Segundo Jiménez Gómez
Académico de Número

SEMBLANZA



El día 19 de noviembre de 2004, en verdad aciago año, falleció el que fue insigne académico profesor Segundo Jiménez Gómez. Por amable deferencia de la Junta de Gobierno de esta Real Academia, me veo en la triste tesitura de dedicar unas pocas líneas a su recuerdo, pues el Presidente Doctor Reol en aquella junta y sin perjuicio de la necrológica recogida en los Anales quiere que en este texto que él impulsó junto al Profesor Doadrio Villarejo, figurase una semblanza de nuestro compañero fallecido a modo de homenaje y recuerdo.

Después de obtener la licenciatura en 1947 con las máximas calificaciones en la Facultad de Químicas de la Universidad Complutense de Madrid, su devenir académico se empieza a perfilar en los dominios de una ciencia y una herramienta científica, fundamentales ambas, la Química Analítica y el Análisis Químico bajo el Magisterio de Profesor Burriel Martí.

En esta primera etapa de preparación hay que incluir las becas que obtuvo por oposición del Instituto Nacional de Técnica Aeronáutica (INTA) en 1949, y del Instituto de Edafología del CSIC (1952). La formación básica así adquirida se manifiesta en los diez trabajos sobre análisis químico que publica en colaboración con los profesores Burriel Martí y Ángel Vian, y se va a proyectar sobre problemas muy concretos de las tres grandes áreas de conocimientos en que se movió: industria, agricultura y medio ambiente y sus implicaciones sanitarias, aspecto este último que siempre tuvo en cuenta, en particular desde su vinculación a esta Academia. Su formación se completa en 1963, graduándose en el prestigioso ICADE —a donde acudía a cursos nocturnos para compatibilizar la asistencia con su actividad profesional— que le confiere la clara impronta técnico-económica que había de informar todos sus trabajos.

En 1952 inicia sus actividades profesionales como Jefe de la División de la Investigación Industrial de AUXINI, S. A., renunciando al puesto de químico de la CAMPSA, que le correspondía por haber obtenido el número uno en las oposiciones. Su sobresaliente actividad en el área industrial le llevó a ser Vocal, primero, Presidente, después, de la Comisión número 30 de Industrias Químicas del Instituto de Racionalización y Normalización, así como profesor de Patentes y Propiedad Industrial en los Cursos de Organización y Gestión de la Fundación INI. Del valor de sus aportaciones al desarrollo de la industria española son una prueba las veintidós patentes sobre diversos procesos firmadas por él, independientemente o con sus colaboradores, por todo lo cual se le premió con la Encomienda de Alfonso X el Sabio.

Como reafirmación de su vocación agraria, desarrolla una fecunda actividad investigadora en el campo de la agroquímica, vitalizada desde 1952 como becario y colaborador honorario del Instituto de Edafología y Fisiología Vegetal del CSIC, al incorporarse al grupo de universitarios que con J. M.ª Albareda se dedicaba a estudios de edafología. Así pues, fueron muy numerosos los trabajos sobre agroquímica, salidos de su pluma, aparte de las tesis doctorales que dirigió.

Toda su actividad científica y profesional como agroquímico estuvo imbuida por una continua preocupación por el deterioro del medioambiente, por la contaminación de la atmósfera, del suelo y del agua, y sus efectos sobre el ecosistema y la sanidad. Aquí hay que citar sus magistrales trabajos sobre la acuciante problemática que crean los residuos inorgánicos y orgánicos en los países desarrollados. Por esta razón, ya en 1987 obtuvo el Primer Premio de Investigación Técnica sobre Medioambiente del Excmo. Ayuntamiento de Madrid y la Encomienda del Mérito Agrícola. Particularmente notables son sus aportaciones al uso de fertilizantes de liberación lenta que divulgó en su manual con este título en unión de un selecto elenco de colaboradores (Ed. Mundi

Prensa, Madrid, 1992), manual de obligada consulta para quienes quieran penetrar en las ventajas económicas y sanitarias que dicha utilización reporta. Asimismo llamaba la atención sobre las exigencias de un *desarrollo sostenible* en un mundo en que el crecimiento demográfico y el desarrollo económico dan como resultado un aumento de la demanda individual de bienes y servicios que están presionando de manera desaforada sobre los recursos limitados de que dispone la humanidad. De hecho, el desarrollo sostenible y el uso racional del suelo como respuesta a este fenómeno fueron objeto también de muchas de sus publicaciones. Y sobre ambos temas versaron sus dos últimas aportaciones documentales al quehacer magistral de esta Real Academia: *Desarrollo sostenible en la producción agroalimentaria* (Temas escogidos de Seguridad Alimentaria. Monografía XIII. 2003); y *La conservación del suelo, base de su sostenibilidad y soporte de salud* (Discurso en la Sesión Inaugural del Curso 2004-2005).

