucedía con el ITC, el BBI no arroja resultados tan fiables como los del IBMWP, por producirse una sobreestimación de la calidad ecológica con respecto a los valores obtenidos por el IBMWP. Además supone unos mayores requerimientos de conocimiento, que se traducen en un proceso más lento para la estimación de la calidad ecológica.

Por tanto, a pesar de las posibles limitaciones que pueda presentar el índice IBMWP, debido a su rapidez, simpleza, estar adaptado a los ríos de la Península Ibérica y, viendo que sus resultados no difieren mucho con respecto a los resultados arrojados por otros índices más complejos, se garantiza una buena estimación de la calidad ecológica mediante su utilización. El hecho de que sus valores sean inferiores a los obtenidos por otros índices más complejos, permite además trabajar con un rango de seguridad más amplio.

Por otro lado, en cuanto a los resultados derivados del Índice fisicoquímico (ISQA), y teniendo en cuenta la limitación con respecto a los datos comentada en apartados anteriores del informe, puede observarse como en general, a medida que se avanza a lo largo del cauce del río Jarama, la calidad se va viendo afectada. Así pues, en el tramo alto (E1: Uceda) las condiciones fisicoquímicas son óptimas, con una calidad ecológica "Muy Buena"; en el punto E2: Paracuellos del Jarama, las condiciones van empeorando, pero manteniéndose en una calidad "Buena". Sin embargo, a partir del punto E3: San Fernando de Henares, E4: Rivas vaciamadrid, y E5: Titulcia, la calidad desciende a un estado "Moderado", lo que quiere decir que existe cierto grado de contaminación, posiblemente debido a los vertidos procedentes de Estaciones Depuradoras, especialmente en San Fernando, de polígonos industriales, o de aportes de aguas de otros cauces más contaminados (Henares, Manzanares, etc.).

En los puntos en los que la calidad ecológica se ve disminuida (E3, E4 y E5), puede determinarse que el río no cumple los objetivos de calidad fisicoquímica esperada y deseada. En el caso del punto E3: San Fernando de Henares, esta disminución en la calidad puede considerarse como un claro efecto de la presencia de la depuradora "Casa Quemada", de modo que lo que se está produciendo es un mal funcionamiento de dicha depuradora.

En el caso del punto E4: Rivas-vaciamadrid, la disminución de la calidad fisicoquímica puede deberse a varios aspectos: el primero de ellos, a la presencia de graveras, granjas y campos de cultivo en los alrededores, que supone un aporte de nutrientes, materia orgánica y sólidos en suspensión que modifican la calidad del agua; el otro motivo, es el aporte de aguas por parte del río Manzanares, y a la presencia en esa zona de la EDAR Sur. Esta disminución en la calidad no se aprecia en el mes de agosto, quizá debido a la disminución de la población por el período estival.

Finalmente, en cuanto al punto E5: Titulcia, la disminución en la calidad es debida al vertido directo de las aguas residuales procedentes del núcleo de población, siendo curioso que la disminución



de la calidad no haya alcanzado categorías de calidad inferiores a la “Moderada”, especialmente tratándose de meses de muestreo de estiaje, donde el caudal del río no es suficientemente abundante como para diluir el vertido. Posiblemente, el motivo por el que sucede esto, es el mismo que para el valor del índice en el mes de agosto en el punto E4: Rivas-vaciamadrid, es decir, la disminución de la población con motivo del periodo vacacional.

Los Índices Hidromorfológicos de calidad ecológica (QBR e IHF) determinados por la Confederación Hidrográfica del Tajo, son correlacionables con las observaciones de campo realizadas, a excepción del tramo correspondiente al punto E3: San Fernando de Henares, en el que se obtiene una calidad ecológica “Deficiente” para ambos índices aun cuando en campo, puede verse cierto grado de naturalidad de las riberas. Esto, puede deberse a que el punto seleccionado por la Confederación Hidrográfica del Tajo, no se corresponde exactamente con el punto de muestreo seleccionado para la realización de este proyecto.

Con respecto a la estimación del Estado Químico de los tramos estudiados y, teniendo en cuenta las limitaciones que se han comentado anteriormente con respecto a la insuficiencia de datos, puede decirse que todas los tramos estudiados cumplen con los valores establecidos en la Directiva Marco del Agua, la Directiva Europea 2008/105 y el RD 60/2011.

A la vista de los resultados el único tramo que cumple con el “Buen Estado” es el situado aguas arriba del punto E1: Uceda, siendo necesario establecer medidas en el resto de tramos, con el fin de alcanzar el “Buen Estado” antes del año 2015, tal y como establece la Directiva Marco del Agua.

7. CONCLUSIONES

A continuación se presentan las conclusiones derivadas del proyecto realizado.

1. De todos los índices biológicos analizados en el proyecto, debería elegirse el IBMWP por su simpleza y menor necesidades en cuanto a tratamiento de la muestra (nivel menor de identificación taxonómica para los macroinvertebrados), ya que los resultados son muy fiables, y permiten establecer un rango de seguridad superior en sus estimaciones con respecto a los otros dos índices evaluados (BBI, ITC) para estudios realizados en la Península Ibérica.
2. Una mayor información o mayor profundización en la identificación de organismos macroinvertebrados bentónicos para el cálculo de índices biológicos de calidad ecológica complejos, no arroja, necesariamente, resultados más fiables que aquellos estimados con métodos más sencillos.
3. En el caso de querer trabajar con el índice ITC, será necesaria la ampliación de la base de datos del software informático utilizado para su cálculo (MaTroS), con especies presentes en los ríos españoles.
4. Todos los puntos estudiados, cumplen con el *Valor Limite Admisible* establecidos por la Directiva Europea 2008/105, Directiva Marco del Agua y RD 60/2011.

5. El único tramo que cumple con el buen estado definido por la Directiva Marco del Agua, es el E1: Uceda.
6. Como recomendación para próximos estudios, sería conveniente elegir puntos de muestreo coincidentes, o muy próximos a los seleccionados por la Confederación Hidrográfica del Tajo, con el fin de asegurar la validez de los resultados obtenidos al utilizar no solo datos de campo, sino datos disponibles en las Administraciones Públicas. Además de requerirse análisis mas completos, sobre todo desde el punto de vista fisicoquímico y químico (sustancias prioritarias).

8. BIBLIOGRAFÍA

- Agencia Catalana del Agua. 2011. *Índices de calidad*. <Accesible en URL: http://aca-web.gencat.cat/aca/appmanager/aca/aca?_nfpb=true&_pageLabel=P12000416241229447266706&profileLocale=es>.
- Alba-Tercedor, J. 1996. *Macroinvertebrados acuáticos y calidad de las aguas de los Rios*. IV Simposio del Agua en Andalucía (SIAGA), Almería, 2, 203-213.
- Alba-Tercedor, J.; Jaimes-Cuellar, P.; Álvarez, M.; Avilés, J.; Bonada, N.; Casas, J.; Mellado, A.; Ortega, M.; Pardo, I.; Prat, N.; Reradevall, M.; Robles, S.; Sainz-Cantero, C. E.; Sánchez-Ortega, A.; Suárez, M. L.; Toro, M.; Vidal-Abarcam M. R.; Vivas, S.; Zamora-Muñoz, C. 2002. *Caracterización del estado ecológico de ríos mediterráneos ibéricos mediante el índice IBMWP (antes BMWP)*. *Limnetica*, 21 (3-4), 175-185.
- Balaban, A.; Constantinescu, E. 2006. *The Comparison of the Belgian Biotic Index with physico-chemical analyses for Danube water*. *Chimie, Anul XV (serie noua)*, 11, 21-25.
- Benke, A. C.; Wallace J. B. 2003. *Influence of wood on invertebrate communities in streams and rivers*. *American Fisheries Society Symposium*, 37, 149-177.
- Bij de Vaate, A.; Pavluk, T. I. 2004. *Practicability of the Index of Trophic Completeness for running waters*. *Hydrobiologia*, 519, 49-60.
- BOE. 2001. *Real Decreto Legislativo 1/2001, de 20 de julio, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Aguas*. BOE nº176, 24/07/2001.
- BOE. 2003. *Ley 62/2003, de 30 de Diciembre, de medidas fiscales, administrativas y del orden social*. BOE nº313, 31/12/2003.
- BOE. 2007. *Real Decreto 907/2007, de 6 de Julio, por el que se aprueba el Reglamento de la Planificación Hidrológica*. BOE nº162, 07/07/2007.
- BOE. 2008. *Orden ARM/2656/2008, de 10 de Septiembre, por la que se aprueba la Instrucción de Planificación Hidrológica*. BOE nº229, 22/09/2008.
- BOE. 2011. *Real Decreto 60/2011, de 21 de Enero, sobre las normas de calidad ambiental en el ámbito de la política de aguas*. BOE nº19, 22/01/2011.
- CEDEX. 1994. *Informe interno sobre calidad de los ríos de la Comunidad de Madrid*. Editado por el Centro de Estudios y Experimentación, CEDEX, Madrid.



- Cemagref. 1982. *Etudes des méthodes biologiques d'appréciation quantitative de la qualité des eaux*. Rapport Q.E. Agence de l'Eau Rhone-Méditerranée-Corse. Lyon.
- Confederación Hidrográfica del Ebro – Ministerio de Medio Ambiente. 2005. *Metodología para el establecimiento del Estado Ecológico según la Directiva Marco del Agua: Protocolos de muestreo y Análisis para invertebrados bentónicos*. Editado por la Confederación Hidrográfica del Ebro. Comisaría de aguas.
- Confederación Hidrográfica del Júcar – Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino. 2009. *Documento técnico de referencia: Evaluación del estado de las masas de agua superficial y subterránea. Ámbito territorial de la confederación hidrográfica del Júcar*.
- Confederación Hidrográfica del Tajo - Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. 2011. *Calidad*. <Accesible en URL: www.chtajo.es>.
- Cummins, K. W. 1992. *Invertebrates – The Rivers Handbook*, Vol. 2. Ed. P. & G. E. Petts, Blackwell Science, Oxford.
- De Pauw, N.; Lambert, V.; Van Kenhove, A. 1994. *Performance of two artificial substrate samplers for macroinvertebrates in biological monitoring of large and deep rivers and canals in Belgium and the Netherlands*. Environmental Monitoring and Assessment, 30, 25-47.
- DOCE. 2000. *Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 23 de Octubre de 2000 por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas*. DOCE L 327/1, 22/12/2000.
- DOUE. 2008. *Directiva 2008/105/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 16 de Diciembre de 2008 relativa a las normas de calidad ambiental en el ámbito de la política de aguas, por la que se modifican y derogan ulteriormente las Directivas 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE y 86/280/CEE del Consejo, y por la que se modifica la Directiva 2000/60/CE*. DOUE L 348, 24/12/2008.
- Hernández Muñoz, A. 1990. *Depuración de aguas residuales*. E.T.S.I.C.C.O., Madrid.
- Ingeniería Civil y Medio Ambiente - Miliarium Aureum S.L. 2001, 2011. <Accesible en URL: www.miliarium.com>.
- Instituto Nacional de Estadística. 2011. *Demografía*. <Accesible en URL: www.ine.es>.
- Izquiero, J. A.; Suarez, P.; Yustos, J. L. 1998. *El Río Jarama: Desde el Pico de las Tres Provincias hasta Aranjuez*. Ed. Los libros de la catarata. Fuencarral.
- Metcalfe, J. L. 1989. *Biological Water Quality Assessment of Running Waters Based on Macroinvertebrate Communities: History and Present Status in Europe*. Environmental Pollution, 60, 101-139.
- Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. 2011. <Accesible en URL: <http://www.marm.es>>.
- Mingo Magro, J. 1981. *La vigilancia de la contaminación fluvial*. MOPU. Madrid.
- Moog, O. 2005. *Deliverable N°8 – Part 1. Manual on pro-rata Multi-Habitat-Sampling of benthic invertebrates from Wadeable rivers in the KHK region*. Kathmandu University, Dhulikhel, Nepal.
- Munné, A.; Solá, C.; Prat, N. 1998. *QBR: Un índice rápido para la evaluación de la calidad de los ecosistemas de ribera*. Tecnología del agua, 175, 20-37.
- Munné, A.; Prat, N.; Solá, C. Bonada, N.; Rieradevall, M. 2003. *A simple field method for assessing the ecological quality of riparian habitat in rivers and streams: QBR index*. Marine and Freshwater Ecosystems, 13, 147-163.
- Ollero Ojeda, A.; Ballarín Ferrer, D.; Mora Mur, D. 2009. *Aplicación del Índice Hidromorfológico IHG en la cuenca del Ebro. Guía Metodológica*. Editado por la Confederación Hidrográfica del Ebro. Zaragoza.
- Pardo, I.; Álvarez, M.; Casas, J. J.; Moreno, J. L.; Vivas, S.; Bonada, N.; Alba-Tercedor, J.; Jaimez, P.; Moyá, G.; Prat, N.; Robles, S.; Toro, M.; Vidal-Abarca, M. R.. 2002. *El hábitat de los ríos mediterráneos. Diseño de un índice de diversidad de hábitat*. Limnética, 21, 115-133.
- Pavluk, T. I.; Bij de Vaate, A.; Leslie H. A. 2000. *Biological assesment method based on Trophic Structure of benthic macroinvertebrate communities*. Hydrobiologia, 427, 135-141.
- Plataforma Jarama vivo. 2001. *Informe sobre el Río Jarama*. <Accesible en URL: <http://www.elsoto.org/informe.pdf>>.
- Real, M.; Queralt, A.; Sáez, D.; Acuña, V.; Casanovas-Berenguer, R. 2006. *Protocolo HIDRI: Protocolo para la valoración de la calidad hidromorfológica de los ríos*. Agencia Catalana del Agua. Barcelona.
- Torres, A.; Conty, A.; Relaño, C. 2010. *Atlas de Macroinvertebrados de la Cuenca del Tajo*. Confederación Hidrográfica del Tajo. Comisaría de Aguas. Madrid.
- Vega, M. M.; Fernandez, C.; Blázquez, T.; Tarazona, J. V.; Castaño, A. 1996. *Biological and Chemical tools in the toxicological risk assesment of Jarama river, Madrid, Spain*. 2, 135-135.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA PARA MACROINVERTEBRADOS:

- Agencia provinciale per la protezione dell'ambiente. *Atlante per il riconoscimento dei Macroinvertebrati dei corsi d'acqua Italiani*. Provincia Autonoma di Trento.
- Fernández, M. E.; Montes del Olmo, C. *Claves para la determinación de macroinvertebrados bentónicos, no marinos, de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Universidad Autónoma de Madrid.
- García de Jalón, D. 1981. *Description of Hydropsyche larvae found in the Iberian Peninsula*. Proc. Of the 3rd Int. Symp. On Trychoptera. Ed. G. P. Moretti Series Entomologica, 20.
- Tachet, H.; Richoux, P.; Bournaud, M.; Usseglio-Polatera, P. 2000. *Invertébrés de eau douce. Systématique, biologie, ecologie*. CNRS Editions, Paris.
- Vallenduuk, H. J.; Moller-Pillot, H. K. M. 1999. *Key to the larvae of Chironomus in Western Europe*. RIZA Rapport. 97053, 1-13.
- Vallenduuk, H. J. 1999. *Key to the larvae of Glyptotendipes Kieffer (Diptera, Chironomidae) in Western Europe*. RIZA Rapport. 97052, Lelystad.



9. ANEXOS

9.1. ANEXO 1: FICHAS DESCRIPTIVAS SOBRE LOS PUNTOS DE MUESTREO ESTABLECIDOS PARA LA REALIZACIÓN DEL PROYECTO

PUNTO: E1

Nombre: Uceda

Coordenadas:

N- 40° 50' 33.3"

W- 3° 25' 11.2"

Masa de agua según la Confederación Hidrográfica del Tajo: 12107

Estación de la red de control de la C.H. Tajo: 302 (Uceda)

Descripción:

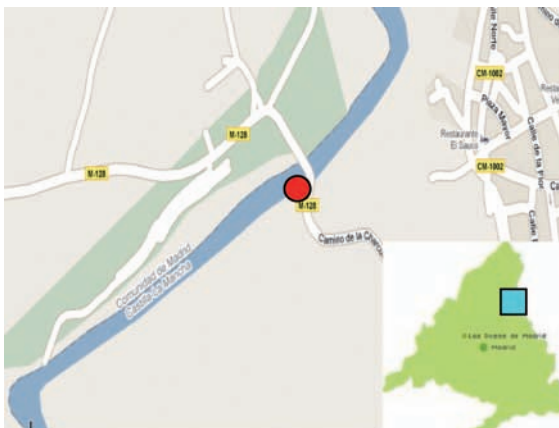
Localizado Aguas Abajo de Uceda (Guadalajara), es el punto menos modificado y menos impactado desde el punto de vista antrópico. Se encuentra en el tramo alto del río Jarama, donde las condiciones naturales son excelentes y donde se espera la obtención de unos índices de calidad tanto ecológica como química buenos o muy buenos.

En este tramo, el río posee un lecho muy pedregoso, con grandes cantos rodados y con una vegetación de ribera bastante bien conservada con chopos (*Populus sp.*), Zarzamoras (*Rubus ulmi-folius*), Sauces (*Salix sp.*), y macrófitos acuáticos entre otros.

Fotografía del punto de muestreo



Mapa de situación



PUNTO: E2

Nombre: Paracuellos del Jarama.

Coordenadas:

N- 40° 29' 54.1"

W- 3° 32' 55.1"

Masa de agua según la Confederación Hidrográfica del Tajo: 12117

Estación de la red de control de la C.H. Tajo: 47 (San Sebastián de los Reyes)

Descripción:

Situado bajo el puente de la carretera M-111 de Ajalvir a Vicálvaro, es un punto del tramo medio del río Jarama. Está situado aguas abajo del Polígono Industrial conocido como "El Cerbellón". En este punto se pretende estudiar el grado de afección que este polígono tiene sobre la calidad de las aguas, amén de comprobar como, a medida que el Jarama se acerca a la capital atravesando varios núcleos de población, su calidad va viéndose afectada.

En este caso, la naturalidad del río es menor que en E1, con una peor conservación de las riberas. Esto es observable a simple vista, viéndose además, como la calidad del agua es peor que en dicho punto debido a una mayor presencia de materia orgánica y sólidos en suspensión. Esto es probablemente producido por un mayor número de vertidos procedentes de los polígonos industriales aguas arriba del punto de muestreo.

Fotografía del punto de muestreo



Mapa de situación





PUNTO: E3

Nombre: San Fernando de Henares.

Coordenadas:

N- 40° 24' 41"

W- 3° 30' 38.3"

Masa de agua según la Confederación Hidrográfica del Tajo:
12109

Estación de la red de control de la C.H. Tajo: 48 (San Fernando de Henares).

Descripción:

Se localiza aguas abajo de la Estación Depuradora de Aguas Residuales (EDAR) "Casa Quemada", de San Fernando de Henares. Con la elección de este punto se pretende comprobar el grado de afección que esta depuradora tiene sobre la calidad del río Jarama, así como estudiar la afección que varias graveras, situadas aguas arriba, pudieran tener sobre la misma.

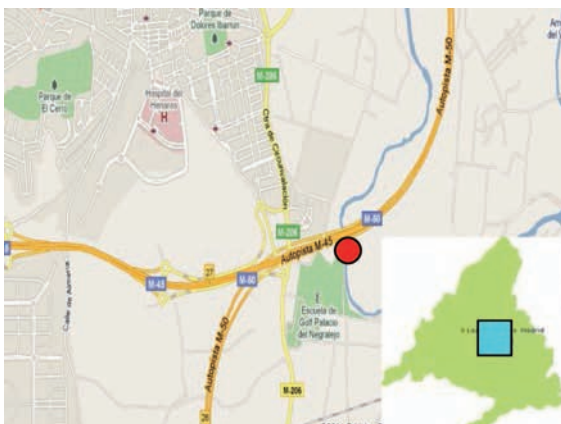
El grado de naturalidad del sitio es medio, puesto que aparecen reforestaciones parciales, con un grado de conservación media de los márgenes del río, en los que aparece numerosa avifauna como patos, fochas, etc.

Este punto se encuentra situado aguas arriba de la confluencia con el río Henares, lo que permite conocer la calidad del Río Jarama antes de la recepción de afluentes importantes.

Fotografía del punto de muestreo



Mapa de situación



PUNTO: E4

Nombre: Rivas vaciamadrid.

Coordenadas:

N- 40° 14' 16.3"

W- 3° 32' 21.1"

Masa de agua según la Confederación Hidrográfica del Tajo:
12110

Estación de la red de control de la C.H. Tajo: 50 (E. Presa del Rey).

Descripción:

Situado aguas abajo de la confluencia con el Río Manzanares (en las proximidades del puente de la carretera M-506) es un punto del tramo medio-bajo del río Jarama. En él, se pretende estudiar la calidad del río tras la recepción de aguas procedentes de sus dos principales afluentes, el Henares y el Manzanares, así como estudiarse la afección de graveras y granjas situadas a lo largo del cauce aguas arriba de esta situación (principalmente en las proximidades de Rivas-vaciamadrid).

Se trata de un punto bastante impactado desde el punto de vista antrópico, sin prácticamente vegetación de ribera y con gran actividad cinagética, tal y como demuestran los restos de cartuchos observados en la zona de muestreo.

Se trata de un tramo del río con una mala calidad, tal como demuestran las observaciones *in situ*, en las que se detecta abundante materia orgánica en suspensión y restos orgánicos, como lana procedente de las granjas de ganado ovino aguas arriba. El lecho del río es mucho más fangoso, debido a que el tramo tiene un comportamiento más sedimentario.

Fotografía del punto de muestreo



Mapa de situación





PUNTO: E5

Nombre: Titulcia.

Coordenadas:

N- 40° 08' 17.4"

W- 3° 34' 41.9"

Masa de agua según la Confederación Hidrográfica del Tajo:

12114

Estación de la red de control de la C.H. Tajo: 204 (San Martín de la Vega).

Descripción:

Situado bajo el puente nuevo de Titulcia, carretera M-404, es el punto más próximo (de los muestreados) a la desembocadura del Jarama en el río Tajo.

Está situado aguas arriba de la confluencia con el río Tajuña, y su selección se corresponde con la necesidad de estudiar la evolución de la calidad de las aguas del río tras haber atravesado grandes núcleos de población y recibir aguas de varios afluentes a medida que se dirige hacia su desembocadura, además de pretender estudiar cómo afectan los vertidos procedentes de núcleos de población sin depuradora (Titulcia).

En este punto, la naturalidad del cauce es moderada con relativa abundancia de avifauna, pero caracterizada por una calidad pésima de sus aguas como demuestran, el fuerte olor a huevos podridos (ácido sulfhídrico) y el gran aporte de materia orgánica procedente de los vertidos directos del núcleo de población (Titulcia) al río Jarama.

Fotografía del punto de muestreo



Mapa de situación





9.2. ANEXO 2: TABLAS DE MACROINVERTEBRADOS BENTÓNICOS IDENTIFICADOS EN CADA UNO DE LOS PUNTOS DE MUESTREO SELECCIONADOS PARA LA REALIZACIÓN DEL PROYECTO

E1: UCEDA

Tipo de Sustrato	AGOSTO				SEPTIEMBRE				OCTUBRE				
	ROCAS		RFD		ROCAS		RFD		ROCAS		RFD		
	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	
Especimen													
OLIGOCHAETA													
Familia Lumbricidae													
Eisenella tetraeca					6	0,4785	1	0,006			11	0,493	
Familia Enchytraeidae													
Familia Lumbricidae													
Lumbriculus variegatus	1	0,0026	2	0,0054									
Rhyncelmis limosella			1	0,0002									
Familia Tubificidae													
Tubifex tubifex					2	0,0004							
HIRUDINEA													
Familia Erpobdellidae													
Erpobdella octoculata	2	0,0022					1	0,0006			1	0,0015	
Familia Hirudinidae													
Helobdella stagnalis											1	0,0088	
GASTROPODA													
Familia Planorbidae													
Ancylus fluviatilis	12	0,055	1	0,0005	6	0,0084	12	0,0375	24	0,11	21	0,148	
DIPTEROS													
Familia Chironomidae													
Brillia flavifrons			1	0,0016									
Chironominae (pup)			1	0,0007									
Cricotopus sylvestrus	10	0,002	5	0,0015			5	0,0033	7	0,0068	3	0,0022	
Microtendipes ar. Pedellus												1	0,0008
Microtendipes rycklensis					10	0,0062	2	0,0006					
Orthocladius (rup)	3	0,0004	3	0,0007	1	0,0004	3	0,0019	13	0,0148	6	0,0053	
Orthocladius	20	0,0065			16	0,0097	85	0,048	120	0,1141	10	0,0063	
Paratrichocopus			3	0,0021									
Paratrichocopus niger	2	0,0004											
Paratrichocopus					2	0,0008	7	0,0032	12	0,0085	2	0,0005	
Procladius olivacea			1	0,0018									
Symptothasia zavrei					1	0,0003							
Tanytarsus (pup)			3	0,0038	5	0,0065							
Thienemanniella	11	0,01	6	0,0076	2	0,0035	3	0,0035					
Familia Atheriidae													
Atherichia crassipes			1	0,0035	1	0,0026							
Familia Cylindrotomidae													
Cylindrotomidae (pupa)												1	0,0005
Familia Empididae													
Empididae (pupa)							1	0,0017					
Wiedemannia	3	0,0038											
Familia Limoniidae													
Hexatoma									2	0,0012			
Familia Muscidae													
Limnophora									1	0,0039			
Familia Psychodidae													
Peripsychoda												1	0,0003
Familia Ceratopogonidae													
Probezzia									1	0,0001			
Familia Simuliidae													
Simulium	1	0,0002	2	0,0004			7	0,009	200	0,332	10	0,0186	
Familia Tanaeidae									1	0,0005			
Familia Tipulidae													
Tipula									1	0,0132			
PLECOPTERA													
Familia Leuctridae													
Eulenia reniculata	20	0,0515	303	1,318	367	2,525	6	0,037			46	0,416	
Leuctra							5	0,0101	3	0,0089	126	0,477	
EPHEMEROPTERA													
Familia Baetidae													
Baetis alpinus					1	0,0032	3	0,0006					
Baetis rhodani	8	0,0097	2	0,0018					4	0,0134			
Baetis verus	4	0,0065			22	0,0635	22	0,0347	14	0,0148	72	0,3215	
Familia Caenidae													
Caenis macrura	1	0,0002	22	0,0462	1	0,002							
Caenis rivulorum					10	0,0205	1	0,0032			1	0,0001	
Familia Leptophlebiidae													
Choroterpes picteti	2	0,0104	46	0,2132	2	0,0235							
Familia Heptageniidae													
Ecdyonurus venosus	8	0,069	19	0,3908	21	0,4944	1	0,0445	4	0,008	8	0,097	
ODONATA													
Familia Aeschnidae													
Aeschna affinis					2	0,219							
Familia Calopterygidae													
Calopteryx splendens	1	0,0035	4	0,0062	4	0,015	1	0,0104			6	0,096	
Familia Gomphidae													
Onychocomphus flexuosus			1	0,119	1	0,2144					1	0,182	
COLEOPTERA													
Familia Halphidae													
Haliplus fluviatilis (imago)					1	0,0018							
Familia Elmidae													
Limnius (larva)			4	0,005	1	0,0016					12	0,0195	
Orectochilus villosus (larva)	2	0,0016					22	0,036	1	0,0014	9	0,0185	
Oulimnius (imago)	29	0,0111					15	0,0055	1	0,0004	5	0,0018	
Oulimnius (larva)	6	0,0006	17	0,0045	93	0,049	23	0,0066	8	0,0025	101	0,0354	
Elmidae (larva)	27	0,0048	17	0,0079	78	0,055	68	0,033	27	0,0245	104	0,1	
Elmidae (imago)	10	0,0095					24	0,025	1	0,0005	3	0,0048	
NEUROPTERA													
Familia Sisyridae													
Sisyra terminatis			1	0,0018									
TRICHOPTERA													
Familia Leptoceridae													
Leptoceridae (pupa)							4	0,0064					
Mystacides			1	0,0005									
Allnissodes			1	0,0005									
Familia Hydroptilidae													
Hydroptila	7	0,0052	1	0,0004									
Allotrichia pallicomis					1	0,0001	19	0,003	4	0,0005	1	0,002	
Familia Hydroptilidae													
Hydroptilidae instabilis	153	0,528	8	0,0038	3	0,0115	120	0,28	20	0,0347	42	0,369	
Hydroptilidae pellucidula	36	0,3985	2	0,0234	4	0,09	14	0,241	5	0,0625	4	0,085	
Hydroptilidae exocellata							14	0,1692	4	0,0448	34	0,349	
Hydroptilidae silvata							5	0,0245	14	0,1263	17	0,16	
Hydroptilidae (pup)							7	0,157	1	0,0213			
Familia Polycentropodidae													
Polycentropus flavomaculatus	3	0,0255	22	0,3375	2	0,015			1	0,0002	5	0,076	
Familia Psychomyiidae													
Psychomyia pusilla	104	0,1485	17	0,0182	1	0,0002	15	0,013	24	0,0105	2	0,0008	
Familia Rhyacophilidae													
Rhyacophila mutata					1	0,022							
ARANEI													
Familia Agelenidae													
Argyroseta aquatica							1	0,0004					
Familia Clubionidae													
Clubionidae					1	0,008							
COLEMBOLA													
Familia Isotomidae													
Isotoma viridis									1	0,0001			



E2: PARACUELOS DEL JARAMA

Tipo de Sustrato	AGOSTO						SEPTIEMBRE						OCTUBRE										
	ROCAS		MACROF		BOX samn		DAS 1		DAS 2		RFD		ROCAS		DAS 1		DAS 2		DAS 3		RFD		
	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	
Especimen	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	
OLIGOCHAETA																							
Familia Enchytraeidae			4	0,0006			3	0,0008			15	0,0017											
Familia Lumbriculidae																							
Lumbriculus variegatus																			1	0,0004			
Rhynchelmis limosella																							
Familia Tubificidae			4	0,0008																		8	
Limnodrilus hoffmeisteri																							
Limnodrilus udekemianus					10	0,0207					50	0,1015											
Tubifex tubifex					650	0,607	5	0,001			180	0,11	3	0,0006									
HIRUDINEA																							
Familia Salifidae																							
Barbronia weberi											2	0,047	2	0,0257						1	0,0024	1	0,088
Familia Haemopidae																							
Haemopsis sanguisuga													1	0,066									
Familia Glossiphoniidae																							
Helobdella stagnalis	8	0,0562	23	0,1188	5	0,0355	20	0,1065	144	0,685	103	0,43	99	0,3958	12	0,0546	8	0,0252	4	0,0237	10	0,045	
GASTROPODA																							
Familia Physidae																							
Physa adversa	53	0,7372	145	0,79	1	0,0026	154	2,098	750	12,0258	475	4,13	205	2,596	89	1,7345	85	1,691	155	2,164	140	1,21	
DIPTERA																							
Familia Chironomidae																							
Arctocolepia															4	0,0051							
Chaetocladius gr. Vitellinus																							
Chironomus riparius	2	0,0055			118	0,3058	5	0,0072	1	0,0015	5	0,0142	2	0,0017	17	0,02	4	0,008	5	0,0083	2	0,008	
Chironominae (pupa)							1	0,0012			1	0,0011			2	0,0067	2	0,0065	2	0,002	4	0,02	
Cricotopus sylvestris							2	0,0005					1	0,0005	3	0,0004	4	0,004	1	0,0006			
Cryptochironomus defectus													5	0,0057						1	0,0007	1	0,0005
Hudsonimya sp.	2	0,0022											1	0,001									
Micropsectra tuncii																							
Nanocladius gr. bicolor										6	0,0012												
Orthocladius (pup)										1	0,0006				1	0,0005	4	0,002	3	0,0027	10	0,0034	
Orthocladius sp.							2	0,0006					2	0,0008	8	0,0031							
Paracladius sp.	17	0,0033	60	0,168			22	0,0035	15	0,003	1	0,0001			52	0,0192	28	0,02	52	0,0455	6	0,0016	
Polypedium scalacnum	1	0,002										1	0,0002			1	0,0003						
Psectrotanytus varius					2	0,0055																	
Rheopelopia ornata	18	0,0203	30	0,029			13	0,011	11	0,01	2	0,002	6	0,0058	87	0,147	100	0,1375	48	0,085	9	0,0128	
Rheocricotopus fuscipes									3	0,0006													
Tanytarsus (pup)					1	0,004	1	0,0006							10	0,015	14	0,0262	8	0,0125	7	0,0105	
Tanytarsus excavatus	2	0,0005	38	0,0151			9	0,0048	8	0,007			1	0,0003	53	0,0186							
Familia Psychodidae																							
Clogmia albipunctata (Psychodidae)							3	0,0038															
Familia Ephydriidae																							
Familia Simuliidae																							
Simulium sp.	124	0,1842	167	0,1821			112	0,1785	5	0,0041			1	0,0005	39	0,054	16	0,0255	8	0,0094	44	0,074	
Simuliidae (pupa)							4	0,007					1	0,002									
Stegopterna freyi	22	0,0346	265	0,213			64	0,1037	5	0,006	12	0,0142	19	0,03	13	0,0168	17	0,0262	6	0,0077	4	0,0108	
EPHEMEROPTERA																							
Familia Baetidae																							
Baetis rhodani	143	0,1277	215	0,1372			50	0,0449	21	0,02	143	0,1855	93	0,0655	7	0,0135	13	0,0222	3	0,0074	108	0,296	
Baetis vernus	17	0,0102	21	0,0076			2	0,0019	1	0,0002	10	0,007	1	0,0001	7	0,0141	1	0,0005	6	0,007	190	0,4	
Clocon dipterum											2	0,0085											
ODONATA																							
Familia Libellulidae																							
Orthetrum albistylum											1	0,054											
CRUSTACEA																							
Familia Cambaridae																							
Procambarus clarkii																						1	0,0304
HETEROPTERA																							
Familia Corixidae																							
Micronecta							1	0,001															
TRICHOPTERA																							
Familia Hydropsychidae																							
Hydropsyche instabilis	16	0,1627																					
Hydropsyche pellucidula	40	0,7095	128	0,216			13	0,292			9	0,0916	6	0,0633	56	0,7074	60	0,738	48	0,4855	76	1,114	
Hydropsyche exocclata	480	3,145					520	3,55	202	0,865	38	0,238	65	0,1774	510	2,593	545	2,473	240	0,8655	160	1,465	
Hydropsyche (pupa)	15	0,44											1	0,0357								3	0,077



E3: SAN FERNANDO DE HENARES

Tipo de Sustrato	AGOSTO				SEPTIEMBRE								OCTUBRE								
	ROCAS		MACROF		DAS 1		DAS 2		DAS 3		RED		DAS 1		DAS 2		DAS 3		RED		
Especimen	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	
OLIGOCHAETA																					
Familia Lumbricidae			1	0,1928																	
Familia Tubificidae																					
Tubifex tubifex											3	0,0039									
HIRUDINEA																					
Familia Erpobdellidae																					
Erpobdella octoculata	181	1,665	124	1,0975	442	3,8575	708	6,636	851	8,61	119	1,167	348	5,088	354	5,253	135	1,734	70	0,536	
Familia Hirudinidae																					
Haemopsis sanguisuga							2	3,565							3	2,254	6	3,27			
Helobdella stagnalis	10	0,0525	11	0,0542	10	0,0675	3	0,0132	19	0,0944	3	0,007	19	0,0545	6	0,0442	5	0,0212	2	0,0024	
GASTROPODA																					
Familia Lymnaeidae																					
Lymnaea auricularia	1	0,291					2	1,0005					2	0,614							
Familia Physidae																					
Physa adversa	525	8,818	960	13,5	875	31,35	1180	37,805	1148	15,9585	480	5,3	1650	48,98	815	23,19	750	19,85	210	2,994	
DIPTERA																					
Familia Chironomidae																					
Chironomus riparius					13	0,0455	2	0,008	1	0,0035	2	0,002	3	0,0046	1	0,0037	7	0,009			
Cricotopus sylvestris	1	0,0009	2	0,0023	26	0,033	22	0,0163	9	0,0079	4	0,0052	5	0,0066			6	0,0052	2	0,002	
Dicrotendipes nervosus							1	0,0008							1	0,0002	6	0,0025			
Microsetra					15	0,0066							16	0,011	27	0,0128	11	0,0054	1	0,0003	
Microsetra junci							1	0,0002	3	0,001	2	0,0005									
Orthocladiinae (pupa)			1	0,0006	2	0,0016			1	0,0006	1	0,0009	1	0,0005	4	0,0023	3	0,0015			
Orthocladius	3	0,0021	3	0,001							1	0,0007	6	0,0027	13	0,0052	35	0,03	1	0,0003	
Parachironomus arcuatus					42	0,033	12	0,0078	3	0,003			15	0,014	7	0,0036	15	0,0159			
Familia Cylindrotomidae																					
Cylindrotomidae (pupa)									1	0,0024											
Trogma trisulcata (pup) (Cylindrotomidae)							1	0,005													
Familia Stratiomidae																					
Nemotelus sp.											1	0,0158									
Familia Simuliidae																					
Wilhelmia sp.																				14	0,0305
EPHEMEROPTERA																					
Familia Baetidae																					
Baetis rhodani													3	0,0074						60	0,13
Baetis vernus													5	0,0155	2	0,0026	4	0,0035	134	0,285	
Cloeon dipterum							1	0,0018			1	0,0026									
ODONATA																					
Familia Coenagrionidae																					
Enallagma cyathigerum					2	0,0054							3	0,0157			1	0,0145	1	0,0017	
Ischnura sp.							3	0,036													
Familia Libellulidae																					
Orthetrum brunneum													1	0,183							
CRUSTACEA																					
Familia Cambaridae																					
Procambarus clarkii													2	1,063	1	0,3865					
COLEOPTERA																					
Familia Carabidae (imago)					1	0,008															
TRICHOPTERA																					
Familia Hydropsychidae																					
Hydropsyche instabilis													1	0,002							
Hydropsyche exocellata							3	0,0355												6	0,0635

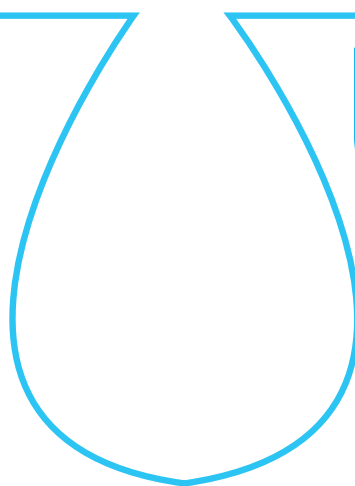


E4: RIVAS-VACIAMADRID

Tipo de Sustrato Especimen	AGOSTO				SEPTIEMBRE				OCTUBRE							
	MACROF.		RED		ROCAS		RED		DAS 1		DAS 2		DAS 3		RED	
	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso	Nº	Peso
OLIGOCHAETA																
Familia Lumbriculidae																
Lumbriculus variegatus													4	0,0208		
Stylobranchius heringianus									9	0,0468					3	0,0156
Familia Naididae																
Nais simplex			7	0,0035	13	0,0065	6	0,003			43	0,0207				
Familia Tubificidae																
Branchiura sowerbui																
Limnodrilus hoffmeisteri			3	0,0155	2	0,0104	28	0,0222	46	0,2392	27	0,1404	11	0,0572	11	0,0572
Tubifex sp.							1	0,0029							9	0,0468
HIRUDINEA																
Familia Erpobdellidae																
Erpobdella octoculata	1	0,0253	4	0,1355	3	0,0747	9	0,0147	47	0,1315	13	0,3473	62	1,2643	2	0,0563
Familia Glossiphoniidae																
Haementeria costata									9	0,0394						
Familia Haemopidae																
Helobdella stagnalis	72	0,7105	4	0,0317	21	0,136	14	0,094	74	0,3252	41	0,2429	93	0,5061	19	0,0521
Familia Gnathobdellae																
Hirudo medicinalis									1	1,7771			1	1,2904		
GASTROPODA																
Familia Planorbidae																
Ancylus expansilabris							1	0,0151								
Familia Physidae																
Physa adversa	102	5,3167	15	0,4303	1	0,0158	3	0,1277							1	0,0083
DIPTERA																
Familia Chironomidae																
Chironomus dorsalis	31	0,064	27	0,1164												
Cladotanytarsus gr.maneus					53	0,0265			14	0,007	41	0,0205	19	0,0095		
Cricotopus sylvestris	150	0,135	59	0,059	86	0,0774	53	0,0477			94	0,0846	31	0,0279	7	0,0063
Cryptochironomus defectus			38	0,085			22	0,033			32	0,048	4	0,006		
Orthocladinae (pup)	13	0,014	12	0,0204	15	0,015	16	0,016	1	0,0005	30	0,03	5	0,005		
Parachironomus arcuatus	58	0,058	63	0,0278	52	0,052	21	0,021	26	0,026	82	0,082	11	0,011		
Paracladius					100	0,09	22	0,0198	60	0,054	135	0,1215			4	0,0037
Paratanytarsus					13	0,0065										
Polypedilum nubeculosum			2	0,001												
Polypedilum scalanum			16	0,009	12	0,006	24	0,012	21	0,0012	29	0,0145	3	0,0015	1	0,0005
Rheocricotopus fuscipes					31	0,0248	61	0,0488	104	0,0912	112	0,0896	41	0,0201		
Tanytopodinae (pup)	21	0,0219	1	0,003			11	0,033	11	0,0018						
Tanytarsus			12	0,154	10	0,005	19	0,0095	116	0,0058	74	0,037	51	0,0255	3	0,0015
Familia Ephydriidae																
Notiphyla sp.							1	0,003								
Familia Simuliidae																
Stegopterna freyi							3	0,0098							1	0,0018
EPHEMEROPTERA																
Familia Caenidae																
Caenis luctuosa							2	0,0102								
Familia Baetidae																
Baetis alpinus															7	0,0275
Baetis vernalis							4	0,0133	1	0,0025	4	0,0092	4	0,0046	230	0,5272
Cloeon dipterum	2	0,0156														
ODONATA																
Familia Libellulidae																
Orthetrum albistylum							1	0,0425	1	0,2174					5	0,6428
Familia Platycnemididae																
Platycnemis pennipes	6	0,1809					1	0,0085	5	0,0245	2	0,0144	4	0,0144	1	0,0131
Familia Corduliidae																
Somatochlora metallica											1	0,0757				
CRUSTACEA																
Familia Cyprididae																
Familia Gammaridae																
Pontogammarus sp.			1	0,0029												
Familia Cambaridae																
Procambarus clarkii									2	0,2691	5	2,4465	2	0,5504	4	4,6178
Familia Daphniidae																
Simocephalus sp.	7	0,002														
COLEOPTERA																
Familia Dytiscidae																
Yola (larva)	1	0,0015														
HETEROPTERA																
Familia Corixidae																
Micronecta	2	0,0024					388	0,4146								
TRICHOPTERA																
Familia Hydropsychidae																
Hydropsyche pellucidula									32	0,2153	46	0,3432	52	0,4221	1	0,0112

escuela de posgrado
ESTUDIOS UNIVERSITARIOS DE POSGRADO EN **HIDROLOGÍA**

UAH URJC



máster universitario

en hidrología y gestión de recursos hídricos

proyectos
2011

Bioestimulación de microorganismos del suelo para la biodegradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos

autor

José Fernando Rodrigo Quejigo

director

Dra. Karina Boltes Espínola (UAH)

Alcalá de Henares, 16 de Junio de 2011



AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a varias personas y entidades la ayuda que me han prestado en la realización de este proyecto fin de máster.

En primer lugar a la directora del proyecto, Karina Boltés Espinola, al departamento de Ingeniería química y al grupo de Bioelectrogénesis, en especial al Dr. Abraham Esteve Nuñez, por su apoyo técnico para llevar a cabo los experimentos y sus aportaciones científicas para la discusión de los resultados.

También quería agradecer al CCG10-UAH/AMB-5899 de la Comunidad de Madrid, al BIO2008-02723 Plan Nacional de I+D+I y a la Universidad de Alcalá de Henares por la financiación de dicho proyecto.



ÍNDICE

1. Resumen	93
2. Introducción.....	93
2.1. Características físico-químicas del Dibenzotiofeno.....	93
2.2. Biodegradación de Dibenzotiofeno	94
2.3. Bioelectrogénesis: Pilas microbianas de combustible (MFCs).....	95
3. Objetivos del trabajo.....	96
4. Metodología	96
4.1. Muestreo.....	96
4.2. Ensayos de biodegradación	97
4.2.1. Componente y montaje	97
4.2.2. Ensayos de biodegradación	97
4.2.3. Pulsos	98
4.2.4. Desorción del Dibenzotiofeno	98
4.2.5. Análisis de DBT con HPLC.....	98
4.2.6. Eficiencia de una pila	99
4.3. Ensayos de Ecotoxicidad del Dibenzotiofeno.....	99
4.3.1. Preparación del ensayo	99
4.3.2. Cálculo de la ecotoxicidad	99
4.4. Ensayos de ATP	100
5. Resultados	100
5.1. Caracterización del suelo.....	100
5.2. Diferencia de potencial eléctrico en pilas sedimentarias.....	100
5.3. Biodegradación del Dibenzotiofeno	101
5.4. Ensayos de Ecotoxicidad	102
5.5. Ensayos de ATP	103
6. Discusión	103
6.1. Características del suelo.....	103
6.2. Diferencia de potencial eléctrico en pilas sedimentarias	103
6.3. Biodegradación del Dibenzotiofeno.....	104
6.4. Ensayos de Ecotoxicidad.....	104
6.5. Ensayos de ATP.....	104
7. Conclusiones	104
8. Bibliografía	105
9. Anejos.....	106
9.1. Cálculos de la concentración de DBT	106

1. RESUMEN

El Dibenzotiofeno (DBT) es un hidrocarburo policíclico aromático, constituyente del crudo petrolífero. Este compuesto y sus alquil derivados son utilizados como compuestos modelo en estudios de desulfuración, siendo difícil eliminarlos en las fracciones más pesadas del petróleo.

Las pilas microbianas de combustible (en inglés denominadas Microbial Fuel Cells, MFCs) son dispositivos que utilizan el metabolismo de las bacterias para producir una corriente de energía, a partir de la oxidación anaerobia de un amplio rango de sustratos (Tender et al, 2002). Las pilas microbianas contienen un ánodo de grafito que actúa como aceptor de los electrones que provienen de dicha oxidación. Este ánodo está separado por una membrana de difusión de protones del cátodo de grafito aerobio donde el oxígeno es reducido formándose agua. Esta reducción del oxígeno puede ser un proceso biótico ó abiótico. Así, las pilas microbianas de combustible son dispositivos que ofrecen una alternativa para solventar la limitación de aceptores de electrones, favoreciendo la degradación anaerobia de contaminantes (Bond et al., 2002). A este proceso se le denomina bioelectrogénesis.

Hay diversas adaptaciones del modelo general de las pilas microbianas de combustible. En este caso se han utilizado pilas microbianas sedimentarias, donde el ánodo se encuentra enterrado en un sedimento anaerobio mientras que el cátodo queda expuesto en la fase acuosa aeróbica que cubre el sedimento.

En el presente proyecto se ha ensayado la biodegradación anaeróbica del dibenzotiofeno en suelos contaminados bajo condiciones electrogénicas, bajo condiciones de biodegradación anaeróbica natural (control) y bajo condiciones no electrogénicas con aporte de un donador de electrones (lactato), demostrándose la importante mejora del proceso biológico de degradación cuando esta se lleva a cabo en una pila microbiana sedimentaria

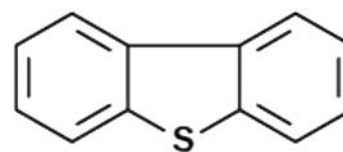
De forma paralela y con el fin de evaluar la peligrosidad de la presencia de dibenzotiofeno en ecosistemas acuáticos, se han realizado ensayos de ecotoxicidad sobre algas verdes unicelulares, calculándose el valor de la concentración que provoca una inhibición del 50% de la población de algas (EC50). Por otra parte, como una forma de valoración del contenido microbiano activo en el ánodo de las pilas microbianas, se ha medido el contenido de ATP de las células inmovilizadas en estos ánodos de grafito.