A sus profundos conocimientos científicos y tecnológicos, Segundo Jiménez unía una gran cultura y una singular preocupación por la ética ambiental, no era uno de estos «bárbaros especialistas» que fustigaba Unamuno; conocía muy bien las bases doctrinales y el desarrollo de la Química a través de las contribuciones de numerosos estudiosos de otras épocas, y más modernamente de científicos como Lavoisier o Liebig, cuyas aportaciones analizó en las sesiones que esta Real Academia dedicó a la conmemoración de los segundos centenarios de la muerte de ambos *(Anal. Real Acad. Farm. 60, 529-539, 1994,* y *Anal. Real Acad. Nac. Farm. 69, 563-577, 2003).*

En fin, en el año 1974 ingresa como Correspondiente de esta Real Academia, y en 1991 como Académico de Número a propuesta de los Académicos Profesores Vian Ortuño, Carpena Artés y Sanz Pedrero, ocupando el sillón 42. Desde su incorporación hasta su reciente fallecimiento, Segundo desarrolló una febril actividad en aras del prestigio y buen funcionamiento de esta Real Academia, de la que se puede decir con toda propiedad que hizo un segundo hogar, en particular desde que en 1993 se le eligió Tesorero. Proverbial era su pulcritud, detalle y clara precisión con que presentaba las cuentas y la ayuda que siempre prestó al Presidente Juan Manuel Reol para la mejora de las finanzas de esta Corporación.

No es extraño pues, que dos días antes de su ingreso urgente en el Sanatorio, el día 6 de noviembre, ya enfermo, asistiera a las reuniones preceptivas de la Academia y de la Sección 5.ª Salud Pública, Alimentación y Medio Ambiente, después de haber proyectado coordinar con el Doctor Doadrio Villarejo este ciclo de conferencias. Estos proyectos son una prueba palmaria de cómo hasta el mismo final de sus días quiso seguir aportando su trabajo, sus conocimientos y experiencia al cumplimiento de su vocación; al perfeccionamiento y divulgación de la ciencia y de la tecnología industrial y agraria en aras de la salud de las personas y de la prosperidad de España. Falleció el 19 de noviembre de 2004. Descanse en paz.

GASPAR GONZÁLEZ GONZÁLEZ
Académico de Número

Introducción

La dinamicidad intrínseca de la naturaleza. La tierra en el universo

FRANCISCO GONZÁLEZ DE POSADA



Es Ingeniero de Caminos, Canales y Puertos. Licenciado en Filosofía y Letras y en Ciencias Físicas. Catedrático de Física Aplicada de la E.T.S. de Arquitectura de la Universidad Politécnica de Madrid en el Departamento de Física e Instalaciones Aplicadas a la Edificación, el Urbanismo y el Medio Ambiente.

Académico de Número de la Real Academia Nacional de Medicina y Correspondiente de la de Farmacia.

La **Física**, según Ortega y Gasset[1], es[2] la **«ciencia por excelencia»,** la «esencia de la Modernidad», la «gran aportación de Europa a la historia de la humanidad», la «gloria de Occidente». Estos «piropos» los dedicó prioritariamente a la hoy considerada «Física clásica», digamos que la concebida y construida[3] de 1600 a 1900. Pero continuó sus alabanzas reconociendo a la Teoría de la Relatividad, en su ensayo «El sentido histórico de la teoría de Einstein»[4] como

---

[1] Considero de interés citar a Ortega, dado que en la Conmemoración en 2005 del Cincuentenario de su muerte, 1955, ha pasado prácticamente desapercibida su relación con la ciencia (véanse, por ejemplo, las actividades conmemorativas que pueden considerarse como más significativas: el Congreso de la Fundación José Ortega y Gasset y el ciclo de conferencias del Instituto de España). Sirva, pues, este trabajo también como modesto homenaje al filósofo español. Este primer párrafo puede considerarse como de alabanza a Ortega que, viviendo en su época, la de las revoluciones *en y desde* la Física, dedicó a ésta una atención relevante.

[2] ¿Tendríamos que decir: «fue»?