2. INTRODUCCION

2.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DEL DIBENZOTIOFENO

El Dibenzotiofeno (C₁₂H₈S) es un hidrocarburo policíclico aromático azufrado, compuesto de dos anillos bencénicos unidos por uno anillo tiofénico. Supone la mayor reserva de azufre en los combustibles fósiles (Kertesz et al, 2001).

Figura 1. Molécula de Dibenzotiofeno



El dibenzotiofeno (de aquí en adelante, nombrado como DBT) es una sustancia recalcitrante, difícil de eliminar de las diferentes fracciones del crudo, siendo por ello la molécula modelo en los estudios de desulfuración, junto con sus alquil derivados (Kilbane, J.J. 1990).

Durante la combustión de los combustibles fósiles, se produce la emisión de productos sulfurados a la atmósfera, tales como óxidos de azufre, que en contacto con el vapor de agua, se transforma en ácido sulfúrico, principal compuesto de la lluvia ácida. Este hecho, ha impulsado restricciones severas en los niveles de azufre de los combustibles. A nivel Europeo la Directiva

2003/17/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 3 de marzo de 2003, por la que se modifica la Directiva 98/70/CE relativa a la calidad de la gasolina y el gasóleo, impuso que a partir del 1 de enero de 2009, el contenido máximo de azufre en los gasóleos de automoción y en las gasolinas no puede superar los 10 mg/kg.

El DBT es una sustancia apolar, con una límite de solubilidad en agua de 1,47 mg/L a 25 grados centígrados, siendo la solubilidad decreciente con la disminución de temperatura. Por el contrario, es muy soluble en acetonitrilo, etanol y benceno (Lide, D.R. 1994).

Su Coeficiente de adsorción de carbono orgánico (Koc) oscila entre 5,3 y 18,9 con un valor medio de 11,120 (Yang et al, 1997). Estos valores y la determinación de su isoterma como lineal, apuntan hacia la tendencia del DBT a permanecer inmóvil en el suelo. De hecho el azufre del dibenzotiofeno y sus derivados puede persistir más de 3 años en el medio ambiente (Gundlach, E.R. et al, 1983). Debido a esta elevada persistencia el DBT puede acumularse en los suelos o sedimentos de sitios donde se han producido vertidos, siendo frecuente encontrarlo en diversos entornos como el suelo y sedimentos de agua superficial y subterránea.

En el siguiente cuadro se resumen algunas de las características físico-químicas del DBT.

Tabla 1: Características físico-químicas del DBT

Características físico-químicas del dibenzotiofeno (DBT)	
Fórmula empírica	C ₁₂ H ₈ S
Masa molar	184,25 g/mol
Temperatura de ignición	> 450 °C
Solubilidad en el agua	1,5 mg/l(25 °C)
Punto de fusión	95-98 °C
Punto de ebullición	331-333 °C

No hay datos aún en literatura sobre la toxicidad del DBT en algas verdes unicelulares. Si los hay en cambio de *Daphnia mag-*



na, cuyo LC50 (la concentración que resulta letal para el 50% de la población de dicho organismo) es 466 µg/L/48 horas (límite de confianza 95%: 324-708 µg/L/48 horas) (Eastmond, A. 1988).

2.2. BIODEGRADACIÓN DEL DIBENZOTIOFENO

La investigación sobre la degradación del DBT ha estado tradicionalmente enmarcada dentro de la industria petrolífera, donde de forma mayoritaria se ha eliminado, junto a otros componentes azufrados, mediante procesos de hidrodesulfuración. En dichos procesos se hace reaccionar una fracción petrolífera con hidrógeno gas, en presencia de un catalizador a altas temperaturas y presiones, transformándose el azufre en ácido sulfhídrico, un gas fácil de separar.

Paralelamente a la creciente restricción de las normativas de contenido en azufre en los combustibles, se implementó la investigación de los procesos de Biodesulfuración. En estos procesos los microorganismos toman el azufre de las moléculas aromáticas. Actualmente se continúa reforzando la investigación en esta área con el objeto de poder disponer en el futuro de diseños a nivel industrial para llevar a cabo la biodesulfuración, como un complemento a los procesos de hidrodesulfuración, pues de forma experimental son capaces de rebajar hasta 10 ppm los niveles de azufre en los combustibles (Kilbane, J.J. 2006) y ayudarían a rebajar el alto consumo energético del proceso de remoción del azufre de la industria del petróleo (Lizama et al, 1995).

Así, la biodesulfuración aprovecha la especificidad de las enzimas y los bajos costes de las biotransformaciones, que se llevan a cabo en condiciones muy suaves de presión y temperatura, para la eliminación selectiva de azufre en los combustibles fósiles, lo cual resulta en un ahorro energético y un mayor potencial de eliminación del azufre, en forma de sulfito/sulfato o de sulfuro de hidrógeno.

En 1990 se confirmó que el producto mayoritario en la degradación bacteriana del DBT era el 2-hidroxibifenil (de aquí en adelante, nombrado como 2HBP), lo que suponía que las bacterias reducían los compuestos orgánicos sulfurados rompiendo en enlace carbono-azufre (Kim et al, 1990), siendo *Rhodococcus erythropolis* IGTS8 la primera bacteria confirmada capaz de metabolizar el azufre de la molécula del DBT de forma selectiva sin verse afectado el valor energético del combustible (Kilbane, J.J. 1988). Esto fue un gran avance para el uso de la biodesulfuración en la industria de los combustibles fósiles pues es objetivo primordial que el esqueleto carbonado de las moléculas del combustible no se vea afectado para no disminuir su poder energético.

Así, las reacciones de los microorganismos capaces de degradar el DBT se pueden clasificar en:

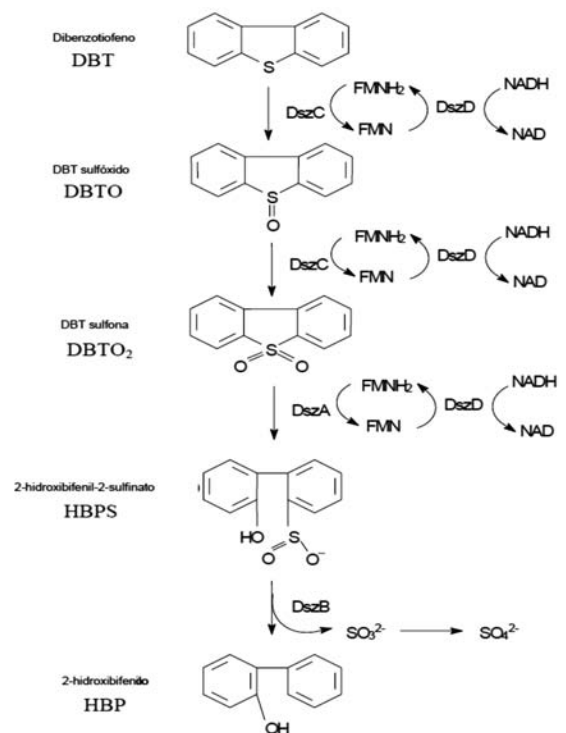
- Oxidación del azufre: El DBT se comporta como un aceptor de electrones y se transforma en dibenzotiofeno sulfona y derivados hidroxilados (Lizama et al, 1995).
- Escisión carbono-carbono (Mecanismo destructivo): El esqueleto de carbono es destruido siguiendo la ruta de Kodama lo que no es favorable en la industria del petróleo, pues se disminuye el poder combustible del crudo (Kodama et al, 1973).

- Escisión específica del azufre (mecanismo no destructivo): deja el esqueleto de carbono del DBT intacto, sin rebajar el poder calorífico del petróleo (Monticello, D.J. 2000). Se produce como producto final el 2-HBP a través de la ruta 4S.

Los procesos de biodesulfuración pueden clasificarse según el tipo de metabolismo que lleven a cabo los microorganismos que los realizan, diferenciando metabolismo anaerobio (reductivo), aerobio (oxidativo) y aerobio facultativo (mixto), en función de la presencia o ausencia de oxígeno, ya que este actúa como aceptor de electrones en el proceso.

En el presente trabajo se va a evaluar la biodegradación anaerobia del DBT con población bacteriana indígena del suelo contaminado, poniendo especial atención en los procesos de biodesulfuración no destructiva. En estas condiciones la bacteria *Desulfovibrio desulfuricans* M6, es capaz de transformar el 42 % de DBT (Kim et al, 1990), generando 2-HBP, con ruptura del enlace C-S. Hay otras bacterias capaces de convertir el DBT en 2-HBP anaeróbicamente pero la desulfuración es muy baja. Dicha desulfuración, donde las bacterias utilizan el DBT como fuente de azufre, se lleva a cabo mediante la denominada ruta 4S, que se refleja a continuación en la figura 2.

Figura 2. Ruta 4s. Desulfuración no destructiva del DBT



La ruta es denominada 4S pues consta de 4 pasos enzimáticos catalizados por las enzimas DszC, DszA, DszD, DszB. La producción de las enzimas de la ruta está inducida por el DBT y reprimida por el sulfato o productos que contienen azufre en su molécula como los aminoácidos cisteína y metionina (Oldfield et al, 1997). Igualmente la acumulación de HBP también inhibe el crecimiento y la desulfuración (Nekodzuka et al, 1997), siendo

específicamente un potente inhibidor del segundo y cuarto paso de la ruta. En medio bifásico, el efecto de inhibición se ve atenuado, dado que el HBP es soluble en aceite.

Los genes que codifican estas enzimas constituyen el sistema *dsz*, y exceptuando el gen *dszd*, que se encuentra en el cromosoma de la célula, el resto están situados en un plásmido lineal.

En el año 2005 se aisló una bacteria denominada *Mycobacterium goodii* X7B que puede degradar el 2-HBF, a través de la denominada ruta 4S extendida, formando metoxibifenil (2-MBP) (Li, F. et al, 2005). El mecanismo aún no está claro y hasta ahora no se han reportado más cepas capaces de producir este producto metoxilado a partir del 2-HBP.

2.3. BIOELECTROGÉNESIS: PILAS MICROBIANAS DE COMBUSTIBLE (MFCs)

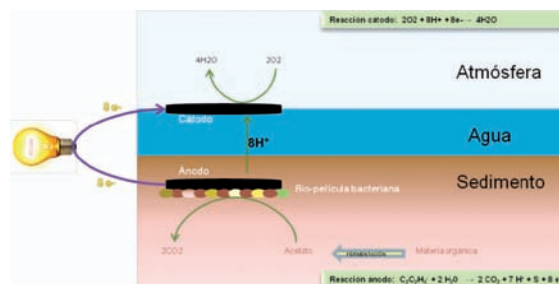
Los microorganismos del suelo pueden degradar una gran diversidad de compuestos, entre ellos, los hidrocarburos aromáticos en condiciones anaerobias, pero aún así, estos compuestos persisten en los sedimentos y el suelo debido a la escasez de un aceptor de electrones que sostenga la respiración microbiana. (Widdel and Rabus, 2001)

Dentro de las técnicas de descontaminación in situ del medio natural por vía biológica, y que en conjunto se conocen como "biorremediación", las hay que estimulan la población autóctona mediante la adición de estos aceptores de electrones (oxígeno, nitrato, sulfato y Fe (II)). Dichas técnicas presentan varios problemas para su aplicación pues se requiere un suministro continuado de los aceptores, con la dispersión que normalmente ocurre cuando se introduce un compuesto en un sistema abierto, además de los costes y energía que demandan estas operaciones de manipulación. A estos factores, hay que sumarle que muchos de los aceptores de electrones que se aportan sufren un rápido consumo abiótico, como el oxígeno mediante reacciones con el Fe (II) ((Borden et al, 1997).

Las pilas Microbianas de combustible ó Microbial Fuel Cells (de aquí en adelante, nombradas como MFCs ó Pilas microbianas), son dispositivos que ofrecen una alternativa para solventar la limitación de aceptores de electrones, favoreciendo la degradación anaerobia de contaminantes (Lovley, D. 2006). Estos dispositivos utilizan el metabolismo de las bacterias para producir una corriente de energía, a partir de la oxidación de un amplio rango de sustratos. Las pilas microbianas contienen un ánodo de grafito que actúa como aceptor de los electrones que provienen de la oxidación anaerobia de compuestos orgánicos. Este ánodo está separado por una membrana de difusión de protones del cátodo de grafito aerobio donde el oxígeno es reducido formándose agua. Esta reducción del oxígeno puede ser un proceso biótico ó abiótico.

Hay diferentes adaptaciones de las MFCs. Una de ellas son las pilas microbianas de combustible sedimentaria (de aquí en adelante nombradas como SMFCs ó pilas sedimentarias). En este diseño el ánodo se encuentra enterrado en un sedimento anaerobio, que haría las veces de cámara anódica, mientras que el cátodo quedaría expuesto en la fase acuosa aeróbica que cubre el sedimento (figura 3).

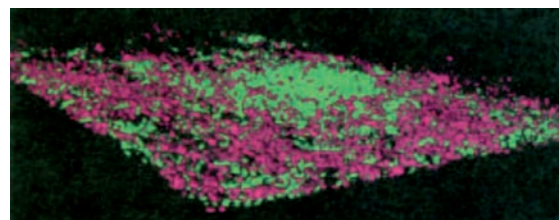
Figura 3. Pila microbiana de combustible sedimentaria (SMFCs)



Muchos microorganismos tienen capacidad de transferir electrones a electrodos de grafito enterrados en los sedimentos, y por ello se estima que existen una gran variedad de microorganismos que pueden oxidar en condiciones anaerobias los contaminantes presentes en el suelo (Lovley, D. 2003). Así los electrodos son un atractivo aceptor de electrones para estimular la degradación anaeróbica de hidrocarburos aromáticos pues proporcionan un "sumidero" de electrones de bajo coste y mantenimiento a largo plazo.

Geobacter metallireducens fue el primer microorganismo en el que se confirmó la oxidación de benzoato con un electrodo como aceptor final de electrones (Bond et al., 2002). Este microorganismo, al igual que el resto de bacterias electrogénicas (así se denominan por su capacidad final como productoras de electricidad) forman una biopelícula alrededor del electrodo (Imagen 1).

Imagen 1. Biopelícula bacteriana creciendo sobre un electrodo de grafito. (Microscopía de barrido confocal). Imagen tomada del libro *Microbial fuel cells* (Logan, B. 2002)



El creciente interés por la tecnología de las MFCs se debe en gran parte a *Geobacter sulfurreducens*, una bacteria con alta capacidad de producción de corriente. La búsqueda de fuentes de energía alternativas y limpias es actualmente una necesidad de primer orden. El descubrimiento de bacterias que pueden usarse para producir electricidad a partir de un amplio grupo de sustancias orgánicas y residuos hace de estos mecanismos una posible fuente de energía limpia (Franks et al, 2010).

La producción de energía es variable en estos dispositivos. Las reacciones en el cátodo y el metabolismo bacteriano producen pérdidas de energía y depende de estas el voltaje, normalmente de 0.3-0.5 Voltios, que se puede obtener en las MFCs a partir de sustratos orgánicos como la glucosa o el acetato y utilizando ánodos pequeños, en el rango de cm² (Logan, B. 2009). Se han llegado a obtener de forma experimental, 140 vatios/m³ de potencia en pilas fotosintéticas, una variante de las MFCs que aprovecha la energía solar para producir energía química, pero económicamente no es rentable aún reproducir el dispositivo a gran escala. (Rosenbaum et al, 2010).



Las pilas sedimentarias se han comenzado a utilizar para confirmar la eficacia de la bioremediación subterránea en condiciones anóxicas monitorizando con un electrodo in situ la zona contaminada, en concreto suelos contaminados con uranio VI (Iovley, D. 2003).

Una de las áreas más activas en la investigación de las MFCs es la producción de energía a partir de aguas residuales combinada con la oxidación de compuestos orgánicos o inorgánicos. Muchos estudios están demostrando que algunos compuestos biodegradables complejos pueden producir electricidad como la celulosa, paja de trigo, el agua residual doméstica, residuos de la industria cervecera y del chocolate, mezclas de ácidos grasos, contaminaciones de petróleo y lixiviados de vertedero. El problema para su aplicación en la depuración de aguas residuales radica en la baja tasa de degradación del sustrato y en que los experimentos a escala de laboratorio requieren amplios estudios para su extrapolación a una escala de tratamiento en planta depuradora (Pant et al, 2009).

Quizá la aplicación práctica más importante hasta ahora de las Pilas microbianas, desde el punto de vista energético, es servir como fuente de energía de larga duración en ambientes remotos. Ya en 2008 se comenzó a utilizar equipos de registro electrónico de datos meteorológicos alimentados por estos dispositivos, transfiriéndose los datos a tiempo real por señales de radiofrecuencia (tender et al, 2008). Este mismo año ha sido confirmada la efectividad de una pila bentónica (variante de las MFCS, en la que el cátodo está situado en agua de mar y el ánodo está dispuesto bajo los sedimentos anóxicos), como fuente de energía para un sensor de oxígeno y un modem acústico sumergidos en el fondo del mar, con una plataforma capaz de acumular energía, y se están realizando pruebas para sensores de salinidad, presión, PH y velocidad del agua (Gong et al, 2011).

Sin embargo, es posible que la capacidad de las comunidades microbianas de una MFC para degradar un amplio rango de contaminantes en el medio ambiente sea una aplicación más interesante que la propia producción de electricidad, especialmente cuando esta tecnología puede ser usada como técnica de biorecuperación in situ. El uso de un electrodo como aceptor de electrones permite a las bacterias responsables de la degradación localizarse conjuntamente con el contaminante en el ánodo de grafito incrementándose los porcentajes de biodegradación.

Distintas cepas bacterianas del género *Geobacter* han demostrado ser importantes en la degradación de compuestos del petróleo y lixiviados de vertedero en aguas subterráneas (Rooney-Varga et al 1999) cobrando importancia las aplicaciones en biorecuperación de acuíferos. Recientemente, demostraron la posibilidad de acoplar la oxidación de hidrocarburos aromáticos (tolueno, benceno, naftaleno) llevada a cabo por *Geobacter metallireducens* con la transferencia de electrones en una pila sedimentaria (Zhang et al, 2010).

En el área de investigación de las pilas microbianas, en estos momentos se están poniendo a prueba nuevos diseños (como las pilas de cátodo doble) y materiales novedosos (separadores de fibra de vidrio, cepillos de fibra de grafito, etcétera) para afrontar los grandes retos de la investigación de las pilas microbianas, como son aumentar la energía que producen estos dispositivos, aumentar la eficiencia coulombimétrica (número de

culombios recuperados como corriente eléctrica, comparada con el número máximo teórico de culombios recuperables a partir del sustrato orgánico añadido al sistema) y reducir el coste de los materiales utilizados (Zhang et al, 2010).

3. OBJETIVOS DEL TRABAJO

OBJETIVOS PRINCIPALES:

1. Evaluar la utilización de las pilas sedimentarias en la degradación in situ de un compuesto aromático heterocíclico (dibenzotiofeno), empleando la comunidad microbiana autóctona.
2. Comparar la biodegradación en condiciones electrogénicas, con la degradación natural y con la que se lleva a cabo en un suelo estimulado mediante adición de nutrientes (lactato).

De forma complementaria a este objetivo principal se han abordado 2 objetivos secundarios relacionados:

3. Determinar la toxicidad del DBT en algas verdes unicelulares y la capacidad de detoxificación de las SMFCs.
4. Valorar cuantitativamente la comunidad bacteriana en los ánodos de las pilas sedimentarias, a través de ensayos de ATP.

4. METODOLOGÍA

4.1. MUESTREO

Se han tomado muestras de suelo sedimentario de la localidad de Calasparra (Murcia). La muestra se ha recogido en un único punto y guardado en un recipiente hermético hasta el inicio de los ensayos.

Se ha realizado una caracterización físico-química del suelo debido a que ésta va a determinar las interacciones con el DBT y sus productos de degradación. Para la determinación de la textura, que es la relación existente entre los contenidos de las diferentes fracciones granulométricas que constituyen el suelo, se ha procedido al desagregado del suelo con trituración suave tras secado en bandeja y se han separado las distintas fracciones mediante tamizado para las arenas y sedimentación para separar limos y arcillas. Finalmente se han cuantificado las distintas fracciones en base a la clasificación que se muestra en la tabla 2 y determinado la clase textural.

Tabla 2. Clasificación granulométrica según tamaño (escala granulométrica USDA)

Fración granulométrica	Tamaño
Fración gruesa	Partículas >2mm (bloques, piedras, gravas)
Tierra fina	Partículas <2 mm
Arena	Partículas entre 2-0,05 mm (2-0,02 mm)
Limo	Partículas entre 0,05-0,002 mm (0,02-0,002 mm)
Arcilla	Partículas <0,002 mm



Para la determinación del pH se han mezclado 10g de suelo con 25 ml de agua destilada y al cabo de una hora se ha medido con electrometría. En el filtrado se ha medido la conductividad mediante conductivimetría.

4.2. ENSAYOS DE BIODEGRADACIÓN

4.2.1. COMPONENTES Y MONTAJE

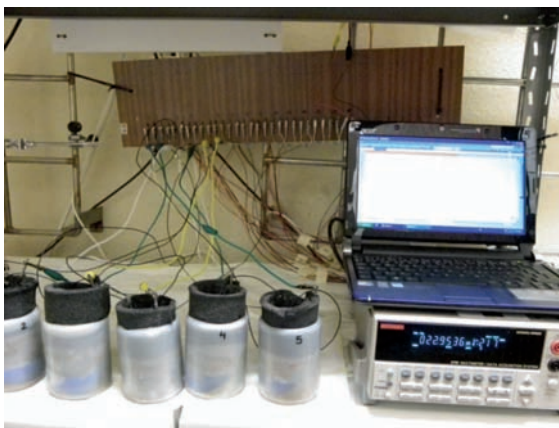
Las pilas microbianas sedimentarias ó SMFCs se han elaborado en recipientes de material plástico que constituyen espacios estancos de igual tamaño. Los ánodos se han construido dentro de estructuras cilíndricas para impedir la difusión de los pulsos de contaminante. Se ha utilizado fieltro de grafito y grafito sólido formando un habitáculo para 7 gramos de suelo seco en su interior. El suelo utilizado en los ánodos (7 gramos en cada uno de ellos) no tiene

tratamiento previo, para conservar y reproducir lo más fielmente posible sus características naturales y por lo tanto su actividad biológica.

El ánodo está enterrado en 300 gramos de suelo, el cual se ha cubierto con una lámina de agua de 0,5 cm para evitar la difusión de oxígeno y generar condiciones anóxicas. El cátodo consiste en un fieltro de grafito flotando sobre el agua.

Los ánodos y cátodos se han conectado a un multímetro programado para realizar medidas de potencial eléctrico cada 10 minutos en todas las pilas (foto 1). Se han utilizado resistencias de 1000Ω.

Foto 1. Multímetro realizando registro de la diferencia de potencial en las pilas sedimentarias



Las pilas microbianas requieren de un tiempo de estabilización (4 semanas aproximadamente) una vez conectadas por lo que no se han realizado ensayos en ellas hasta que los potenciales se han mantenido estables.

4.2.2. ENSAYOS DE BIODEGRADACIÓN

Se han realizado ensayos de biodegradación anaeróbica del DBT en suelos contaminados bajo condiciones electrogénicas, bajo condiciones de biodegradación natural (control), y bajo condiciones de biodegradación con aporte de un donador de electrones, el lactato.

A continuación se especifican las características de cada uno de los ensayos de biodegradación realizados:

- **Ensayo de biodegradación natural:** Utilizado para ser comparado con las SMFC y ver si el proceso se ve favorecido en condiciones electrogénicas. Se han utilizado 9 pilas, con 10 gramos de suelo, sin conectar sobre las que se ha inyectado un pulso de DBT y se han realizado las extracciones inmediatamente después de dicho pulso de DBT, tras 1, 2, 7 y 14 días.
- **Ensayo de biodegradación con aporte de lactato:** Utilizado para analizar el efecto de un donador de electrones (lactato) en la tasa de degradación del DBT. Se han realizado 9 ensayos, con 10 gramos de suelo, sin conectar, sobre las que se ha inyectado un pulso de DBT y se han realizado las extracciones inmediatamente después del pulso de DBT, tras 1, 2, 7 y 14 días.
- **Ensayo de biodegradación en condiciones electrogénicas:** Se han utilizado 6 pilas conectadas al multímetro en las que se inyecta un pulso de DBT y se realizan extracciones inmediatamente después del pulso, tras 1, 2, 7, 14 y 28 días.
- **Control abiótico:** Esta pila se utiliza como indicador de que la generación de corriente está asociada a la actividad biológica. El suelo que conforma la cámara anódica, tanto dentro del ánodo, como fuera de éste, se autoclava y se expone a radiación ultravioleta con objeto de esterilizar el sedimento, eliminando la actividad biológica. Se le inyectan 2 pulsos de acetato a las 24 horas y a la semana tras el tratamiento.

Finalmente se han utilizado otras 2 pilas en condiciones electrogénicas. A una de ellas se le inyecta dos pulsos de DBT espaciados una semana respectivamente para ver si existe una optimización de la biodegradación con pulsos consecutivos en la misma pila. La otra pila se utiliza en los ensayos de ATP. Con anterioridad a dicho ensayo se mantiene conectada y se le aplica un pulso de acetato para confirmar que posee actividad microbiana.

En la siguiente tabla se representa de forma esquemática, los diferentes ensayos.



Tabla 3. Ensayos de biodegradación del DBT

ENSAYOS EN CONDICIONES ELECTROGÉNICAS.
<ul style="list-style-type: none"> • Pila T0: Ánodo extraído inmediatamente después del pulso de DET • Pila T1: Ánodo extraído tras 1 día desde pulso de DET • Pila T2: Ánodo extraído tras 2 días desde el pulso de DET • Pila T3: Ánodo extraído tras 7 días desde pulso de DET • Pila T4: Ánodo extraído tras 14 días desde el pulso de DET • Pila T5: Ánodo extraído tras 28 días desde el pulso de DET • Pila ATP: Ánodo extraído tras 5 semanas para realizar el ensayo de ATP. • Pila DBT: Pila con varios pulsos de DET. Ánodo no extraído. • Pila abiótica: Control abiótico.
ENSAYOS DE BIODEGRADACIÓN NATURALES.
<ul style="list-style-type: none"> • Ensayo T0: Suelo extraído inmediatamente después del pulso de DET. • Ensayo T1a: Suelo extraído tras 1 día desde el pulso de DET. • Ensayo T1b: Suelo extraído tras 1 día desde el pulso de DET. • Ensayo T2a: Suelo extraído tras 2 días desde el pulso de DET. • Ensayo T2b: Suelo extraído tras 2 días desde el pulso de DET. • Ensayo T3a: Suelo extraído tras 7 días desde el pulso de DET. • Ensayo T3b: Suelo extraído tras 7 días desde el pulso de DET. • Ensayo T4a: Suelo extraído tras 14 días desde el pulso de DET. • Ensayo T4b: Suelo extraído tras 14 días desde el pulso de DET.
ENSAYOS NO ELECTROGÉNICOS CON LACTATO.
<ul style="list-style-type: none"> • Ensayo T0+L: Suelo extraído inmediatamente después del pulso de DET. • Ensayo T1a+L: Suelo extraído tras 1 día desde el pulso de DET. • Ensayo T1b+L: Suelo extraído tras 1 día desde el pulso de DET. • Ensayo T2a+L: Suelo extraído tras 2 días desde el pulso de DET. • Ensayo T2b+L: Suelo extraído tras 2 días desde el pulso de DET. • Ensayo T3a+L: Suelo extraído tras 7 días desde el pulso de DET. • Ensayo T3b+L: Suelo extraído tras 7 días desde el pulso de DET. • Ensayo T4a+L: Suelo extraído tras 14 días desde el pulso de DET. • Ensayo T4b+L: Suelo extraído tras 14 días desde el pulso de DET.

4.2.3. PULSOS

Las disoluciones para realizar los pulsos en las MFCs son las siguientes:

- Disolución de DBT 30 ppm (0,162 μ moles) en tampón fosfato.
- Disolución de acetato 20 milimolar en tampón fosfato.

Ambas disoluciones se han llevado a anaerobiosis mediante tratamiento con nitrógeno diez minutos en la fase líquida y gaseosa respectivamente. Los tubos se han sellado con tapón de goma y se han mantenido a 4°.

En todos los casos los pulsos se han realizado mediante inyección de 1 ml de disolución en el interior del ánodo.

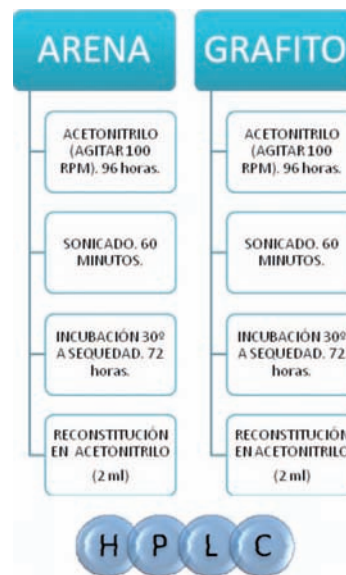
4.2.4. DESORCIÓN DEL DBT

Trascurrido el tiempo de ensayo preestablecido para cada una de los ensayos, se ha procedido a la extracción del DBT para su posterior medida en HPLC (Figura 4).

En primer lugar se han extraído los ánodos de las pilas sedimentarias. Se han dejado el suelo y el grafito de forma separada en contacto con acetonitrilo, agitando 96 horas. Tras sonicar las muestras durante 60 minutos se han centrifugado a 5000 rpm durante 20 minutos y se ha filtrado la totalidad del sobrenadante a botes de boca ancha de cristal.

Finalmente se ha realizado una concentración de las muestras llevándolas a sequedad mediante evaporación y se han reconstituido en 2 ml de Acetonitrilo. Este volumen se ha pasado a viales para su medida en HPLC.

Figura 4. Proceso de desorción del DBT para su análisis en HPLC



4.2.5. ANÁLISIS DE DBT CON HPLC

Equipo utilizado

Para la determinación cuantitativa del DBT y sus productos de degradación, se ha empleado la cromatografía de líquidos de alta eficacia (HPLC). El equipo de marca Varian, controlado mediante el software GALAXIE, consta de los siguientes componentes:

- Bomba Varian Prostar 230 Consta de tres canales de bombeo independientes, que permite trabajar en gradiente de elución.
- Autosampler Varian 410. Con capacidad para 84 viales de 2 ml de capacidad nominal. Consta además de un horno termostatazador de columnas
- Detector diodo array Varian Star 9040: permite la detección simultánea en un amplio rango de longitudes de onda, tanto en el rango visible como en el ultravioleta
- Columna analítica: se ha empleado una columna analítica marca Phenomenex. Concretamente una C8, 150 x 4,60 mm, 3 μ m y 100 A.

Método analítico

Como Eluyente se ha utilizado acetonitrilo y agua en proporción 60/40 con un flujo de bombeo constante a 1 ml/min. La detección se realiza a 2 longitudes de onda simultáneamente, 210 y 239 nm. El volumen de inyección de las muestras a analizar es de 50 μ l.



4.2.6. EFICIENCIA DE UNA PILA

Una medida común de la eficiencia de una pila microbiana es la carga transferida ó número de coulombios recuperados como corriente eléctrica, comparada con el número máximo teórico de coulombios recuperables a partir del sustrato orgánico añadido al sistema.

La eficiencia depende de los microorganismos que están llevando a cabo la oxidación del sustrato orgánico y de los electrones generados por éste (Lee et al, 2008). De esta manera, para conseguir la mayor cantidad teórica de energía a partir de un sustrato orgánico, dicho sustrato necesita ser completamente oxidado y producirse una eficiente transferencia de electrones al ánodo.

La Intensidad de corriente transferida en el circuito cerrado de la pila, se calcula a través de la Ley de Ohm y calculando la integral de la curva de Intensidad (en amperios) frente al tiempo (en segundos) se obtiene carga transferida en cada uno de los ensayos.

Con los datos de la carga transferida desde el ánodo al cátodo, y aplicando la ley de Faraday se obtienen los moles de electrones envueltos en el proceso de degradación de un compuesto orgánico.

Para hallar la eficiencia culombimétrica, se comparan los moles transferidos en la pila microbiana, con los moles teóricos que genera la oxidación del sustrato. Por ejemplo la oxidación completa de un mol de acetato genera 8 moles de electrones.

4.3. ENSAYO ECOTOXICIDAD DEL DBT

4.3.1. PREPARACIÓN DEL ENSAYO

La norma internacional ISO 8692: 2004 especifica un método para la determinación de la inhibición del crecimiento de las algas verdes unicelulares por los efectos de las sustancias y mezclas contenidas en el agua o en el agua residual. En el caso que ocupa, se determinan los efectos inhibidores del Dibenzoiofeno (DBT).

Para llevar a cabo el ensayo se cultivan varias generaciones de cepas de algas de una misma especie (*Pseudokirchneriella subcapitata*). El precultivo debe iniciarse entre 2 y 4 días antes del comienzo del análisis. El medio de crecimiento (Agua desionizada con diferentes volúmenes de 4 soluciones de nutrientes), se inocula con una concentración celular de 5×10^3 y 5×10^4 células por mililitro con objeto de mantener el crecimiento exponencial hasta que comience el ensayo. Este precultivo en fase exponencial de crecimiento se utiliza como inóculo para el ensayo. Se mide la concentración celular del precultivo inmediatamente antes de la utilización, a fin de calcular el volumen de inóculo necesario.

Se preparan los lotes de ensayo, mezclando $5 \mu\text{l}$ del inóculo de algas unicelulares y $200 \mu\text{l}$ de medio de ensayo (medio de crecimiento + DBT). En los diferentes medios de ensayo, se dispone de una concentración distinta del contaminante en (5 ppm,

2,5 ppm, 1,25 ppm, 0,625 ppm y 0,312 ppm). De cada una de las concentraciones se realizaron 4 réplicas. Junto a estos ensayos se dispusieron 4 réplicas de una solución testigo (medio de crecimiento y algas) y 4 réplicas de medio de crecimiento (blanco). En estas últimas 4 réplicas se añaden $5 \mu\text{l}$ de medio de crecimiento para compensar el volumen que no se le añade de algas, finalizando todos los ensayos y réplicas con $205 \mu\text{l}$.

La placa Elisa sobre la que se disponen los ensayos se incuba durante un periodo de 96 horas durante el cual se mide la concentración celular en cada uno de ellos al menos cada 24 horas. La inhibición del crecimiento celular se mide como la disminución de la tasa de crecimiento en comparación con cultivos testigos (sin DBT: medio de crecimiento y algas) realizados en idénticas condiciones.

El mismo procedimiento desarrollado anteriormente con diferentes concentraciones de DBT puro, se repite con los extractos obtenidos en los ensayos electrogénicos de las pilas sedimentarias To, T4 Y T5.

Las medidas fueron realizadas con el espectrofotómetro ELISA (acrónimo del inglés Enzyme- Linked ImmunoSorbent Assay, Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas). Los lectores ELISA son espectrofotómetros capaces de realizar lecturas seriadas de cada uno de los pocillos de la placa ELISA. Estos lectores disponen de sistemas de filtros que sólo permiten la lectura de una o pocas longitudes de onda. Son las que se corresponden con las necesarias para determinar la densidad óptica de las muestras. En el caso que nos ocupa la densidad óptica se mide a 630 nm. El espectrofotómetro ELISA nos proporciona las medidas en unidades de absorbancia.

4.3.2. CÁLCULO DE LA ECOTOXICIDAD

A partir de los datos obtenidos del crecimiento celular en cada uno de los ensayos y réplicas se realizan una serie de cálculos para obtener la toxicidad del DBT:

- La absorbancia media del medio de crecimiento (blanco) para los diferentes tiempos se restará a las medidas de absorbancia que se han realizado en la solución testigo (medio de crecimiento +algas) y en los diferentes lotes de ensayo (muestra de crecimiento + algas + muestra de ensayo (DBT)) con objeto de alcanzar una media de densidad óptica, como medida indirecta de la concentración de algas.
- Con los datos de densidad óptica obtenidos se traza la curva de crecimiento para cada uno de los ensayos, incluida la solución testigo. Esta curva sigue un desarrollo exponencial y aplicando logaritmos a cada uno de los términos de la función, se obtiene una nueva función lineal de la forma $Y = A + BX$ donde B, la pendiente de la recta, es la tasa de crecimiento específicas para cada uno de los ensayos. Una función de crecimiento lineal indica un crecimiento exponencial, mientras que la aparición de una meseta indica que los cultivos entran en fase estacionaria. En el caso de que, al final del tiempo de exposición, los cultivos testigo muestren una tasa de crecimiento en declive, los cultivos inhibidos pueden tener tendencia a alcanzar a los testigos, simulando falsamente una disminución en la tasa de inhibición. Para ello se calculan



las tasas de crecimiento y la inhibición del crecimiento basándose en las medidas efectuadas en el periodo de crecimiento exponencial de los cultivos testigo.

- Partiendo de las 4 réplicas de cada ensayo, se obtienen 4 tasas de crecimiento para cada uno de los ensayos (la pendiente de la ecuación que hemos obtenido), con las que se calcula una media aritmética de la tasa de crecimiento. Una vez se dispone de una tasa de crecimiento para cada ensayo realizado, y a través de la siguiente ecuación se calcula el porcentaje de inhibición.

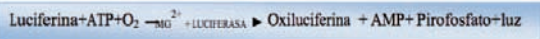
$$\% \text{ inhibición DBT muestra } i = 100 \left(\frac{\text{tasa de crecimiento solución testigo} - \text{tasa de crecimiento muestra } i}{\text{tasa de crecimiento solución testigo}} \right)$$

4.4. ENSAYO DE ATP EN ÁNODOS DE SMFCS

El ensayo de ATP permite disponer de una medida indirecta de la comunidad microbiana del ánodo que genera la actividad electrogénica en las pilas sedimentarias.

Consiste en un ensayo de bioluminiscencia para determinar cuantitativamente el ATP con una luciferasa luciérnaga recombinante y su sustrato d-luciferina. El ensayo se basa en las necesidades de ATP de la luciferasa para producir luz (emisión máxima 560 nm a PH 7). Estos ensayos son extremadamente sensibles. La mayoría de luminómetros detectan hasta 0,1 picómetros de ATP.

La reacción que tiene lugar es la siguiente:



En las reacciones de bioluminiscencia, el compuesto luciferina se oxida, reacción que cataliza la enzima luciferasa, formando un peróxido intermedio que al romperse, genera moléculas producto. Una de las cuales, se encuentra en estado excitado o de alta energía, y cuando vuelve a su estado fundamental, se emite un fotón (luz).

Para llevar a cabo el ensayo se preparan 10 ml de reactivo, que utilizados junto a la solución estándar de ATP, se genera la recta de calibrado en el luminómetro a diferentes concentraciones de ATP.

Una vez trazada la recta de calibrado se realiza el test con el extracto de reactivo que obtenemos tras estar en contacto el grafito con el reactivo durante tres minutos a 30 grados centígrados. Los ensayos se realizan tanto con grafito felpa, como con grafito sólido pertenecientes a un ánodo que se mantuvo 4 semanas en condiciones electrogénicas (Pila ATP) y las medidas se realizan en un luminómetro marca Fluoroskan Ascent FL, modelo Thermo scientific.

5. RESULTADOS

5.1. CARACTERIZACIÓN DEL SUELO

Los resultados de la caracterización físico-química del suelo se muestran a continuación en la tabla 4:

Tabla 4. Caracterización físico-química del suelo utilizado en los ensayos

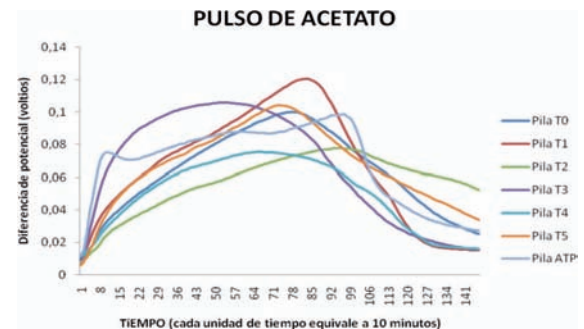
Parámetro	Resultado
Profundidad (cm)	0-20
% grava	62
% arcilla	36
% limo grueso	13,6
% limo fino	21,3
% arena	29
Clase Textural	Franco arcilloso
% humedad hasta saturación	44,74
Conductividad (µs/cm)	339
PH	7,97
% materia orgánica	0,1766
%Carbono orgánico total	0,1024
% carbonato cálcico	52,03

El suelo utilizado en los ensayos tiene un contenido de materia orgánica muy bajo, y la humedad hasta saturación es superior al 44%, siendo su textura franco-arcillosa.

5.2. DIFERENCIA DE POTENCIAL ELÉCTRICO EN PILAS SEDIMENTARIAS

En el gráfico 1 se observa un aumento de la diferencia de potencial entre el ánodo y el cátodo progresivo tras el pulso de acetato en todas las pilas sedimentarias, siendo el periodo de respuesta de unas 30 horas en todos los casos.

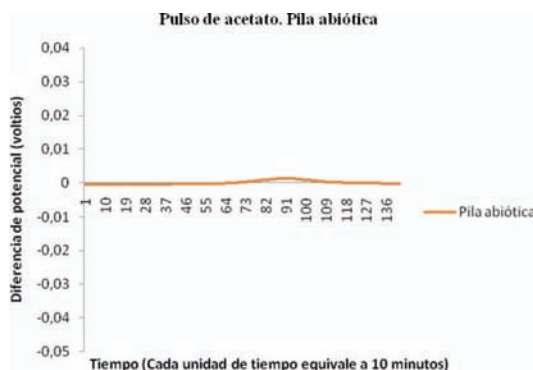
Gráfico 1. Medidas de la diferencia de potencial eléctrico registrados tras el pulso de acetato



Tres semanas después se realiza en las mismas pilas un pulso de DBT, la sustancia contaminante en cuestión, obteniéndose también respuesta electrogénica, como se puede observar en el gráfico 2. En el caso de la pila T0, la diferencia de potencial cae a un nivel 0, pues ha sido extraído el ánodo para su análisis.

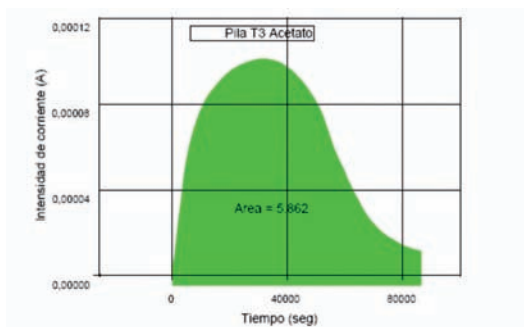
El gráfico 2 muestra la respuesta del pulso de acetato en el control abiótico, cuyo suelo no tiene actividad biológica (esta previamente autoclavado y expuesto a rayos ultravioletas)

Gráfico 2. Respuesta de la pila abiótica al pulso de acetato



El gráfico 3 muestra la intensidad (en Amperios) frente al tiempo (en segundos) de la pila T3, en respuesta al pulso de acetato. Se ha calculado el área de la función, que corresponde a la carga transferida entre el ánodo y el cátodo de esta pila.

Gráfico 3. Área de la curva intensidad de corriente frente al tiempo



5.3. BIODEGRADACIÓN DEL DBT

Con las áreas de DBT obtenidas tras el análisis con HPLC de los extractos de suelo, se han realizado los cálculos de las concentraciones presentes del compuesto para los distintos ensayos. De esta manera, se ha comparado la velocidad de desaparición del contaminante bajo condiciones electrogénicas, bajo condiciones de degradación natural y bajo condiciones no electrogénicas con estimulación de un donador de electrones (lactato).

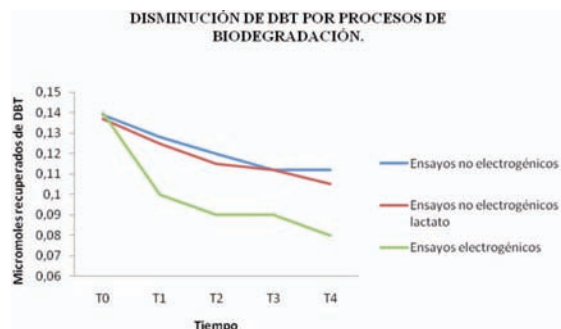
Para realizar los cálculos de concentración expresados como $\mu\text{moles DBT/g}$ suelo seco, se han tenido en cuenta los siguientes factores:

1. Gramos de suelo extraídos de los diferentes ensayos.
2. Factor de concentración de los extractos de suelo.
3. Contenido de humedad hasta saturación del suelo (44 %).

Los cálculos realizados en cada uno de los ensayos se encuentran en las tablas del anejo 1. El método de desorción del contaminante ha sido muy agresivo con objeto de extraer el máximo DBT posible siendo el porcentaje de recuperación de DBT inmediatamente después del pulso, de un 85'8 % para los ensayos de biodegradación natural, un 86'4 % para los ensayos electrogénicos y de un 84,6 para los ensayos no electrogénicos con aporte de lactato.

La cantidad de DBT extraída en cada uno de los ensayos a diferentes tiempos se ha representado en el gráfico 4.

Gráfico 4. Micromoles recuperados de DBT en los diferentes ensayos

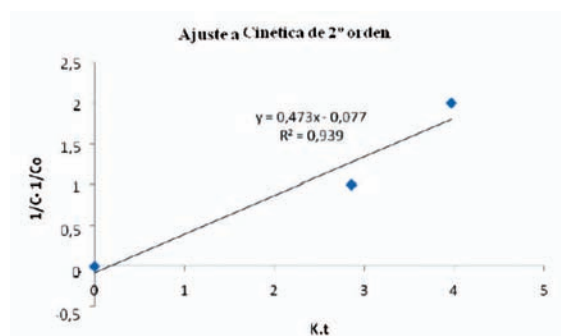


En los ensayos no electrogénicos y no electrogénicos con lactato, los ensayos están duplicados para el T1, T2, T3 Y T4, por lo que se ha realizado una media entre las dos réplicas para cada tiempo. Así, en el gráfico 4 tenemos que:

- El T0 corresponde a los resultados de la pila T0, ensayo T0 y ensayo T0+L.
- El T1 corresponde a los resultados en la pila T1, media del ensayo T1 (a y b) y media del ensayo T1+L (a y b).
- El T2 corresponde a los resultados en la pila T2, media del ensayo T2 (a y b) y media del ensayo T2+L (a y b).
- El T3 corresponde a los resultados en la pila T3, media del ensayo T3 (a y b) y media del ensayo T3+L (a y b).
- El T4 corresponde a los resultados en la pila T4, media del ensayo T4 (a y b) y media del ensayo T4+L (a y b).

La velocidad de degradación del DBT en los ensayos electrogénicos se ajusta a una cinética de 2º grado (gráfico 5). A través del método integral se ha ensayado una ecuación cinética integrando y comparando la curva de los datos de concentración contra tiempo, respecto a los datos experimentales de concentración contra tiempo y se ha confirmado que el ajuste es satisfactorio para reacciones bimoleculares irreversibles de segundo orden, determinándose una constante cinética $k = 0,473 \text{ d}^{-1} \cdot \mu\text{moles}^{-1}$

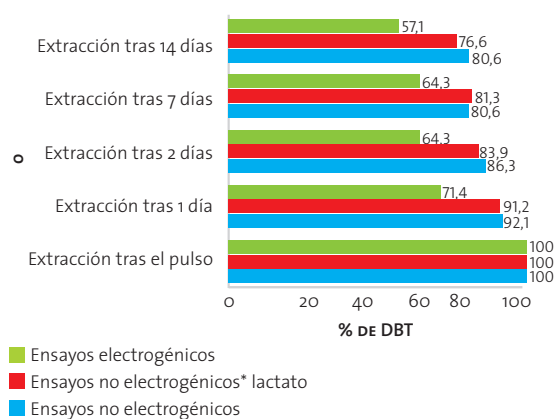
Gráfico 5. Ajuste a cinética de 2º orden de la biodegradación electrogénica del DBT



El gráfico 5 muestra la respuesta de las pilas sedimentarias al pulso de DBT a lo largo de 10 días, tiempo aproximado que tardan en recuperar los niveles originales de diferencia de potencial.