[3] Puede verse, entre otras obras de Ortega, *En torno a Galileo*.

[4] Apéndice de Ortega (1923): *El tema de nuestro tiempo*.

«el hecho intelectual de más alto rango que el presente puede ostentar» (1923). Posteriormente, con la *definitiva* revolución cuántica, que no entendió tan claramente, Ortega integró esta *novísima física* como base de la «crisis de fundamentos»[5] del conocimiento científico y de la elaboración filosófica.

La **Física** desempeña el papel de **ciencia fundamental y básica**: 1.º Por su **objeto,** el estudio del TODO —el Universo o Cosmos— y el estudio de «(casi) todo lo fundamental» —todavía hoy con los nombres de materia, energía, electricidad..., partículas elementales...—; y 2.º Por su **constitución** desde la Modernidad[6], que no sólo se fundamenta en *ideas o concepciones filosóficas* (cualitativas) sino que se expresa mediante *formulaciones matemáticas*, que permiten, por una parte, un acuerdo riguroso con lo ya conocido observacionalmente, y, por otra, el contraste con conocimientos futuros, mediante sus predicciones.

De aquí la importancia de **referir a la Física** de alguna manera, siempre que sea posible, **toda forma de conocimiento científico.**

En el siglo XX hemos asistido a unos acontecimientos intelectuales sorprendentes. Por lo que se refiere al ámbito de la Física, ciencia fundamental y básica, hemos expuesto en escritos anteriores[7] el contenido de las ***revoluciones relativista y cuántica,*** prestando atención prioritaria a lo que denominamos ***horizontes abiertos*** por estas revoluciones.

Las *revoluciones* y muchos de esos *horizontes* surgieron directamente de los problemas que planteaba el conocimiento y el estudio del Universo, de modo que unas y otros fundamentan la visión cosmológica actual.

Además, a mi juicio, estas *revoluciones* determinaron, y no sólo condicionaron, y de modo *fundante*, la *metafísica* de Zubiri[8], que, por otra parte, en tanto que *meta-física*, es también la única *metafísica* propiamente existente en la actualidad.

---

[5] Puede verse GONZÁLEZ DE POSADA, F. (2005); «Ortega ante la Teoría de la Relatividad». Limbo, núm. 22, pp. 9-21, en *Teorema*, XXIV/3.

[6] Modernidad: etapa histórica del pensamiento que puede considerarse que surge con Galileo, en torno a 1600, y concluye con Einstein, en torno a 1900. SE verá más adelante con cierto detalle.

[7] Con carácter general: GONZÁLEZ DE POSADA, F. (2001): *La Física del siglo XX en la Metafísica de Zubiri.* Madrid: Instituto de España; y (2002): «Las revoluciones conceptuales acerca de la Naturaleza impuestas por la Física del siglo XX». *Anales de la Real Academia Nacional de Medicina*, CXIX, 1.º, pp. 21-39.

Específicos de la Relatividad: GONZÁLEZ DE POSADA, F. (2005a): *En torno a Einstein. La teoría de la relatividad y el pensamiento español en 1923.* Écija: Real Academia de Ciencias, Bellas Artes y Buenas Letras «Luis Vélez de Guevara»; (2005b): «Horizontes abiertos por las Teorías de la Relatividad de Einstein», en *Teorema*, XXIV/2, pp. 83-90; (2005c): «El impacto de Einstein en el joven Zubiri (1923)». Limbo, núm. 22, pp. 35-40, en *Teorema*, XXIV/3; y (2005d): *Einstein: 100 años de relatividad. Ideas fundamentales para las ciencias farmacéuticas.* Real Academia Nacional de Farmacia (pendiente de publicación).

[8] GONZÁLEZ DE POSADA, F. (2001): *La Física del siglo XX en la Metafísica de Zubiri*. Madrid: Instituto de España.

El presente artículo se construye a la luz de dichas *revoluciones* y en el marco consecuente de los *horizontes abiertos* por ellas, teniendo en cuenta anteriores trabajos de cosmología[9] que se integran parcial y adecuadamente en éste. Se destacan las ideas fundamentales —en debate dialogado con Zubiri— que inundaron, desde la Relatividad, el pensamiento científico y filosófico del siglo XX y bajo cuyo imperio desarrollamos hoy (casi) toda tarea intelectual científica.

El contenido de este ensayo introductorio del libro que el lector tiene en sus manos se organiza de la siguiente manera:

Primera Parte. El plano de la **Física** —en su estricta concepción científica y expresión filosófica— que incide de manera determinante en el estudio de la Tierra.