En el siguiente gráfico se muestra el porcentaje de reducción del DBT en los diferentes ensayos y en los diferentes tiempos.

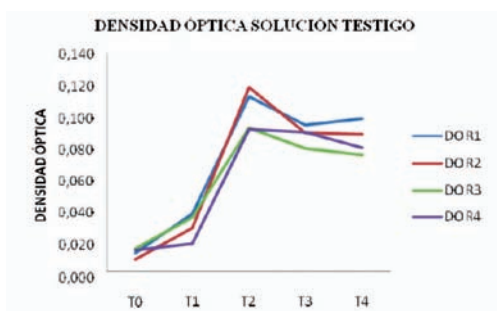
Gráfico 6. Variación en el porcentaje de DBT en las diferentes condiciones de ensayo



5.4. ENSAYOS DE ECOTOXICIDAD

La solución testigo (medio de crecimiento +algas) muestra un crecimiento exponencial durante las 3 primeras medidas de la densidad óptica, correspondientes a tiempo 0, tiempo 1 y tiempo 2, (Gráfica 7).

Gráfico 7. Evolución en el tiempo de la densidad óptica de la solución testigo (medio de cultivo +algas)



En la tabla 5 se muestra el porcentaje de inhibición del crecimiento celular respecto al crecimiento de la solución testigo (sin DBT) para cada uno de las concentraciones del DBT.

Tabla 5. Porcentaje de inhibición en el crecimiento de las algas verdes a diferentes concentraciones de DBT

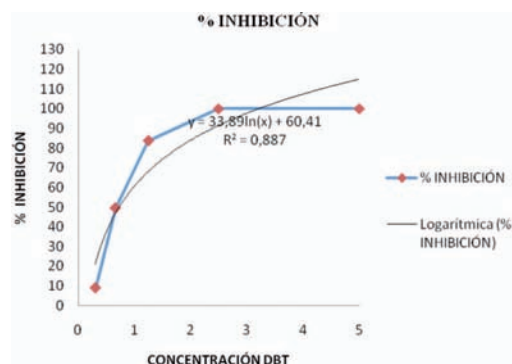
Concentración (ppm)	% inhibición
5	100
2,5	100
1,25	83,57
0,665	49,40
0,312	8,97

A partir de estas concentraciones se calculan la CE50 y la CE10, concentraciones de las muestras de ensayo que producen una disminución de un 50 % y el 10 % respectivamente en la tasa de crecimiento con respecto a las soluciones testigo. Para calcularla se ha representado la tasa de inhibición frente a la concentración del medio de ensayo de DBT, ajustando una función mediante análisis de regresión (gráfico 11). La ecuación que proporciona el ajuste de la función ($Y=33,89 \ln(x) + 60,41$, donde Y es el porcentaje de inhibición del crecimiento de algas y X es la concentración de DBT), se utiliza para poder calcular la CE50 y la CE10 (Tabla 6).

Tabla 6. EC 50 Y EC10 del DBT en algas unicelulares verdes

Parámetro Toxicológico	Concentración DBT (ppm)
EC10	0,3
EC50	0,8

Gráfico 8. Porcentaje de inhibición en el crecimiento de las algas verdes a diferentes concentraciones de DBT



Así, según la EC50 del DBT y en base a la Directiva 93/67/CEE de la Comisión, de 20 de julio de 1993, por la que se fijan los principios de evaluación del riesgo, para el ser humano y el medio ambiente, de las sustancias notificadas de acuerdo con la Directiva 67/548/CEE del Consejo, esta sustancia es clasificada como muy tóxica.

Mediante HPLC se han analizado los extractos de las pilas sedimentarias y se ha determinado la concentración de DBT cada uno de ellos. La concentración que poseen cada uno de ellos no es proporcional, al grado de biodegradación que han experimentado, es simplemente la concentración de la que se disponía en cada una de las disoluciones utilizadas para el análisis en HPLC. En la siguiente tabla se especifica los PPM de DBT en cada uno de los extractos utilizados.

Tabla 7. Concentración de DBT en los extractos de las pilas microbianas

	CONCENTRACIÓN HPLC(μMOLAR)	PPM
Ánodo pila T0	46	8,5
Ánodo pila T4	39	7,2
Ánodo pila T5	41,5	7,5

Los resultados del porcentaje de inhibición con los extractos de los ensayos electrogénicos se muestran en la tabla 8.

Tabla 8. Porcentaje de inhibición del crecimiento de las algas verdes con los diferentes extractos de las pilas microbianas

	% INHIBICIÓN
Ánodo pila T0	98,4
Ánodo pila T4	79,4
Ánodo pila T5	81,67

5.5. ENSAYOS DE ATP

Los resultados del ensayo de ATP en el luminómetro se muestran en la siguiente tabla. Las medidas se encuentran en unidades relativas de luz (RLU).

Tabla 9. Mediciones de ATP en luminómetros

	replica 1 (200 µl)	replica 2 (200 µl)	replica 3 (200 µl)
Grafito felpa (0,22 gramos 1 ml)	0,00179	0,00186	0,0028
Grafito felpa (0,15 gramos, 1 ml)	0,00215	0,00165	0,0013
Grafito sólido (3,5 gramos, 5 ml)	0,00055	0,00057	0,00046

6. DISCUSIÓN

6.1. CARACTERIZACIÓN DEL SUELO

El bajo contenido del suelo en materia orgánica influye en el desarrollo de la población bacteriana antes del aporte de los pulsos de acetato y DBT y por tanto en la respuesta en la diferencia de potencial de las pilas, manteniéndose con una nivel basal bajo, cercano a los 0 voltios.

El contenido de humedad hasta la saturación es superior al 44% y se ha tenido en cuenta al calcular las concentraciones de DBT por gramo de suelo seco obtenidas en los ensayos de biodegradación, realizando una corrección en cada una de ellas (ver tablas anejo 1).

6.2. DIFERENCIA DE POTENCIAL ELÉCTRICO EN PILAS SEDIMENTARIAS

La medida de la diferencia de potencial entre los electrodos nos permite realizar un seguimiento de los procesos de biodegradación en las pilas microbianas.

La diferencia de potencial entre ánodo y cátodo sigue una evolución similar con el pulso de acetato, y el pulso de DBT, aunque el pico máximo de potencial alcanzado con el DBT es mayor y se alcanza en un tiempo menor.

Al realizar un segundo pulso de DBT, la diferencia de potencial alcanzada en la pila DBT es mayor y que en el primer pulso, lo que indica una optimización de la degradación de los compuesto por parte de la población bacteriana del suelo, siendo una medida

indirecta del aumento de la eficiencia culómbica de la pila. En cambio al realizar pulsos en el control abiótico, cuyo suelo no tiene actividad biológica no existe respuesta electrogénica, lo que pone de manifiesto que la degradación del compuesto se está produciendo por causas bióticas en el resto de ensayos.

Aumentar la eficiencia culombimétrica es uno de los retos principales en la investigación de las Pilas microbianas. En la literatura se han reportado eficiencias máximas para el acetato del 70% en MFCs produciéndose diferencias de potencial de 0,3-0,5 voltios entre el ánodo y el cátodo (Pant et al, 2009). Las eficiencia culómbica del acetato en las pilas del presente estudio proporcionan porcentajes del 35%, que aun no siendo despreciables, son menores que los anteriormente nombrados. Esto es debido a razones, como la biodegradación abiótica de la molécula en cuestión, la limitación de transferencia de materia y la limitación catódica.

Este último proceso tiene lugar cuando la concentración de oxígeno en el cátodo limita la reducción de dicha molécula por parte de los electrones transferidos desde el ánodo. En los cátodos de los ensayos electrogénicos se acumula sedimentos con materia orgánica, factor que interacciona y estimula el desarrollo de bacterias aerobias heterótrofas, que utilizan el oxígeno como aceptor de electrones, disminuyendo rápidamente la concentración de éste. La limitación catódica se puede evitar utilizando materiales que inhiban el crecimiento de las bacterias aerobias heterótrofas, como puede ser las partículas de plata (AgNP_s), que además actúan como catalizador de la reducción del oxígeno por parte de los electrones que llegan del ánodo (Na et al, 2011). También se ha mejorado la disponibilidad de oxígeno en el cátodo utilizando carbono activo granulado, suspendido en el agua lo que aumenta considerablemente el área catódica (Song et al, 2011).

Con respecto a la limitación en la transferencia de materia hacia el ánodo, no ha sido un factor limitante en las pilas electrogénicas del presente estudio, dadas las reducidas dimensiones del habitáculo que contiene el ánodo. En los dispositivos de mayor dimensión es un factor decisivo a la hora de generar energía. En MFCs bentónicas, donde el ánodo está enterrado en los sedimentos marinos, se han certificado aumentos del 500 % en la densidad de potencia mejorando la transferencia de materia valiéndose de novedosos diseños del habitáculo que contiene el ánodo (Girguis et al, 2010).

Aún así, las comparaciones con los rendimientos de otras pilas se deben tener en cuenta en su justa medida, pues al margen de los factores que se han nombrado, también la arquitectura de las pilas afecta en la diferencia de potencial entre el ánodo y el cátodo y por tanto es decisiva en la eficiencia culómbica del sustrato utilizado. Por arquitectura de la pila, se entiende el diseño y proporciones de ésta, siendo decisiva la distancia entre electrodos y el tamaño y material de estos.

Hay otros factores que influyen en la eficiencia culómbica, como si la pila ha sido inoculada con un cultivo puro o una población mixta de microorganismos, siendo mejores los rendimientos energéticos en pilas microbianas inoculadas con cultivos mixtos ó que utilizan la población indígena del suelo en caso de ser pilas sedimentarias, como en el presente estudio (Logan et al, 2009).



6.3. BIODEGRADACIÓN DEL DBT

De la comparativa de cromatogramas cabe destacar que respecto al área de DBT que nos proporcionan, hay en todos los casos una reducción de la concentración del contaminante en cuestión, indicativa de los procesos de biodegradación en los ensayos electrogénicos y no electrogénicos.

En relación a los productos de degradación no aparecen rastros de los derivados del DBT. El análisis con HPLC no muestra presencia de estos compuestos en ninguno de los ánodos de las SMFCs de forma significativa. En algún caso aparecen mínimos picos prácticamente en el límite de detección. De igual manera ocurre respecto a la extracción del posible DBT y productos de degradación que pudieran haber quedado retenidos en grafito, por lo que se puede desprestigiar este factor de retención del contaminante en el fieltro de grafito a la hora de realizar los cálculos de las concentraciones presentes tras los ensayos de biodegradación.

Los resultados muestran un rápido descenso en la cantidad de DBT en las MFCs conectadas respecto a las no conectadas en las primeras 48 horas. Tras las primeras 48 horas, la velocidad de desaparición del DBT se ralentiza, probablemente debido a que el contaminante a partir de una concentración residual resulta menos accesible para las bacterias electrogénicas (Girguis et al, 2010). Además, en términos generales, las bacterias se asocian a una superficie, en este caso el grafito, formando una biopelícula, lo que limita su movilidad para acceder al contaminante.

El hecho de una reducción del contaminante más elevada en las primeras horas de ensayo se corresponde con las medidas de potencial eléctrico registradas por el multímetro, donde, se puede observar que gran parte de la reacción al pulso de DBT se produce en esta primera fase. Posteriormente sigue observándose una leve pero continua respuesta hasta 10 días después del pulso de DBT, donde se ha alcanzado el nivel inicial de diferencia de potencial, lo que se refleja también en la ralentización del ritmo de desaparición del DBT. Así, vemos una correlación entre la degradación del DBT y la respuesta electrogénica de las pilas sedimentarias.

El resultado más destacado de los ensayos resulta que la velocidad de desaparición del DBT por degradación bioelectrogénica es el doble que bajo condiciones de degradación natural y se llega a niveles de degradación no alcanzados en estas últimas condiciones (Dicha velocidad se cuadruplica si tenemos en cuenta las primeras 24 horas del ensayo). Además, comparando los perfiles de las curvas de degradación del contaminante, se observa que en condiciones naturales o estimuladas con lactato, el perfil de descenso del contenido de DBT en el suelo es lineal, mientras que si el proceso se lleva a cabo en condiciones electrogénicas, el perfil es exponencial, lo que finalmente se traduciría en una cinética de degradación de segundo orden.

Con respecto a los ensayos no electrogénicos con aporte de un donador de electrones, el lactato, no se observan diferencias significativas en la degradación del DBT, en referencia a los ensayos de biodegradación natural, lo que viene a confirmar el papel del aceptor de electrones como factor limitante en el proceso de biodegradación.

6.4. ENSAYOS DE ECOTOXICIDAD

Los resultados en los extractos de las pilas sedimentarias confirman que el porcentaje de inhibición es mayor cuanto mayor es la concentración de DBT, pero no podemos correlacionar los datos de inhibición que se han obtenido en el ensayo con concentraciones conocidas de DBT puro, con los datos de inhibición con los extractos de suelo. En estos últimos el grado de inhibición ha sido menor que en los ensayos de DBT puro, lo que apunta que los productos derivados del DBT y las diferentes sustancias extraídas del suelo pueden interactuar de forma no conocida para rebajar el efecto tóxico del DBT. El suelo y el agua son siempre, una mezcla compleja de compuestos que dan lugar a efectos sinérgicos y antagónicos sobre los organismos sobre los organismos ensayados (Rodea-palmares et al, 2010).

6.5. ENSAYOS DE ATP

A tenor de los resultados (mostrados en URL, unidades relativas de luz), cercanos al ensayo en blanco de la recta de calibración que se ha realizado con anterioridad con la muestra estándar de ATP, se infiere que no ha sido posible la extracción bacteriana del ánodo.

Al solamente disponer de un ánodo para llevar a cabo los ensayos (Pila ATP), no se ha podido variar los valores de ciertos parámetros, tales como la superficie de grafito utilizada, el volumen del reactivo y el tiempo de contacto entre éste y el grafito para determinar cuáles son las condiciones óptimas para medir el ATP de la comunidad bacteriana ancladas en el grafito.

7. CONCLUSIONES

1. La oxidación microbiana del Dibenzotiofeno bajo condiciones electrogénicas queda demostrada, quedando constancia a través de los registros de diferencia de potencial en las pilas sedimentarias de este proceso.
2. La utilización de Pilas sedimentarias en suelos contaminados por Dibenzotiofeno resulta interesante por su posible aplicación in situ y por el incremento de la velocidad y de los porcentajes de biorecuperación respecto a las condiciones de degradación natural, y a las condiciones de degradación con aporte de nutrientes. La degradación bioelectrogénica estimulada abre un nuevo campo de posibilidades para la descontaminación de este compuesto.
3. El aporte de un donador de electrones, no es un sistema eficiente para aumentar la tasa de degradación del dibenzotiofeno, remarcando el papel limitante en la bioremediación de suelos contaminados de un aceptor de electrones.
4. El DBT es un factor determinante en la disminución de la tasa de crecimiento de algas verdes unicelulares, siendo una sustancia muy tóxica según la normativa Europea en base a su EC50 en dichos organismos.
5. No se ha podido generar una valoración cuantitativa de la comunidad microbiana en los ánodos de las pilas sedimentarias, proceso que queda pendiente como tarea de investigación futura.



8. BIBLIOGRAFÍA

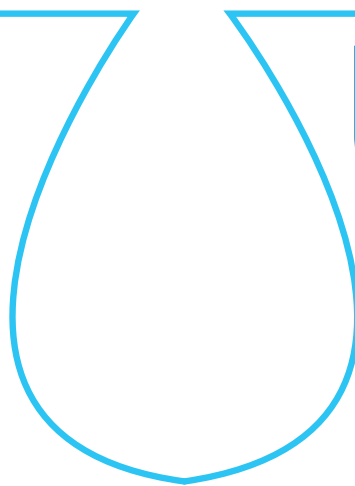
- Bond, D.R.; Holmes, D.E.; Tender, L.M.; and Lovley, D.R. 2002. Electrode-reducing microorganisms that harvest energy from marine sediments. *Science* 295: 483-485.
- Borden, R.C.; Goin, R.T.; Kao, C.M. 1997. Control of BTEX migration using a biologically enhanced permeable barrier. *Ground water* 17: 70-80.
- Eastmond, A. 1988. Dibenzothiophene. *Arch Environ Contam Toxicology* 13 (1): 105-11.
- España. Real Decreto 60/2011, de 21 de Enero 2011. Boletín oficial del estado, 22 de Enero de 2011, número 19, P. 6854.
- Esteve, A.N.; Rothermich, M.; Sharma, M.; Lovley, D. 2005. Growth of *Geobacter sulfurreducens* under nutrient-limited conditions in continuous culture. *Environ. Microbiol.* 5: 641-648.
- Europa. Directiva 93/67/CEE, de 20 de Julio de 1993 del parlamento Europeo y del consejo. *Diario Oficial n° L 227 de 08/09/1993 P. 0009-0018*
- Europa. Directiva 2003/17/CE, de 3 de Marzo de 2003 del Parlamento Europeo y Del Consejo. *Diario Oficial de La Unión Europea. L76/10.*
- Franks, A.E.; Nevin, K.P. 2010. Microbial fuel cells. A current review. *Energies.* 3: 899-919.
- Girguis, P.; Nielsen, M.; Figueroa, I. 2010. Harnessing energy from marine productivity using bioelectrochemical systems. *Current opinion in Biotechnology.* 21: 252-258.
- Gong, Y.; Radachowsky, S.; Wolf, M.; Nielsen, N.; Girguis, P.; Reimers, C. 2011. Benthic microbial fuel cell as direct power source for an acoustic modem and seawater oxygen/temperature sensor system. *Environ Sci Technol.* 45(11):5047-53.
- Gundlach, E.R.; Boehm, P.; Marchand, M.; Atlas, R.; Ward, D.; Wolfe, D. 1983. The fate of Amoco Cadiz oil. *Science* 221, 122-129.
- Kertesz, M.A. and Wirtek, C. 2001. Desulfuration and desulfonation: application of sulfur-controlled gene expression in bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57, 460-466.
- Kilbane, J.J. 1988. Sulfur-Specific Microbial Metabolism of Organic Compounds. *Bioprocessing of Coals Workshop*, Tysons Corner, Va., Aug. 16-18.
- Kilbane, J.J. 1990. Sulfur-specific microbial metabolism of organic compounds. *Resources, Conservation Recycling* 3, 69-79.
- Kilbane, J.J. 2006. Microbial Biocatalyst developments to upgrade fossil fuels, current opinion in biotechnology. 17:305-314.
- Kim, H.Y.; Kim, T.S.; Kim, B.H. 1990. Degradation of organic sulfur compounds and the reduction of dibenzothiophene to biphenyl and hydrogen sulfide. *Biotechnol. Lett.* 12:761-764.
- Kodama, K.; Umehara, K.; Shimizu, K.; Yamada, K. 1973. Identification of microbial products from dibenzothiophene and its oxidation pathway. *Agric. Biol. Chem.*, Vol. 37: 45-50.
- Lee, H.S.; Parameswaran, P.; Kato-Marcus, A.; Torres, C.I.; Rittmann, B.E. 2008. Evaluation of energy-conversion efficiencies in microbial fuel cells (MFCs) utilizing fermentable and non-fermentable substrates. *Water Res.* 42, 1501-1510.
- Li, F.; Xu, P.; Feng, Jinhui.; Meng, Ling.; Zheng, Y.; Luo, L.; Ma, C. 2005. Microbial desulfurization of gasoline in a mycobacterium goodii X7B immobilized-cell system. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 276-281.
- Lide, D.R. 1994. *Handbook of Data on Organic Compounds. Volume 1.* 3rd ed. CRC Press, Inc. Boca Raton. V3: 2482.
- Lizama, H.M.; Ladonna, A.; Wilkins, A.; Timothy, C.S. 1995. Dibenzothiophene sulfur can serve as the sole electron acceptor during growth by sulfate-reducing bacteria. *Biotechnology Letters.* 17:113-116.
- Logan, B. *Microbial Fuel Cells.* Published by John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey. 2008. 213 págs.
- Logan, B. 2009. Exoelectrogenic bacteria that Power microbial fuel cells. *Nature Reviews Microbiology.* 7:375-381.
- Lovley, D. 2003. Cleaning up with genomics: Applying molecular biology to bioremediation. *Nature Reviews Microbiology.* 1: 35-44
- Lovley, D.R. 2006. Bug juice: harvesting electricity with microorganisms. *Nat Rev Microbiol* 4: 497-508.
- Na, J.; Jeon, H.; Lee, J.; Chang, I. 2011. Bifunctional silver nanoparticle cathode in microbial fuel cells for microbial growth inhibition with comparable oxygen reduction reaction activity. *Environ. Sci. Technol.* dx.doi.org/10.1021/es2000326.
- Nekodzuka, S.; Toshiaki, N.; Nakajima-Kambe, T.; Nobura, N.; Lu, J.; Nakahara, Y. 1997. Specific desulfurization of dibenzothiophene by *Micobacterium* strain G3. *Biocatalysis Biotransformation* 15, 21-27.
- Oldfield, C.; Pogrebinsky, O.; Simmonds, J.; Olson, E. S.; Kulpa, C. H. 1997. Elucidation of the metabolic pathway for dibenzothiophene desulfurization by *Rhodococcus* sp. strain IGTS8 (ATCC 53968). *Microbiology.* 143, 2961-2973.
- Organización Internacional para la Estandarización (ISO). Norma No. ISO 8692. Second edition, OCT.2004. Water quality – freshwater algal growth inhibition test with unicellular green algae. ISO 8692:2004(E).
- Pant, D.; Van Bogaert, G.; Diels, L.; Vanbroekhoven, K. A. 2009. Review of de substrates used in microbial fuel cells for sustainable energy production. *Bioresour. Technol.* 101, 1533-1543.
- Rodea-palomares, I.; Petre, A.; Boltes, K.; Leganés, F.; Perdigón-Melón, J.A.; Rosal, R.; Fernandez-Piñas, F. 2010. Application of the combination index (CI)-isobologram equation to study the toxicological interactions of lipid regulators in two aquatic bioluminescent organisms. *Water research*, 44: 427-438.
- Rooney-Varga, J.N.; Anderson, R.T.; Fraga, J.L.; Ringelberg, D.; Lovley, D.R. Microbial communities associated with anaerobic benzene degradation in a petroleum-contaminated aquifer. *Appl. Environ. Microbiol.* 1999, 65, 3056-3064.
- Rosenbaum, M.; He, Z.; Angenent, L. 2010. Light energy to bioelectricity: Photosynthetic microbial fuel cells. *Current Opinion in Biotechnology.* 21: 259-264.

Historial de los viales no electrogénicos	DBT to	DBT t1a	DBT t1b	DBT t2a	DBT t2b	DBT t3a	DBT t3b	DBT t4a	DBT t4b
Pulso dbt(30 ppm)+lactato 20 mM (ml)	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Peso de DBT introducido(µg)	30	30	30	30	30	30	30	30	30
MicroMoles de DBT introducido	0,162	0,162	0,162	0,162	0,162	0,162	0,162	0,162	0,162
Concentración(µmolar)	162	162	162	162	162	162	162	162	162
MicroMoles de DBT introducido por gramo seco	0,016	0,016	0,016	0,016	0,016	0,016	0,016	0,016	0,016
Volumen de ACN para extracción(ml)	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Suelo Húmedo recuperado(gr)	4,2	3	10	5	5	5,5	5	14,5	15
Suelo seco recuperado (gramos)	2,352	1,68	5,6	2,8	2,8	3,08	2,8	8,12	8,4
Recuperación de volumen de ACN(ml)	0,5	0,5	1,5	1	0,9	1	1,4	1,5	1,8
Volumen resuspendido tras reconcentrar(ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Tiempo de aparición DBT en HPLC(min)	16,4	16,2	16,2	16,37	16,27	16,53	16,63	9,93	9,93
Área HPLC	7	4,4	15,6	6,7	7,4	7,7	6,6	19,4	18,8
Concentración HPLC	16,14	10,15	35,97	15,45	17,06	17,75	15,22	44,73	43,35
Micromoles en la disolución para HPLC	0,032	0,020	0,072	0,031	0,034	0,036	0,030	0,089	0,087
Micromoles corregidos por el peso total de suelo	0,137	0,121	0,128	0,110	0,122	0,115	0,109	0,110	0,103
MicroMoles de DBT recuperados por gramo seco de suelo	0,0137	0,012	0,013	0,011	0,012	0,012	0,011	0,011	0,010

Historial de los viales electrogénicos	Pila to	Pila t1	Pila t2	Pila t3	Pila t4	Pila t5
Pulso DBT 30 ppm (ml)	1	1	1	1	1	1
Peso de DBT introducido(µg)	30	30	30	30	30	30
MicroMoles de DBT introducido	0,162	0,162	0,162	0,162	0,162	0,162
Concentración(µmolar)	162	162	162	162	162	162
MicroMoles de DBT introducido por gramo seco	0,023	0,023	0,023	0,023	0,023	0,023
Volumen de ACN para extracción(ml)	5	5	5	5	5	5
Suelo Húmedo recuperado(gr)	8	12	9	6	12	12
Suelo seco recuperado (gramos)	4,5	6,72	5,0	3,0	6,7	6,7
Recuperación de volumen de ACN(ml)	3	3,7	2,7	3,5	3,2	3,9
Volumen resuspendido tras reconcentrar(ml)	2	2	2	2	2	2
Tiempo de aparición DBT en HPLC(min)	9,5	16,6	16,21	16,09	18,47	17,25
Área HPLC	20	21	14	8,1	17	18
Concentración HPLC	46,11	48,42	32,28	18,68	39,20	41,50
Micromoles en la disolución para HPLC	0,09	0,10	0,06	0,04	0,08	0,08
Micromoles corregidos por el peso total de suelo	0,14	0,10	0,09	0,09	0,08	0,09
MicroMoles de DBT recuperados por gramo seco de suelo	0,021	0,014	0,013	0,012	0,012	0,012

escuela de posgrado
ESTUDIOS UNIVERSITARIOS DE POSGRADO EN **HIDROLOGÍA**

UAH URJC



máster universitario

en hidrología y gestión de recursos hídricos

proyectos
2011

Biodegradación de herbicidas clorados en reactores de columna de burbujeo

autor

David Zalacáin Domench

director

Dra. Karina Boltes Espínola (UAH)

Dr. Pedro Letón García (UAH)

Alcalá de Henares, 16 de Junio de 2011



AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido desarrollado con financiación de los siguientes Proyectos de Investigación:

Consolider Tragua CSD2006-00044-T1; Comunidad de Madrid S2009/AMB-1588 y Comunidad de Madrid junto con Universidad de Alcalá CCG10-UAH/AMB-5899



ÍNDICE

1. Resumen	111
2. Introducción	111
2.1. Herbicidas	111
2.2. Diurón	111
2.2.1. Propiedades	111
2.2.2. Diurón en el Medio Ambiente	112
2.3. Toxicidad	112
2.4. Degradación del diurón	112
2.4.1. Degradación por <i>Variovorax</i> SRS16	113
3. Objetivos	113
4. Metodología	113
4.1. Materiales	113
4.1.1. La columna de burbujeo	113
4.2. Metodología del proceso de biodegradación	114
4.2.1. Cultivo en suspensión	114
4.2.2. Cultivo inmovilizado	115
4.3. Toma de muestras y posterior análisis	115
4.3.1. Material empleado	115
4.3.2. Metodología utilizada en el cultivo en suspensión	115
4.3.3. Metodología utilizada en el cultivo inmovilizado	115
4.4. Determinación de las concentraciones de diurón y succinato mediante HPLC	116
4.4.1. Método de elución y rectas de calibrado	116
4.5. Extracción en fase sólida	117
4.5.1. Metodología para realizar la SPE (Solid Phase Extraction)	118
4.6. Ensayo de ecotoxicidad	118
4.6.1. Metodología seguida en este ensayo	118
5. Resultados	118
5.1. Biodegradación de diurón en el cultivo en suspensión	118
5.2. Biodegradación de diurón en el cultivo inmovilizado	119
5.2.1. Proceso de inmovilización	119
5.2.2. Biodegradación de diurón	120
6. Discusión	120
7. Conclusiones	121
8. Bibliografía	121

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Molécula de diurón	111
Figura 2. Rutas de degradación del diurón	112
Figura 3. Mineralización de diurón por parte del consorcio <i>Arthrobacter globiformis</i> D47 y <i>Variovorax</i> sp. SRS16	113
Figura 4. Columna de burbujeo con recirculación interna (<i>airlift</i>)	114
Figura 5. Esquema del flujo dentro del <i>airlift</i>	114
Figura 6. Esquema de la toma de muestras para el cultivo inmovilizado	116
Figura 7. Representación gráfica del flujo de bombeo para el método del diurón	117
Figura 8. Recta de calibrado obtenida para el diurón	117
Figura 9. Representación de un cromatograma de diurón y sus metabolitos	117
Figura 10. Recta de calibrado obtenida para el succinato	117
Figura 11. Representación de un cromatograma de succinato y sus metabolitos	117
Figura 12. Evolución de la biomasa del cultivo en suspensión en el reactor	118
Figura 13. Representación de la concentración de succinato en el <i>airlift</i> con el cultivo en suspensión	119
Figura 14. Evolución de la concentración de diurón en la columna con el cultivo en suspensión	119
Figura 15. Comparación de la biomasa y de las concentraciones de diurón y succinato en el <i>airlift</i>	119
Figura 16. Porcentaje de inhibición de la velocidad de crecimiento de <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	119
Figura 17. Evolución del pH en el <i>airlift</i> con el cultivo inmovilizado en biolita	120
Figura 18. Representación de la concentración de succinato, con el cultivo inmovilizado en biolita	120
Figura 19. Evolución de la concentración de diurón en la columna con el cultivo inmovilizado	120
Figura 20. <i>Variovorax</i> SRS16 sobre biolita	120
Figura 21. Biofilm de <i>Variovorax</i> SRS16 sobre biolita	120

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades físicoquímicas del diurón	112
Tabla 2. Comparación de las velocidades de degradación de diurón	121



1. RESUMEN

El uso masivo de herbicidas en la agricultura, y más en concreto de diurón, ha dado lugar a su detección en aguas subterráneas, superficiales y suelos, aún después de años de haberse utilizado. Esto ha llevado a los expertos a plantear diversas soluciones para remediar la contaminación. Una estrategia de biorremediación es la biomagnificación por parte de bacterias. Este proyecto se enmarca dentro de esta tecnologías de descontaminación, ya que se trabajó con *Variovorax sp. SRS16*, bacteria aislada recientemente de suelos contaminados con herbicidas clorados.

El trabajo consistió en evaluar la degradación de diurón por parte de *Variovorax sp. SRS16* y estudiar la formación de una biopelícula sobre un soporte inerte. Para ello se utilizó un reactor de columna de burbujeo con recirculación interna (*air-lift*), que trabajó de manera aerobia y en el que se añadían los diferentes nutrientes, así como el inóculo de bacterias y el herbicida a degradar. Es el primer trabajo dónde se reporta el cultivo de esta cepa mineralizadora de diurón en un reactor a escala laboratorio, ya que anteriormente sólo había sido cultivada en Erlenmeyers.

Al inicio del proyecto se estudió la reacción con el cultivo de *Variovorax sp. SRS16* en suspensión, y se determinó que, efectivamente, se producía una degradación de diurón por la acción de dicha bacteria, calculándose la velocidad de biodegradación en este tipo de reactor. La siguiente fase del proyecto consistió en intentar que las bacterias *Variovorax sp. SRS16* formasen una biopelícula sobre un soporte sólido.

2. INTRODUCCIÓN

La agricultura, tal y como la conocemos desde las últimas décadas hasta la actualidad, no se entendería sin el uso de pesticidas, cuyo objetivo es el de mejorar la productividad y, también, la calidad de las cosechas. Esta utilización de herbicidas en la producción agrícola, así como en áreas urbanas e industriales, ha dado lugar a la detección de residuos en las aguas continentales y subterráneas, convirtiéndose en una de las principales fuentes contaminantes. Debido al uso masivo de estos herbicidas, en cantidades de hasta varios kilogramos por hectárea, se han encontrado concentraciones en el agua dulce en un rango que varía desde picogramos hasta microgramos por litro (Schwarzenbach et al. 2006). Incluso se han hallado concentraciones de miligramos por litro (Caux et al. 1998).

La continuada, y cada vez más importante, contaminación de los ecosistemas, ha suscitado la necesidad de la sociedad de conocer los riesgos que conlleva su uso descontrolado para los ecosistemas donde son vertidos, así como para la salud humana. Numerosos estudios se han llevado a cabo en los últimos años para desarrollar tecnologías de depuración más eficientes, que permitan alcanzar mayores eficiencias de degradación de estos contaminantes (Stasinakis et al. 2009, Farré et al. 2006).

2.1. HERBICIDAS

Uno de los mayores grupos de herbicidas detectados en las aguas potables europeas son los herbicidas pertenecientes a la familia de las fenilureas. Este tipo de herbicidas se empezó a comercializar en la década de los cincuenta y se utiliza sobre todo en el control de cultivos de algodón, frutas, cereales y otros usos agrícolas. El mecanismo de acción de estos compuestos se basa en su entrada a las plantas a través de las raíces, desde ahí son transportados por la savia hasta las hojas, donde se produce la inhibición de la fotosíntesis.

Se ha demostrado que varios componentes de este grupo pueden ser disruptores endocrinos y que pueden tener algún tipo de efecto genotóxico o ecotóxico (Caux et al. 1998, Lintelmann et al. 2003, Tixier et al. 2001).

Los principales, y más persistentes, compuestos dentro de esta familia de herbicidas son dos:

- Diurón [N – (3,4 – diclorofenil) – N, N – dimetilurea]]
- Linurón [N – (3,4 – diclorofenil) – N – metoxi – N – metilurea]]

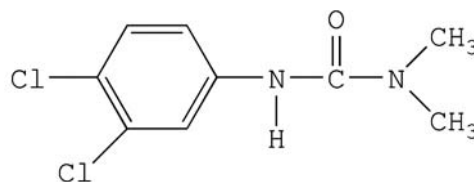
2.2. DIURÓN

El diurón es un contaminante que se bioacumula en ciertos organismos, y generalmente se muestra persistente en el suelo, el agua y los sedimentos. Este compuesto es ligeramente tóxico para los mamíferos y las aves, mientras que es moderadamente tóxico para los invertebrados acuáticos. Sin embargo, su principal producto de degradación, la 3,4 – dicloroanilina (DCA), posee una toxicidad más alta y también es persistente en suelo, agua y aguas subterráneas.

2.2.1. PROPIEDADES

En su forma pura es un sólido cristalino incoloro, cuya fórmula molecular se muestra en la Figura 1, y que presenta una gran estabilidad química a temperatura ambiente. Su punto de fusión es de aproximadamente 158 °C y su estructura química se descompone a temperaturas superiores a 180 °C. Su coeficiente de partición octanol – agua es moderadamente bajo ($\log K_{ow} = 2,6$) lo que nos indica su tendencia a ser soluble en agua y en disolventes orgánicos polares, pero escasamente soluble en hidrocarburos.

Figura 1. Molécula de diurón



El diurón tiene una constante de partición suelo – fracción orgánica de 485, lo que determina su afinidad de adsorción por las partículas orgánicas del suelo, por tanto, al tener un alto valor de K_{oc} , la capacidad de adsorción es alta y se reparte de manera heterogénea en el suelo.



Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas del diurón

Fórmula (IUPAC)	3 – (3,4 – diclorofenil) 1,1 – dimetilurea
Punto de fusión	158 – 159 °C
Fórmula molecular	C ₉ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O
KOC	485
Peso molar (g mol ⁻¹)	233,10
Log KOW	2,6
Solubilidad en agua a 20 °C	42 mg L ⁻¹
Presión de vapor a 25 °C	0,009 mPa

2.2.2. DIURÓN EN EL MEDIO AMBIENTE

El principal uso del diurón es como herbicida agrícola, ya que inhibe la fotosíntesis al impedir la producción de oxígeno (Wessels y Van der Veen, 1956) y bloquear la transferencia de electrones a nivel del fotosistema II de los microorganismos fotosintéticos y de las plantas. Se ha recurrido a este compuesto para controlar una gran variedad de plantas de hoja perenne, malas hierbas y musgos, así como en muchos cultivos agrícolas de frutas, algodón, caña de azúcar, alfalfa y trigo con unas tasas de aplicación de 1,8 kg ha⁻¹ año⁻¹.

También se puede emplear como un herbicida de amplio espectro en zonas urbanas e industriales, por ejemplo en carreteras, líneas de ferrocarril (3 kg ha⁻¹ año⁻¹), o como un ingrediente activo en las pinturas anti-incrustantes de los barcos y en formulaciones de alguicidas, utilizados frecuentemente en fuentes ornamentales y en acuicultura.

Debido a su alta persistencia, que varía de un mes a un año, el diurón se puede encontrar en muchos entornos como el suelo, los sedimentos y el agua (Field et al. 2003, Okamura et al. 2003). En el suelo teniendo en cuenta su baja volatilidad y su alto K_{oc}, el diurón se encuentra en la fase sólida, antes que en la fase gaseosa o líquida. Una vez que este herbicida se ha adsorbido al suelo, puede pasar a las aguas subterráneas mediante procesos de lixiviación y percolación. En consecuencia, se ha detectado diurón en: lagos, ríos, aguas subterráneas, aguas y sedimentos marinos e incluso en la lluvia de zonas urbanas y rurales. El diurón por lo general, se encuentra en concentraciones traza (nanogramos por litro a microgramos por litro), pero se han llegado a encontrar concentraciones más altas, de miligramos por litro, por ejemplo, en el agua de drenaje de los suelos agrícolas y en la escorrentía de huertos de frutas.

Los factores que hacen que un herbicida sea, o no, peligroso para el medio ambiente, son su movilidad y su tendencia a la degradación. El diurón cumple con estas dos características, alta movilidad y poco degradable en el medio ambiente, por lo que, en consecuencia, el diurón se ha incluido en la lista de la Comisión Europea de sustancias prioritarias de los recursos de agua dulce europeos y en la "Second Drinking Water Contaminant Candidate List" de la Agencia de Protección Ambiental de EEUU (EPA). En España esta sustancia se encuentra regulada bajo la Directiva CE 76/464 del Consejo, de 4 de mayo de 1976, relativa a la contaminación causada por determinadas sustancias peligrosas vertidas en el medio acuático y también por la Directiva 93/58/CEE del Consejo, de 29 de Junio de 1993, por la que se modifica el Anexo II de la Directiva 76/895/CEE relativa a la fijación de los contenidos máximos de residuos de plaguicidas en las frutas y hortalizas (MMA y MRYM).

2.3. TOXICIDAD

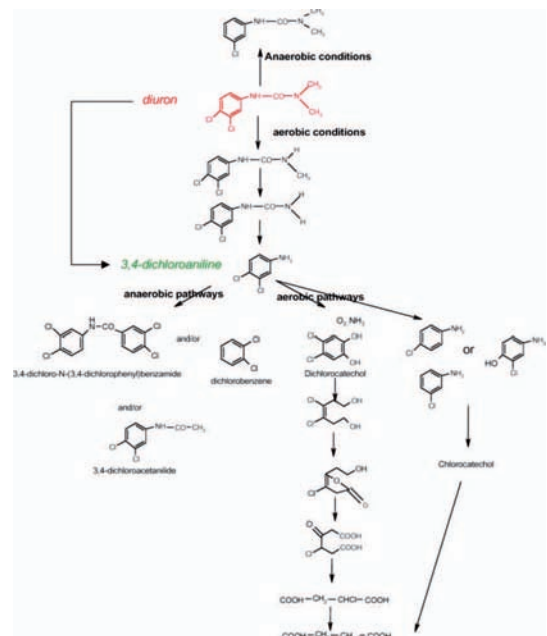
Con respecto a los procesos de biodegradación del diurón es fundamental considerar y analizar la toxicidad del diurón, así como la de su principal metabolito, la 3,4 – dicloroanilina (DCA). Los principales efectos tóxicos de la ingestión crónica de diurón en mamíferos son la pérdida de peso y las anomalías en la sangre, el hígado y el bazo, mientras que en humanos no se observan síntomas significativos después de una exposición oral (Giacomazzi y Cochet, 2004). Para los peces el diurón es moderadamente tóxico, al mismo tiempo que es ligeramente tóxico para las aves y los invertebrados acuáticos.

Muchos estudios confirman la toxicidad de la 3,4 – dicloroanilina (DCA) sobre varios organismos, como son el pez cebra, microalgas, protozoos, fitoplancton, dafnia e incluso en bacterias (Guilhermino et al. 1998, Tixier et al. 2001).

2.4. DEGRADACIÓN DEL DIURÓN

Las bajas concentraciones de diurón en el Medio Ambiente son principalmente el resultado de la interacción de procesos como: la dilución, la sorción y los procesos de degradación tanto bióticos, como abióticos, donde el principal proceso es la biodegradación. En 1973, Geissbuhler demostró por primera vez la implicación de los microorganismos en la degradación del diurón, comparando la degradación del diurón en un suelo esterilizado y en otro no esterilizado.

Figura 2. Rutas de degradación del diurón



Las diferentes rutas del proceso de biodegradación del diurón (Figura 2) dan lugar a diversos metabolitos, que incluso pueden llegar a ser aún más tóxicos, como es el caso de la 3,4–dicloroanilina (DCA). Otros metabolitos producidos son: el 1–(3,4–Diclorofenil)–3–metilurea (DCPMU), el 1–(3,4–diclorofenil) urea (DCPU) o el 3–(3–clorofenil)–1,1–dimetilurea (CPDMU).



2.4.1. DEGRADACIÓN POR VARIOVORAX SRS16

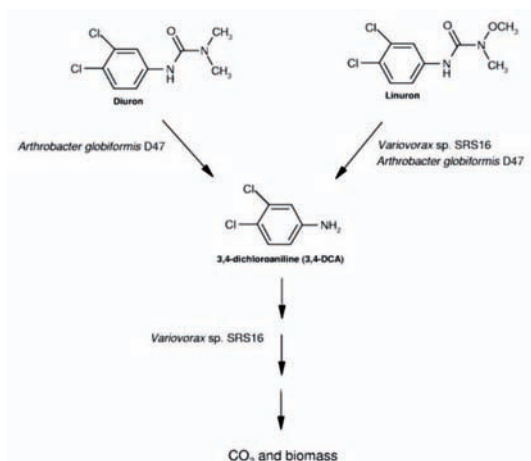
Es conocida la capacidad de degradar herbicidas por parte de algunas comunidades específicas de microorganismos, aunque se ha demostrado que las bajas concentraciones de herbicida pueden reducir de manera significativa la velocidad y el grado de degradación (Toräng et al. 2003, de Liphay et al. 2007, Sørensen et al. 2007). Por ello una estrategia de remediación de la contaminación por herbicidas en los recursos de agua potable es la biomagnificación usando bacterias. La completa mineralización del herbicida requiere unas cepas muy especializadas, que difícilmente se van a encontrar en las comunidades del medio donde se haya producido la contaminación.

Como ya se ha comentado anteriormente, uno de los principales grupos de herbicidas detectado en las aguas europeas es el perteneciente a la familia de las fenilureas, cuya degradación es el objeto de este proyecto. Algunas bacterias capaces de mineralizar linurón han sido aisladas de suelos agrícolas (Dejonghe et al. 2003, Breugelmans et al. 2007) y recientemente ha sido caracterizada la primera bacteria, *Variovorax* sp. SRS16, capaz de mineralizar los dos herbicidas más importantes de este grupo: el diurón y el linurón (Sørensen et al. 2005, 2008). La cepa de *Variovorax* sp. SRS16 fue aislada en un suelo agrícola danés y posteriormente caracterizada en el laboratorio (Sørensen et al. 2005) y se depositó en la Colección del Instituto Pasteur (París, Francia) con el número de acceso CIP 108393.

El Doctor Sebastian Sørensen, y su grupo de investigación del Departamento de Geoquímica de la Universidad de Copenhague (Dinamarca), elaboraron un trabajo en el año 2005 en el que consiguieron aislar la cepa SRS16 de *Variovorax* sp. y la confirmaron como una bacteria mineralizadora de linurón, capaz de usar el herbicida como fuente de carbono, nitrógeno y energía. La mineralización de linurón debida a la cepa SRS16 fue probada y verificada en un amplio rango de concentraciones, que iba desde 0,1 hasta 1.000 miligramos por litro.

En el año 2008, este mismo grupo de investigación, construyó un consorcio de dos bacterias para conseguir la mineralización del diurón y linurón, mediante la combinación de las capacidades degradativas de diurón del organismo *Arthrobacter globiformis* (cepa D47) y las capacidades degradativas de linurón de *Variovorax* sp. SRS16 (Figura 3).

Figura 3. Mineralización de diurón por parte del consorcio *Arthrobacter globiformis* D47 y *Variovorax* sp. SRS16



Este consorcio construido se utilizó para iniciar la degradación y mineralización de diurón en suelos sin posibilidades de atenuación natural. Este enfoque condujo al hallazgo de que *Variovorax* sp. SRS16 era capaz de mineralizar diurón en un cultivo puro, siempre que fuese complementado con sustratos de cultivo adecuados, convirtiéndose así en la primera bacteria conocida en mineralizar diurón. En comparación con el consorcio, la cepa SRS16 posee un menor grado de mineralización, lo que indica que la asociación formada por las cepas D47 y SRS16, es candidata para formar parte en la biorremediación de suelos y aguas contaminadas por diurón, linurón y su metabolito 3,4-DCA.

Hasta la actualidad, todos estos trabajos acerca de la degradación de diurón por parte de *Variovorax* sp. SRS16, se llevaron a cabo a pequeña escala, en placas de Petri o formando biopelículas en matraces Erlenmeyer. Por tanto este proyecto es pionero, ya que se va estudiar la biodegradación de este herbicida en un reactor del tipo *airlift*, a mayor escala que los anteriores. Estos reactores han sido muy empleados en la tecnología ambiental, pero nunca hasta ahora se había experimentado con ellos para realizar dicha degradación por parte de la bacteria *Variovorax* sp. SRS16.

3. OBJETIVOS

Para la realización de este proyecto se han planteado claramente dos objetivos:

- Evaluar la capacidad de biodegradación del herbicida diurón por parte de un cultivo de bacterias *Variovorax* sp. SRS16, en un reactor aerobio del tipo columna de burbujeo con recirculación interna (*airlift*). Esta capacidad se va a evaluar con el microorganismo suspendido e inmovilizado sobre un soporte sólido, comparando los resultados conseguidos en ambos métodos.
- Estudiar la formación por parte de la bacteria *Variovorax* sp. SRS16, de una biopelícula sobre un soporte inerte, como es la biolita. El cultivo de bacterias inmovilizadas sobre soportes sólidos, permite conseguir abundantes cantidades de biomasa activa en forma de biopelícula.

4. METODOLOGÍA

En este apartado se describen los equipos, reactivos y materiales utilizados en el trabajo.