Segunda Parte. El **Universo** en tanto que *la* Realidad cósmica, desde su caracterización filosófica —emergencia, estructura, respectividad, dinamicidad, finitud— a su descripción física actual.

Tercera Parte. La **Tierra:** su descripción científica a la luz de su caracterización metafísica: emergencia, estructura, respectividad intrínseca y extrínseca, y dinamicidad.

Y unas *consideraciones finales*, con objeto de relacionar sintética pero intensivamente este ensayo introductorio con el cuerpo del libro, cuerpo que es lo importante y al que se pretende que sirva esta introducción como marco.

PRIMERA PARTE

IDEAS FUNDAMENTALES DEL PENSAMIENTO CIENTÍFICO-FILOSÓFICO

1. En torno a la Física

Esta Primera Parte se centra en el ámbito de los Fundamentos de Física, a la luz de la consideración de que la Física ha inundado prácticamente todo el pensamiento científico y filosófico.

Universo, Cosmos y Naturaleza, aquí y ahora, son términos lingüísticos sinónimos. La Cosmología, ámbito del saber que estudia el Cosmos, en la actualidad es «parte de la Física». Por ello debe recordarse (quizá mejor, establecerse) **qué**

---

[9] González de Posada, F. (1994): *Cosmología: Física, Filosofía, Religión*. Tenerife: Universidad de La Laguna; y (1998): *Consideraciones de naturaleza prioritariamente física en torno a la protección y prevención de los riesgos de la vida de la especie humana en un contexto cosmológico: Arquitectura e Ingeniería sanitarias*. Madrid: Real Academia Nacional de Medicina. De este último especialmente la Primera Parte: «Cosmos, Tierra, Vida, Especie humana».

es la Física, en qué consiste la Física, qué tipo de conocimiento ofrece la Física. He aquí mi punto de vista sobre esta problemática cuestión.

La Física *es,* en primer lugar y sobre todo, una *representación* de la Naturaleza (Realidad física total, Cosmos, Universo), representación caracterizada, entre otras, por las siguientes notas fundamentales: parcialidad, idealidad, matematicidad e historicidad.

Primera: *parcialidad*. La Física es, de hecho, un conjunto finito de teorías físicas tales que cada una de ellas se refiere a un objeto parcial o a un fenómeno o conjunto de fenómenos concretos. Cada teoría física es una representación parcial del Universo (de «cosas» y/o «relaciones» y/o «acaecimientos»).

Segunda: *idealidad*. Una teoría física produce, construye, inventa un conjunto de conceptos y de leyes que se articulan en la teoría. En consecuencia, los entes de la Física son creaciones mentales. Pero a continuación, y con énfasis, hay que decir que no son *puras creaciones mentales*; todo concepto y toda ley han de adaptarse, adecuarse a la realidad y no al revés.

Tercera: *matematicidad*. Los conceptos y las leyes de la Física se caracterizan no sólo epistémica o cualitativamente, sino también y sobre todo, matemáticamente. Topología, álgebra, geometría, análisis, etc., son medios instrumentales inexcusables para la construcción de las teorías físicas; así éstas adquieren el carácter abstracto formal matemático que le dan el más sustantivo de sus sentidos.

Cuarta: *historicidad*. (A la luz, cuando menos, de la experiencia histórica puede afirmarse que) no hay verdad definitiva en la Física, ni conceptual ni legaliforme; la verdad de la física es siempre limitada, está permanentemente a la espera de una mejor adecuación a la realidad. Los conceptos primarios que utiliza deben caracterizarse «tanto como se puedan, lo mejor que se pueda cada tanto» [10], pero con conciencia de que serán mejorados y/o sustituidos y/o integrados por/en otros mejores y más completos. La dinámica de la producción histórico-científica de estos conceptos primarios y leyes fundamentales de las teorías físicas reside en dos aspectos básicos: a) la *racionalidad experimental*, esencia de la Física; y b) complementariamente, en la *capacidad de abstracción*. Siempre están en evolución, todo momento (y así, por ejemplo, debe considerarse el actual) es sólo una etapa de esta historia.