4.1. MATERIALES

4.1.1. LA COLUMNA DE BURBUJEJO

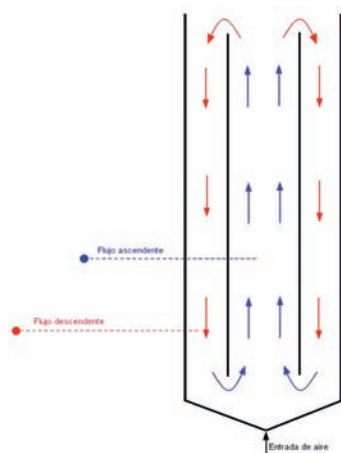
El principal elemento de este trabajo es el reactor, la columna de burbujeo con recirculación interna, *airlift* (Figura 4), cuya principal característica es la recirculación cíclica del fluido. La columna está construida en vidrio y tiene una capacidad de 1,1 litros, mientras que su altura y su diámetro son 45 y 7 cm. respectivamente.

Figura 4. Columna de burbujeo con recirculación interna (airlift)



En su interior posee un tubo concéntrico, también de vidrio, elevado 6 cm. sobre el fondo del reactor y con un diámetro de 5 cm. El flujo del gas entra por una placa porosa ubicada en la base de la columna, asciende por el interior del tubo situado coaxialmente a la columna y desciende por el exterior del tubo hasta llegar otra vez a la placa porosa donde vuelve a ascender, como se ve en la Figura 5.

Figura 5. Esquema del flujo dentro del airlift



La forma de operar del reactor fue en discontinuo, lo que se caracteriza porque el medio de cultivo y las bacterias que lo van a degradar se introducen en la columna al principio del proceso y se dejan reaccionar durante un período de tiempo determinado, en presencia continua de oxígeno.

Un compresor, situado en el exterior del laboratorio, suministraba el aire que le llegaba a la columna, y antes de su entrada, se le colocó un caudalímetro Aalborg, del modelo *Mass Flowmeter GFM 37*, para controlar el caudal de aire que accede al reactor. La parte superior de la columna de burbujeo tiene una salida en donde se le acopló un condensador para evitar al máximo las pérdidas por evaporación. Todas estas conexiones se realizaron mediante tubos de silicona de diferente grosor.

El resto de material empleado fue el siguiente:

- Para el inóculo de las bacterias se utilizaron cultivos puros de *Variovorax* SRS16, con el número de acceso CIP 108393 de la Colección del Instituto Pasteur, donados por grupo investigador del Doctor Sørensen (Universidad de Copenhague, Dinamarca).
- Medio de cultivo complejo R2B, que se genera a partir de una mezcla de sales concentradas a un pH de entre 7,1 y 7,2. Este medio se utiliza para el crecimiento de las bacterias en los matraces Erlenmeyer.
- El medio de cultivo MSN se construye a partir de tres soluciones que contienen distinta proporción de sales. Se parte de una solución tampón y otra que contiene nutrientes, a las que se añade la solución que aporta los elementos traza. Después de ajustar el pH como en el medio R2B, entre 7,1 y 7,2, se introduce en el autoclave para esterilizarlo y, posteriormente, se le añade una solución de FeCl_3 . Este medio MSN es el que se va a introducir en la columna de burbujeo junto a unas determinadas cantidades de succinato, como fuente de carbono de los microorganismos, y de diurón, como fuente de nitrógeno, para su posterior degradación.
- pHmetro modelo *conductivity meter 524*, de la marca Crison. Para ajustar el pH se utilizan soluciones de NaOH y HCl.
- Incubadora B.Braun-Biotech SA, de agitación orbital, modelo *Certomat* que mantiene a las bacterias a una temperatura constante de 30 °C y en estado de agitación.
- Centrífuga miniSpin, modelo *Eppendorf*.
- Estufa P-Selecta, que se encuentra a 50 °C.
- Autoclave P-Selecta, modelo *Presoclave-II*, utilizada para esterilizar por calor los materiales y los medios empleados en este trabajo.

4.2. METODOLOGÍA DEL PROCESO DE BIODEGRADACIÓN

4.2.1. CULTIVO EN SUSPENSIÓN

La metodología seguida para la realización del inóculo de bacterias fue la siguiente:

Para realizar el inóculo de *Variovorax* SRS16 se tomaron 5 tubos eppendorf que contenían el cultivo puro facilitado por el grupo de investigación del Dr. Sebastian R. Sørensen (Universidad de Copenhague, Dinamarca) y se centrifugaron a 4.000 revoluciones y durante 5 minutos, para poder retirar el sobrenadante (glicerol) y quedarnos solamente con las bacterias. Se lavaron los eppendorf con el medio R2B y se volvió a repetir la operación, se centrifugó y se retiró el sobrenadante. Una vez hecho esto se resuspendieron las bacterias con el medio R2B para volcar el contenido en el matraz Erlenmeyer. En dicho matraz se obtuvo un volumen de 150 mL y se introdujo en la incubadora toda una noche a 30 grados con agitación constante.



Al día siguiente se prepararon los volúmenes de succinato y de diurón a partir de unas disoluciones concentradas, para que tuviesen una concentración de 3 ppm el diurón y de 2 g/L el succinato. Al final en la columna había 1 litro de medio MSN, 30 mL de succinato, 80 mL de diurón y 100 mL del inóculo de *Variovorax* SRS16. Se fijó un caudal de aire de 0,8 L/minuto.

4.2.2. CULTIVO INMOVILIZADO

Al comienzo de esta fase del proyecto se procedió a realizar un cultivo de bacterias, que se llevó a cabo sobre tres soportes sólidos: arena de mar, arena de río y biolita. De entre estos cultivos, se tomaron 100 mL del sobrenadante de un Erlenmeyer que contenía un cultivo de bacterias *Variovorax* SRS16 inmovilizadas en arena de río, que estaban creciendo con el medio R2B. Este inóculo de bacterias fue el que se introdujo en el *airlift* junto con el medio de cultivo y los diferentes nutrientes, para iniciar la reacción. Se deseaba que en el reactor hubiese una concentración de 1 g/L de succinato, por lo que a partir de una concentración madre de 80 g/L, se añadieron 12,5 mL. Para el diurón, se utilizó un volumen de 100 mL cuya concentración eran 100 mg/L (ppm), para conseguir una concentración de 1 ppm. A estos volúmenes de succinato y diurón, 12,5 y 100 mL respectivamente, se le añadió medio MSN hasta llegar a 1 litro. Es entonces cuando se introdujeron en la columna 900 mL del medio de cultivo (MSN+ succinato+ diurón), 100 gramos de biolita, previamente lavada con agua milliQ y secada en la estufa a 50 grados, y los 100 mL del cultivo de *Variovorax* SRS16. Mientras que el caudal de aireación medido en la entrada del reactor fue de 1,2 L/minuto.

A este caldo se le dejó reaccionar durante dos meses y medio, en los que la columna se iba rellenando con agua destilada o medio de cultivo MSN, para conseguir un nivel constante y poder seguir así con la recirculación, ya que el reactor sufría una elevada evaporación. El objetivo de mantener este caldo tanto tiempo fue el de intentar inmovilizar las bacterias sobre el sólido, para que formasen una biopelícula sobre la biolita.

Una biopelícula se puede definir como una estructura compleja de células y productos celulares, como son los polímeros extracelulares (*Characklis, 1990*). El desarrollo de la biopelícula, o *biofilm*, está influenciado por varios procesos incluyendo la adsorción y desorción de los microorganismos respecto al sólido, la afinidad de los microorganismos con la superficie, y la capacidad de crecimiento y desprendimiento de la propia biopelícula.

Una vez pasado este tiempo comenzó otro ciclo de reacción. Para ello se retiró el máximo medio posible de la columna manteniendo la biolita, en la que cabía suponer que ya se había formado la biopelícula, para asegurar así que las concentraciones de nutrientes que se introducían de nuevo, eran las correctas. En este caso se añadieron unas concentraciones de 8 g/L de succinato y de 1 mg/L de diurón, y se trabajó con un caudal de aire de 1,7 L/minuto.

4.3. TOMA DE MUESTRAS Y POSTERIOR ANÁLISIS

4.3.1. MATERIAL EMPLEADO

- Jeringas esterilizadas de 1, 25 y 50 mL
- Tubos esterilizados de 10 y 50 mL
- Filtros Millex GV de 0,22 μ m.
- Pipetas Pasteur.
- Bomba de vacío y filtros de 0,45 micras.
- Centrifuga de la marca Heraeus y del modelo *Multifuge 3 L-R*, con capacidad para 6 tubos de 50 mL
- Espectrofotómetro Shimadzu, modelo *UV-1800*, para las medidas de la Densidad Óptica a una longitud de onda de 600 nanómetros. Está conectado a un ordenador con el software UVProbe 2.31, de forma que se registren los datos de la absorbancia.
- Microscopio electrónico de barrido ZEISS, modelo *DSM 950 (Digital Scanning Microscope)* situado en el Servicio de Microscopía de la Universidad de Alcalá.

4.3.2. MÉTODOLÓGÍA UTILIZADA EN EL CULTIVO EN SUSPENSIÓN

Al estimar que la reacción que iba a tener lugar en el *airlift* era relativamente rápida, se supuso un periodo de reacción de 48 horas, en el que se extrajeron 7 muestras. Ya añadido el medio de cultivo, el diurón y el succinato, y una vez que el reactor hubo entrado en funcionamiento se sacó la primera muestra, a tiempo cero, para tenerla como referencia de las concentraciones iniciales de todos los compuestos. A partir del tiempo cero, se sacaron 7 muestras a diferentes intervalos de tiempo, hasta llegar a los 2 días, para evaluar como varían los parámetros.

Cada una de ellas tenía un volumen de 10 mL y se extrajeron mediante unas jeringas esterilizadas de 25 mL. Nada más sacarlas, y para evitar la sedimentación, se midió la densidad óptica en el espectrofotómetro. Después, las muestras se pasaron por un filtro de 0,22 μ m para esterilizarlas por filtración y poder analizarlas en el HPLC. Dichas muestras se colocaron en 7 viales, que se dejaron en el frigorífico hasta su posterior análisis.

Una vez se analizaron las muestras en el HPLC, se procedió a realizar el ensayo de ecotoxicidad con algas verdes unicelulares.

4.3.3. MÉTODOLÓGÍA UTILIZADA EN EL CULTIVO INMOVILIZADO

Durante el periodo de inmovilización, de dos meses y medio, se sacaron muestras para ir controlando las concentraciones de succinato y de diurón que había en el biorreactor, mediante un análisis en el HPLC. También se determinó la absorbancia de las muestras, a través del espectrofotómetro, para evaluar si se estaba produciendo un crecimiento bacteriano. Aunque esta densidad óptica presenta cierta interferencia, ya que no solamente mide las bacterias que hay, sino que también mide los sólidos disueltos en el medio, sí que se utiliza para estimar este crecimiento bacteriano.

Debido a la baja concentración de diurón, se hace necesario realizar una preconcentración para poder observar más claramente las concentraciones que nos muestra el cromatograma, la medida en el HPLC. Para ello se recurre al tratamiento de las

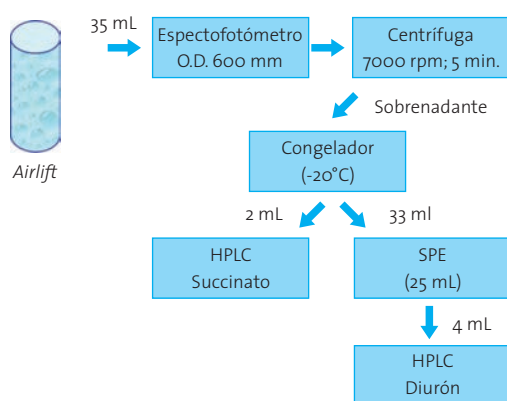


muestras con la técnica de la extracción en fase sólida (SPE), que permite la concentración del analito en un volumen más pequeño de disolvente.

Una vez pasado este tiempo en el que las bacterias ya han podido formar el biofilm, comienza otro ciclo de reacción, y la metodología seguida fue muy similar a la de la fase anterior, con un tiempo de reacción de 48 horas en donde se sacaron 7 muestras.

El tratamiento de todas las muestras fue siempre el mismo, para evitar posibles errores en el manejo y análisis de las mismas (Figura 6). Con una jeringa estéril de 50 mL, y evitando succionar la biolita, se extrajeron de la columna 35 mL del caldo, que se depositaron en un tubo de ensayo de 50 mL. Con una pipeta Pasteur se traspasó parte de esta muestra a una cubeta para la medida de la densidad óptica en el espectrofotómetro. El contenido de la cubeta se volvió a depositar en el tubo de ensayo, que se transfirió a un tubo de centrifuga, para introducirlo en la misma. La muestra se centrifugó durante 5 minutos y a 7000 revoluciones por minuto, para conseguir detener la reacción y evitar que las bacterias siguieran degradando el medio. Una vez centrifugadas las muestras, se guardó el sobrenadante de éstas, en el arcón congelador a -20°C . Se recuperaron del congelador y se procedió a su extracción en fase sólida. Antes de ello se pasó un volumen de 2 mL de cada muestra a través del filtro de $0,22\ \mu\text{m}$, y a continuación se introdujo en un vial de topacio para la medida de la concentración de succinato en el HPLC. Del volumen restante (33 mL) se utilizaron 25 para la SPE, en donde se obtuvo un volumen eluido de 4 mL de metanol y muestra, para su posterior medida de diurón. A los 8 días de haber comenzado la reacción se tomó la última muestra para observar las concentraciones finales tanto de succinato como de diurón.

Figura 6. Esquema de la toma de muestras para el cultivo inmovilizado



Para poder tener más claro si el objetivo de la creación de un biofilm se estaba llevando a cabo, se tomaron dos muestras de biolita para observarlas en el microscopio electrónico de barrido. La preparación de las muestras, para su posterior visualización en el SEM, se llevó a cabo en varias fases. La primera fase de todas fue la introducción de las dos muestras en un recipiente adecuado, en las cápsulas de papel Whatman. Posteriormente, se procedió a la fijación–deshidratación de las muestras, introduciendo las cápsulas en diversos recipientes que contenían las

distintas soluciones. Estas dos primeras fases se realizaron en el laboratorio, mientras que para la siguiente, el punto crítico de secado, las muestras se llevaron al Servicio de Microscopía de la Universidad de Alcalá. Se recogieron las muestras y se colocaron en los portamuestras cilíndricos de aluminio, mediante un adhesivo de doble cara. Para finalizar, se volvieron a llevar las muestras al Servicio de Microscopía, en donde le aplicaron la última fase, el metalizado, que consistía en cubrir la muestra con una fina capa de oro de 30 nm.

4.4. DETERMINACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE DIURÓN Y SUCCINATO MEDIANTE HPLC

Para la caracterización de las muestras y, más concretamente, para la determinación cuantitativa de sus componentes, se utilizó la Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC, *High Performance Liquid Chromatography*).

Se empleó el siguiente material y equipamiento:

- HPLC *Varian Prostar 220*.
- *Autosampler Varian Prostar 410*.
- Detector de haz de diodos (*Diode Array*) *Varian Prostar 335 LC*, para la detección de diurón y metabolitos.
- Detector índice de refracción *Varian Star 9040*, para la detección de succinato.

Todos controlados mediante el software *Galaxie Chromatography Data System* (*Varian*).

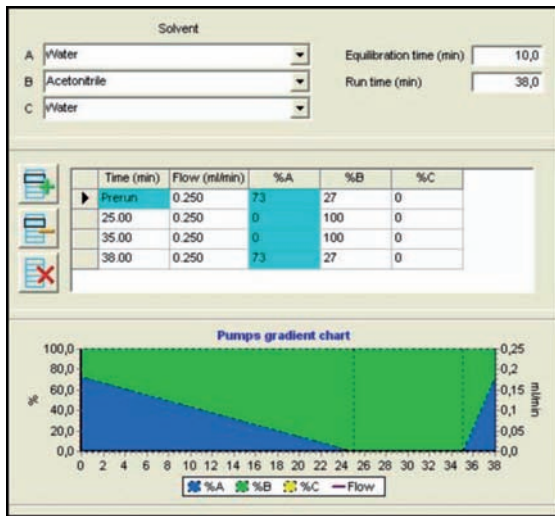
- Columna analítica *Kromasil C18* (*Phenomenex*), cuyas medidas son $150 \times 4,60\ \text{mm}$, $5\ \mu\text{m}$ y $100\ \text{Å}$. Se utilizó para la medida del diurón a temperatura ambiente.
- Columna analítica *Phenomenex Col.Supelcogel C610H* (*Supelco*) $30\ \text{cm} \times 7,8\ \text{mm}$. Esta columna se empleó, sumergida en un baño de agua a unos $45\ ^{\circ}\text{C}$, para medir la concentración de succinato.
- Disolventes: formados por agua desionizada y el disolvente orgánico acetonitrilo para el método del diurón, y agua desionizada con $0,1\% \text{ (v/v)}\ \text{H}_3\text{PO}_4$ para el succinato.
- Viales de topacio para HPLC: con una capacidad máxima de almacenamiento de 2 mL.

4.4.1. MÉTODO DE ELUCIÓN Y RECTAS DE CALIBRADO

La medida del diurón en el HPLC se obtiene a través de un método, cuyas características son las siguientes: es capaz de medir entre unas longitudes de onda de 200 a 300 nm. El tiempo de retención es de 22,7 minutos, mientras que el flujo de bombeo es de $0,25\ \text{mL/minuto}$. Los volúmenes de flujo y de lavado son 50 y $750\ \mu\text{L}$. En la Figura 7 se observa como varía el flujo de la fase móvil respecto al tiempo. Al inicio y al final del método, se emplea un mayor porcentaje (73 %) de agua desionizada, mientras que desde los 25 hasta los 35 minutos de medida, se emplea únicamente acetonitrilo.



Figura 7. Representación gráfica del flujo de bombeo para el método del diurón

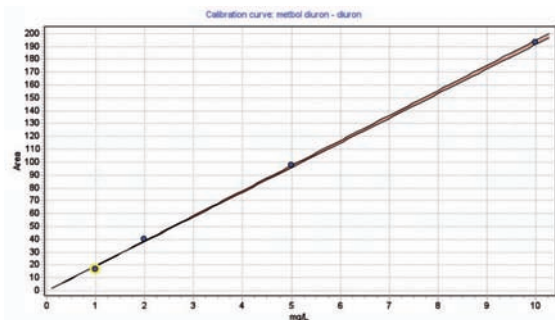


La ecuación de la recta de calibrado del diurón (Figura 8), cuya r^2 es igual a 0,9995, es:

$$y = 19,32 \cdot x$$

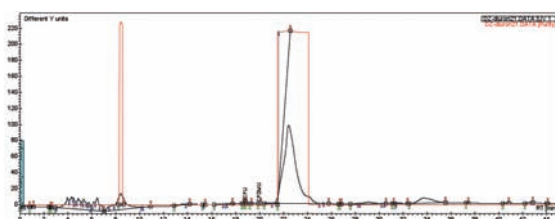
La variable independiente (x) corresponde a la concentración en mg/L, mientras que la variable dependiente (y) es el área que se encuentra debajo del pico del cromatograma.

Figura 8. Recta de calibrado obtenida para el diurón



Un ejemplo de cromatograma para determinar la concentración de diurón, se muestra en la Figura 9, donde se observa que el pico de diurón aparece a los 22,7 minutos. También se observan pequeños picos, que corresponden a metabolitos del diurón.

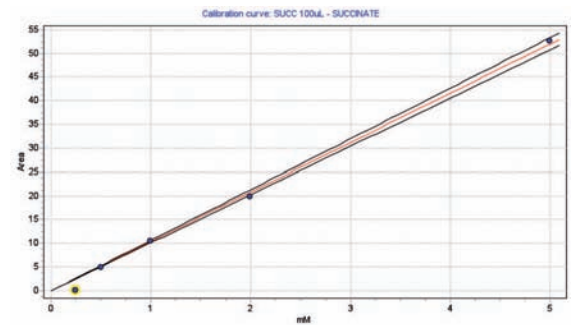
Figura 9. Representación de un cromatograma de diurón y sus metabolitos



El método que se empleó para determinar la concentración de succinato en el HPLC tenía las siguientes características: el tiempo de retención es de 10 minutos, el flujo de bombeo es de 0,7 mL/minuto en condiciones isocráticas y el volumen de inyección 100 μ L. La recta de calibrado para el succinato (Figura 10) tiene un coeficiente de correlación de 0,9949 y su ecuación es:

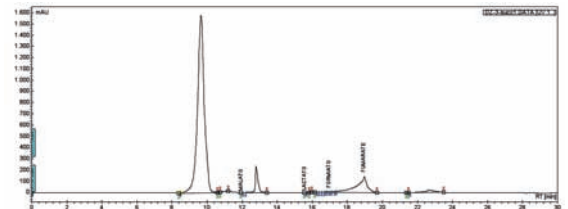
$$y = 10,39 \cdot x$$

Figura 10. Recta de calibrado obtenida para el succinato



En la Figura 11, se expone un ejemplo de un cromatograma obtenido en el método del succinato. Se observan diferentes picos, de entre los que destaca el que aparece en torno a los 10 minutos, que es el correspondiente al succinato.

Figura 11. Representación de un cromatograma de succinato y sus metabolitos



4.5. EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA

El material empleado fue el siguiente:

- Equipo de extracción: basado en una plataforma que contiene doce llaves donde se acoplan las jeringas de extracción, situada sobre un recipiente de cristal, donde va a parar el rechazo. En la parte inferior tiene una salida con un manómetro, para acoplar la bomba de vacío.
- Bomba de vacío, que va acoplada al equipo extractor para generar la succión que se necesita en esta operación.
- Jeringas de extracción Phenomenex, *strata-X 33u Polymeric Reversed Phase 30mg/3mL*.
- Agua milliQ y Metanol *supragradient* de Scharlau: utilizados para limpiar, acondicionar y lavar el relleno polimérico de las jeringas, así como para realizar la extracción en sí, en la que sólo se utiliza el Metanol.



4.5.1. METODOLOGÍA PARA REALIZAR LA SPE (SOLID PHASE EXTRACTION)

El primer paso para la realización de la extracción en fase sólida fue la limpieza del equipo extractor, mediante la inyección de metanol y agua milliQ a través de las llaves, para poder colocar ahí las jeringas de extracción. A continuación se realizó la fase de acondicionamiento, en la que se pasaron, dos veces, 2 mL de metanol por cada jeringa. Una vez hecho esto, el equipo ya estuvo listo para poder introducir la muestra (etapa de carga) de 25 mL, y que había sido filtrada previamente por un filtro de 0,45 micras. Posteriormente, en el lavado, se hizo pasar tres veces por cada jeringa, un volumen de 2 mL de agua milliQ. Se desacoplaron las jeringas de las llaves y se introdujeron en la estufa, durante 20 minutos a 30° C, para que se secasen. Por último tuvo lugar la elución, que consistió en el paso por dos veces de 2 mL de metanol por cada jeringa, y que se recogieron en unos tubos de ensayo. Por lo tanto se obtuvo un volumen eluido de 4 mL, a partir de un volumen de muestra de 25 mL.

4.6. ENSAYO DE ECOTOXICIDAD

El objetivo de este ensayo de ecotoxicidad es determinar el porcentaje de inhibición del crecimiento que produce una muestra que contiene diurón, en algas verdes unicelulares de la especie *Pseudokirchneriella subcapitata*. Fue llevado a cabo mediante una adaptación de la norma ISO 8692:2004 y OCDE TG 201.

El material necesario para la realización de este ensayo fue el siguiente:

- Inóculo de algas *Pseudokirchneriella subcapitata*: que se encontraba en la incubadora Aqualytic de MicroBioTest Inc. manteniéndolo con iluminación constante y a una temperatura entre los 23 y los 25 °C.
- Medio de cultivo de algas OCDE
- Espectrofotómetro Shimadzu, modelo UV-1800: usado para la medida inicial de la Densidad Óptica del cultivo. Esta medición se realizó en una cubeta específica de forma alargada.
- Microplacas PCR Deltalab: poseen 96 pocillos donde se depositan las muestras. A estas microplacas, una vez hecha la medida de la absorbancia, se les colocó un film adhesivo en la parte superior, con el objetivo de evitar la evaporación, el derramamiento o la mezcla de las muestras.
- Lector de microplacas Rayto, modelo RT-2100C *Microplate Reader*: equipo que midió la densidad óptica de las muestras, previa agitación, a 630 nm.
- Pipetas multicanal: su cometido fue el de colocar las muestras en los diferentes pocillos y el de homogeneizar las muestras antes de la medida de la absorbancia.

4.6.1. METODOLOGÍA SEGUIDA EN ESTE ENSAYO

Una vez preparado el inóculo de algas *Pseudokirchneriella subcapitata*, se virtió en una cubeta alargada y se introdujo en el

espectrofotómetro. En ella se obtuvo la densidad óptica del cultivo y, mediante una curva de regresión lineal, proporcionada por el fabricante, se determinó el número de células por mL. Como se obtuvo un gran número de células, se decidió realizar una dilución $1/2$ con el medio de cultivo.

Con la pipeta multicanal se procedió a añadir las muestras, que fueron por duplicado, a los pocillos. En las dos primeras filas, y dado que se consiguieron siete muestras, se añadieron 200 μ L de la muestra y 5 μ L del cultivo de algas. En la fila 3 y 4 se realizó una dilución de las muestras $1/10$, adicionando 20 μ L de muestra y 180 μ L de medio de cultivo, más los 5 μ L del cultivo de *Pseudokirchneriella subcapitata*. Por último, y para tener una concentración control, se rellenaron siete pocillos solamente con 200 μ L del medio de cultivo y otros siete con 200 μ L de medio más 5 μ L del cultivo de algas.

5. RESULTADOS

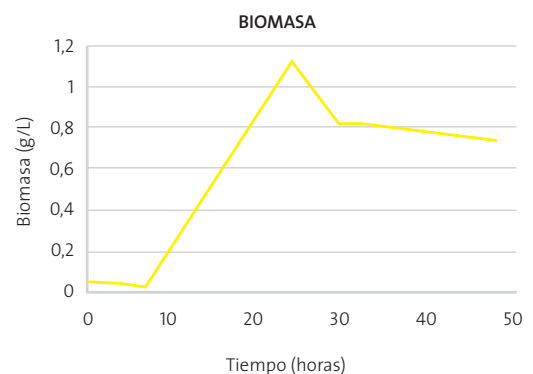
A lo largo de la experimentación y, con la intención de lograr los objetivos marcados, se han llevado a cabo numerosas medidas, que han dado lugar a los resultados que se muestran en este apartado.

5.1. BIODEGRADACIÓN DE DIURÓN EN EL CULTIVO EN SUSPENSIÓN

Una vez comenzada la reacción, y a lo largo de 48 horas, se extrajeron 7 muestras. A través de las medidas de absorbancia a 600 nm, obtenidas en el espectrofotómetro, se determinaron las medidas de biomasa (Figura 12), gracias a la recta de calibración de la biomasa, que es:

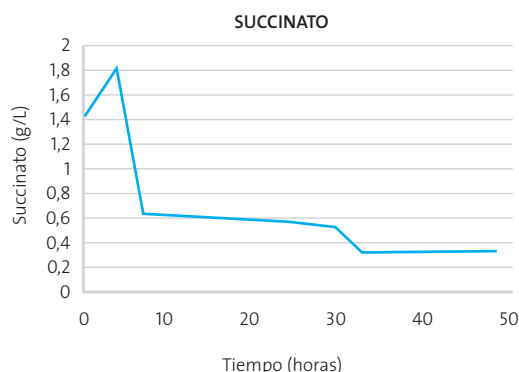
$$C_x \text{ (mg/mL)} = 3,874 \cdot OD(600)$$

Figura 12. Evolución de la biomasa del cultivo en suspensión en el reactor



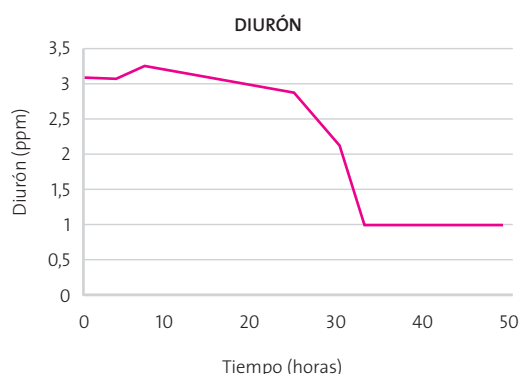
La degradación del succinato, es decir, como fue disminuyendo su concentración en el biorreactor, se determinó a través del HPLC y se muestra en la Figura 13.

Figura 13. Representación de la concentración de succinato en el airlift con el cultivo en suspensión



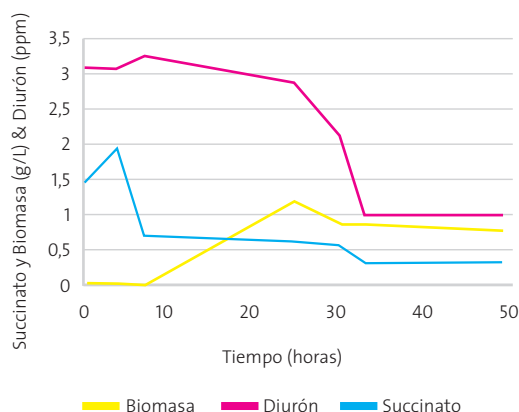
En la Figura 14, se puede observar la evolución de la concentración y, por tanto, de la biodegradación del diurón por parte de las bacterias *Variovorax* SRS16.

Figura 14. Evolución de la concentración de diurón en la columna con el cultivo en suspensión



Comparando las tres gráficas se observa cómo va variando la biodegradación, respecto a estos tres parámetros (Figura 15).

Figura 15. Comparación de la biomasa y de las concentraciones de diurón y succinato en el airlift

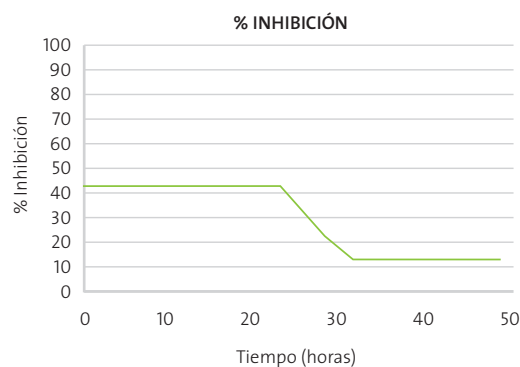


A partir de la Figura 15, se obtuvieron las velocidades de degradación. La velocidad de degradación del diurón en el tramo lineal de la curva, aproximadamente hacia las 25 horas, es de 0,234 mg diurón/L-h. Mientras que la velocidad específica de degradación, obtenida en el mismo tramo, es de 5,1 mg diurón/g biomasa-h.

También se logró obtener el rendimiento de formación de biomasa (Y_{xs}) en el tramo lineal, que fue de 0,041 g biomasa/mg Succinato.

En el ensayo de ecotoxicidad se compararon las velocidades de crecimiento del alga en ausencia y en presencia de diurón. A partir de estas velocidades, se calculó un porcentaje de inhibición, que se muestra en la Figura 16.

Figura 16. Porcentaje de inhibición de la velocidad de crecimiento de *Pseudokirchneriella subcapitata*



5.2. BIODEGRADACIÓN DE DIURÓN EN EL CULTIVO INMOVILIZADO

5.2.1. PROCESO DE INMOVILIZACIÓN

En primer lugar se comprobaron las características fluidodinámicas en el interior de la columna de los tres sólidos: arena de mar, arena de río y biolita, en donde se quería formar la biopeícula. Se observó que el soporte que mejor se comportaba era la biolita, ya que, al ser más ligera, se podía introducir una mayor cantidad en el reactor y alcanzaba una buena recirculación con un caudal de aireación más bajo. Tanto la arena de mar como la de río, al ser más densas, necesitaban grandes caudales para que recirculasen dentro del biorreactor.

Al inicio del proceso, se adicionó a la columna de burbujeo una concentración de succinato de 1 g/L y 1 ppm de diurón. A los 15 días después de haber comenzado la reacción, se midió la concentración de succinato, que iba a ser la fuente de carbono para las bacterias *Variovorax* SRS16, y se observó que no había una disminución respecto a la concentración inicial. Debido a que no se producía la degradación de succinato, se optó por añadir otros 50 mL del inóculo inicial, para poder tener una mayor cantidad de bacterias en el reactor.

Al mes y medio de haber comenzado, se procedió a realizar la extracción en fase sólida de algunas muestras, ya que la concentración de diurón era tan pequeña que apenas se podía



distinguir en el cromatograma obtenido en el HPLC. Después de la extracción se obtuvo una concentración de 0.725 ppm. Pasada una semana, se sacaron otras dos muestras y se les sometió a SPE, y el resultado que se alcanzó, volvía a ser parecido 0.56 y 0.728 ppm. A la semana siguiente la muestra arrojaba una concentración de diurón de 0.994 ppm. Este aumento de la concentración pudo ser debido a la elevada evaporación a la que estaba sometida la columna, por lo que se le añadieron 100 mL de medio MSN y se le colocó un condensador, para evitar en su mayor parte las pérdidas por evaporación. En esa semana también se midió la concentración de succinato y se observó que había desaparecido, entonces se añadió a la columna una concentración de 2 g/L de succinato.

Pasados dos meses, se sacó una muestra para ver la concentración de diurón, que fue de 0.63 ppm, lo que reveló que había disminuido. Por lo que se optó por extraer el líquido sobrenadante que hubiera en la columna, dejando solamente la biolita.

5.2.2. BIODEGRADACIÓN DE DIURÓN

Una vez preparado el biorreactor para una nueva fase de reacción, y en un intervalo de 48 horas, se procedió a sacar 7 muestras. Esta observación proporcionó las siguientes medidas (Figuras 17, 18 y 19).

Figura 17. Evolución del pH en el airlift con el cultivo inmovilizado en biolita

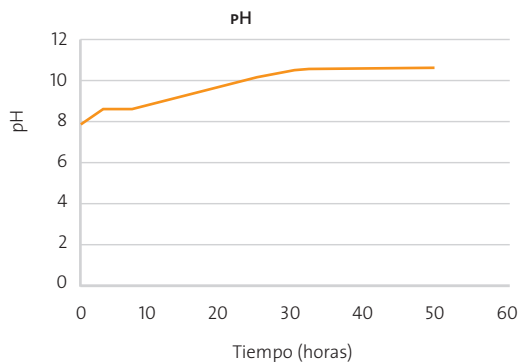


Figura 18. Representación de la concentración de succinato, con el cultivo inmovilizado en biolita

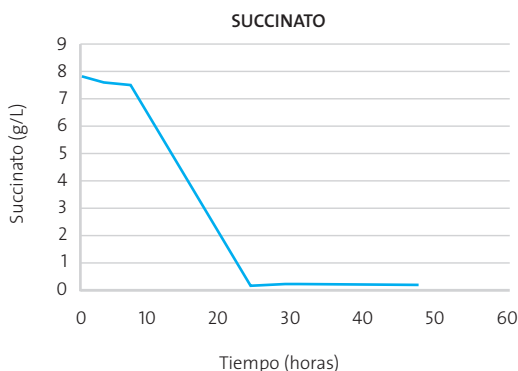
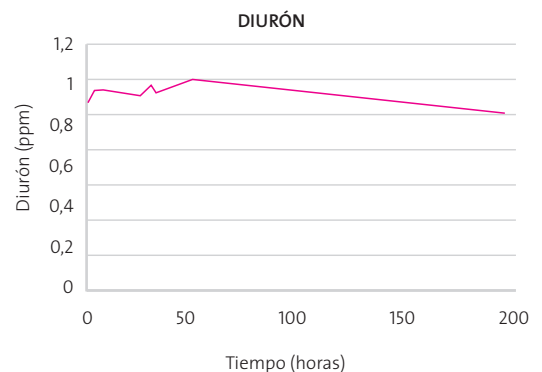
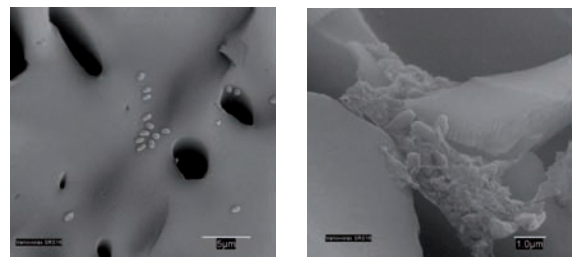


Figura 19. Evolución de la concentración de diurón en la columna con el cultivo inmovilizado



Al finalizar la realización de esta fase, se procedió a la extracción de una muestra de biolita para su observación en el microscopio electrónico de barrido, de la que se obtuvieron varias fotografías (Figuras 20 y 21).

Figura 20. (izquierda) Variovorax SRS16 sobre biolita
Figura 21. (derecha) Biofilm de Variovorax SRS16 sobre biolita



6. DISCUSIÓN

En este apartado se realiza la interpretación de los resultados obtenidos en el trabajo y se comparan con otros estudios similares.

En la primera fase del proyecto, con el cultivo de bacterias en suspensión, los resultados de la Figura 12, nos dan idea del crecimiento bacteriano. Al inicio de la reacción nos encontramos con una fase de adaptación (latencia), que viene seguida de una fase exponencial, que va desde las 7 hasta las 24 horas, en la que se observa cómo se produce un crecimiento de forma muy rápida, y posteriormente la biomasa bacteriana se estabiliza, entrando así en la fase estacionaria, e incluso disminuye. Dicho comportamiento en la reacción sigue el claro patrón del crecimiento bacteriano.

La velocidad de degradación de diurón en el tramo lineal, obtenida en la Figura 15, puede ser comparada con otras velocidades de degradación de diurón calculadas en otras condiciones (Tabla 2). La velocidad que se ha obtenido en este proyecto, con el cultivo en suspensión en un airlift, no puede ser comparada con otra igual, ya que este es el primer trabajo en el que se ensaya con este tipo de operación. Las demás velocidades han sido determinadas a través de los resultados presentados en el artículo de Sørensen *et al.* 2008.

Tabla 2. Comparación de las velocidades de degradación de diurón

Microorganismo	Soporte	Cantidad inicial de micro organismo	Concentración inicial diurón	Velocidad de degradación de diurón
<i>A.Globiformis</i> D47	Erlenmeyer (MSN)	10 ⁶ cell/mL	—	0,291 mg/L · h
<i>Variovorax</i> sp. SRS16	Suelo	10 ⁸ cell/mL	10 mg/L	0,005 mg/L · h
<i>Variovorax</i> sp. SRS16	Erlenmeyer (MSN)	10 ⁶ cell/mL	10 mg/L	0,012 mg/L · h
<i>Variovorax</i> sp. SRS16	Airlift (MSN)	—	3 mg/L	0,234 mg/L · h

Como se muestra en la Tabla 2, las velocidades de degradación de diurón por parte de *A.Globiformis* D47 y *Variovorax* sp. SRS16, con el cultivo creciendo en un matraz Erlenmeyer y con medio MSN, son mayores que cuando se aplica la bacteria *Variovorax* sp. SRS16 al suelo, aunque en este caso la cantidad inicial de microorganismo sea mayor. Sin embargo, la velocidad cuando la bacteria *Variovorax* sp. SRS16 crece en Erlenmeyer es menor que la velocidad de degradación obtenida en este proyecto, cuando el cultivo se encuentra en un airlift. A su vez, la velocidad de degradación de *A.Globiformis* D47 es del mismo orden de magnitud que la obtenida en este trabajo.

La Figura 12 se puede relacionar con la Figura 14, la figura que muestra la degradación del diurón, ya que la franja donde se produce una mayor degradación de este compuesto va desde las 7 horas hasta las 32 horas del inicio del ensayo. Por otra parte, en la Figura 13, se observa cómo la concentración de succinato disminuye bruscamente en las primeras horas, lo que favorece el crecimiento de *Variovorax* SRS16. En la Figura 15 se puede realizar una comparación entre los tres gráficos anteriores, y se observa que es al final del primer día de reacción cuando la cantidad de biomasa aumenta en gran medida, y, por tanto, en las horas siguientes las concentraciones de succinato y de diurón disminuyeron considerablemente.

Respecto al gráfico que corresponde al porcentaje de inhibición de la velocidad de crecimiento de las algas (Figura 16), se observa un descenso de dicho porcentaje en el tiempo. Este descenso se relaciona con la concentración de diurón presente en el biorreactor, ya que es hacia las 24 horas cuando se inicia el descenso, por lo tanto coincide también con el máximo descenso de la concentración de diurón.

Cuando se confirmó que efectivamente se producía degradación de diurón en el cultivo en suspensión, se eligió biolita como soporte sólido para la biopelícula de *Variovorax* sp. SRS16. Dicho material presenta también el mejor comportamiento fluido-dinámico. Una vez introducido el inóculo de bacterias y el medio de cultivo, se empezaron a sacar las muestras y se hizo un seguimiento tanto del succinato como del diurón. En el primer mes, apenas se pudo apreciar una disminución de la concentración de diurón, mientras que sí se observó una degradación del succinato. Pasados dos meses, la concentración de diurón disminuyó casi hasta la mitad, lo que nos indicó que la biopelícula se estaba empezando a formar.

En la siguiente fase de la reacción, en la que se renovó todo el caldo de cultivo y se dejaron únicamente a las bacterias que formaban parte de la biopelícula creada sobre la biolita, se sacaron muestras durante 48 horas. Como se puede apreciar en la Figura 17, el pH medido al inicio de la reacción era de 7,54, y al final de la misma alcanzó el valor de 9,38. Por lo que en el interior del reactor se produjo una basificación del medio, posiblemente debida a los metabolitos. Respecto al succinato (Figura 18), podemos distinguir un descenso bastante considerable en torno a las 24 horas del inicio de la reacción, lo que nos informa sobre la importante degradación de este compuesto por parte de la biopelícula de *Variovorax* SRS16. Sin embargo, para el diurón (Figura 19) no se produce este descenso, sino todo lo contrario, la concentración se mantiene en torno a los niveles iniciales. Este hecho induce a pensar que la biopelícula no se ha desarrollado correctamente y no consigue degradar el herbicida.

Para tener una seguridad total, se procedió a extraer una muestra de biolita para su observación en el microscopio electrónico de barrido (Figuras 20 y 21). En la Figura 21, realizada a un mayor número de aumentos, se puede distinguir un pequeño grupo de bacterias que parece ser que están iniciando la formación del biofilm. Pero, en general, en las demás fotografías obtenidas (un ejemplo es la Figura 20), se pueden observar algunas bacterias sobre la superficie de la biolita, pero no se hallan agrupadas formando un biofilm, sino que se encuentran libres. La dificultad de formar el biofilm posiblemente sea debida a las elevadas fuerzas de rozamiento que se dan en el interior del reactor, como consecuencia de la turbulencia creada por la recirculación. Los efectos de cizalla impedirían por lo tanto el crecimiento de la biopelícula.

7. CONCLUSIONES

Una vez finalizado el proyecto, y teniendo siempre en cuenta los objetivos fijados, se llegó a las siguientes conclusiones:

Es posible la biodegradación de diurón por parte de un cultivo en suspensión de *Variovorax* sp. SRS16, en un reactor de columna de burbujeo con recirculación interna (airlift), lográndose así uno de los objetivos planteados al inicio del proyecto. Por tanto, se puede considerar esta biomagnificación, como un proceso de remediación de la contaminación de diurón en las aguas. Esta reacción alcanza unas velocidades de degradación bastante mayores que las que se han obtenido en otro tipo de ensayos, por lo que podría ser interesante seguir trabajando con este tipo de reactores para conseguir una más rápida degradación de diurón.

Respecto a la inmovilización de *Variovorax* sp. SRS16 sobre un soporte sólido, como es la biolita, se observó que no se llegó a alcanzar el segundo objetivo planteado, la formación de la biopelícula. Este hecho pudo ser debido al gran rozamiento entre las partículas de la biolita dentro del reactor. No obstante, se podría seguir el estudio buscando otras configuraciones de reactor que produzcan un menor rozamiento entre las partículas en suspensión.



8. BIBLIOGRAFÍA

- Ahangar, A.G.; Smernik, R.J.; Kookana, R.S.; Chittleborough, D.J. 2009. *The effect of solvent-conditioning on soil organic matter sorption affinity for diuron and phenanthrene*. Chemosphere, 76: 1062 – 1066.
- Attaway, H.H.; Camper, N.D.; Paynter M.J.B. 1981. *Anaerobic Microbial Degradation of Diuron by Pond sediment*. Pesticide Biochemistry and Physiology, 17: 96 – 101.
- Badawi, N.; Rønhede, S.; Olsson, S.; Kragelund, B.; Johnsen, A.; Jacobsen, O.; Aamand, J. 2009. *Metabolites of the phenylurea herbicides chlorotoluron, diuron, isoproturon and linuron produced by the soil fungus Mortierella sp.* Environmental Pollution, 154: 2806 – 2812.
- Farré, M.J.; Doménech, X.; Peral, J. 2006. *Assessment of photo-Fenton and biological treatment coupling for Diuron and Linuron removal from water*. Water Research, 40: 2533 – 2540.
- Field, J.; Reed, R.; Sawyer, T.; Griffith, S.; Wigington, P.J. 2003. *Diuron Occurrence and Distribution in Soil and Surface and Ground Water Associated with Grass Seed Production*. Journal of Environmental Quality, 32: 171 – 179.
- Giacomazzi, S.; Cochet, N. 2004. *Environmental impact of diuron transformation: a review*. Chemosphere, 56: 1021 – 1032.
- Nicolella, C.; van Loosdrecht, M.C.M.; Heijnen, J.J. 2000. *Wastewater treatment with particulate biofilm reactors*. Journal of Biotechnology, 80: 1 – 33.
- Oturan, N.; Trajkovska, S.; Oturan, M.; Couderchet, M.; Aaron, J.J. 2008. *Study of the toxicity of diuron and its metabolites formed in aqueous medium during application of the electrochemical advanced oxidation process "electro-Fenton"*. Chemosphere, 73: 1550 – 1556.
- Owsianiak, M.; Dechensne, A.; Binning, P.J.; Chambon, J.C.; Sørensen, S.R.; Smets, B.F. 2010. *Evaluation of Bioaugmentation with Entrapped Degrading Cells as a Soil Remediation Technology*. Environmental Science & Technology, 44: 7622 – 7627.
- Sharma, P.; Chopra, A.; Cameotra, S.S.; Suri, C.R. 2010. *Efficient biotransformation of herbicide diuron by bacterial strain Micrococcus sp. PS-1*. Biodegradation, 21: 979 – 987.
- Sharma, P.; Suri, C.R. 2010. *Biotransformation and biomonitoring of phenylurea herbicide diuron*. Bioresource Technology, 102: 3119 – 3125.
- Sørensen, S.R.; Rasmussen, J.; Jacobsen, C.S.; Jacobsen, O.S.; Juhler, R.K.; Aamand, J. 2005. *Elucidating the Key Member of a Linuron-Mineralizing Bacterial Community by PCR and Reverse Transcription-PCR Denaturing Gradient Gel Electrophoresis 16S rRNA Gene Fingerprinting and Cultivation*. Applied and Environmental Microbiology, 71: 4144 – 4148.
- Sørensen, S.R.; Albers, C.N.; Aamand, J. 2008. *Rapid Mineralization of the Phenylurea Herbicide Diuron by Variovorax sp. Strain SRS16 in Pure Culture and within a Two-Member Consortium*. Applied and Environmental Microbiology, 74: 2332 – 2340.
- Sørensen, S.R.; Simonsen, A.; Aamand, J. 2009. *Constitutive mineralization of low concentrations of the herbicide linuron by Variovorax sp. strain*. FEMS Microbiology Letters, 292: 291 – 296.
- Stasinakis, A.S.; Kotsifa, S.; Gatidou, G.; Mamais, D. 2009. *Diuron biodegradation in activated sludge batch reactors under aerobic and anoxic conditions*. Water Research, 43: 1471 – 1479.
- Wang, P.; Keller, A.A. 2009. *Sorption and desorption of atrazine and diuron onto water dispersible soil primary size fractions*. Water Research, 43: 1448 – 1456.
- Web del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino (www.marm.es).



proyectos
2011

editores
Universidad de Alcalá
Universidad Rey Juan Carlos

diseño y maquetación
base 12 diseño y comunicación

ISBN
978-84-695-1236-4