La Física también *es* conocimiento con una *referencia* en la Naturaleza, referencia que se construye con un *trasfondo filosófico* y otro *trasfondo matemático*. Por eso carece de sentido —resultaría vacía— sin Filosofía y/o sin Matemática. La primera no siempre la valoran y aceptan los físicos, aunque la Física no pueda prescindir de ella (salvo aparentemente en manifestaciones verbales explícitas carentes de fundamento de algunos físicos); la segunda, demasiadas veces, por su exquisita precisión, se la adora y en demasiadas ocasiones la Física

[10] Expresión que intento difundir como plasmación docente de la dificultad filosófica y científica de los conceptos primarios.

(algunas partes) queda esclava de, o anclada a, la Matemática, y demasiadas otras se pierde con ella; esto suele ocurrir cuando se olvida de la Matemática su condición de medio o instrumento formal necesario y se considera, desde la Física y para la Física, incluso como «verdad física».

El caso de la *Cosmología física* se presenta en este panorama como singular: los físicos cosmólogos, en creciente proporción, no desprecian los supuestos filosóficos, las implicaciones filosóficas y las consecuencias filosóficas, sino que más bien los atienden. Diríamos que, no en vano la Cosmología ha sido una disciplina detraída demasiado recientemente por la Física de su encuadre tradicional histórico en la Filosofía.

A modo de nota complementaria de lo anterior e introductoria de los epígrafes siguientes, debo señalar que con frecuencia utilizo los términos «noción», «idea» y «concepto» con acepciones netamente distinguibles y diferenciadoras. En síntesis apretada: «noción» supone cierta vaguedad e incompletud, «idea» expresa suficiente precisión (sólo) cualitativa, y «concepto» implica la claridad y la exactitud debidas a su formalización matemática. Así, a continuación se utiliza con profusión el vocablo «idea» de modo apropiado, como aceptablemente caracterizable y caracterizado aunque no sea matematizable y/o no esté matematizado. Correcta caracterización filosófica por no tratarse de conceptos propiamente matemáticos, aunque casi todos ellos, de maneras diversas, aunque de ordinario sólo en aspectos más concretos, tengan manifestaciones y expresiones matemáticas.

A) IDEAS QUE «HABÍAN DOMINADO» EL PENSAMIENTO DE LA MODERNIDAD

La **Modernidad,** o Edad Moderna intelectual o del pensamiento, se inicia, de acuerdo con Ortega, *En torno a Galileo*, a partir de 1600. Las figuras relevantes de este alborear serían Galileo, Kepler y Descartes. La cumbre de esta época se alcanzaría con Newton, mediante su *Philosophiae Naturalis Principia Mathematica* (1687). El siglo XVIII sería el de la verificación física de las ideas del científico inglés con un importante desarrollo matemático y la integración de lo fundamental de su pensamiento en la filosofía de la Ilustración y particularmente en la de Kant. Científicamente las teorías de Newton —Dinámica y Gravitación— quedarían absolutamente establecidas en el tratado de *Mecánica Celeste* de Laplace (en el período intersecular XVIII-XIX) y su consagración general puede situarse con el puesto de honor que Augusto Comte, considerado pionero de la sociología y estandarte del positivismo, le concede en la clasificación de las ciencias (mejor, de los *saberes)*. El siglo XIX sería de creación y desarrollo de las teorías físicas «experimentales» (Termología, Electricidad, Magnetismo, Óptica, etc.). Y en torno a 1900 este edificio intelectual construido sobre la Física de la Modernidad haría aguas.

Las *ideas* básicas que caracterizan esta época del pensamiento se seleccionan y organizan en próximos apartados de tal modo que sea fácil su contraste con las *ideas* caracterizadoras de la **Postmodernidad,** las que dominan el pensamiento actual, que se expondrán en el parágrafo siguiente.

Se expresan de manera concisa y, en consecuencia, carentes —y no sólo insuficientes— de matices; no obstante, se considera que se expresan con suficiente claridad, y sobre todo nítidas para la tarea de la distinción con las hoy establecidas.

Conviene reiterar que se consideran «ideas», por tanto, de suficiente plenitud filosófica, pero afirmando que no son conceptos matemáticos.

2. Idea de *simplicidad*

La realidad, tanto en su carácter de *ultimidad* como en su carácter de *primordialidad*, «tenía que ser simple» ya que en caso contrario esas características pertenecerían a los ingredientes de la «composición». Lo *radicalmente último* (que sería, además, *lo más pequeño* en el caso de la constitución de la materia; y sólo último en el caso de tiempo y espacio) «tenía que ser simple»; y esto radicalmente último era a su vez *radicalmente primordial*, generador(es) de todo lo demás.

En el orden de la constitución lo simple contrastaba con (y se integraba en) lo compuesto y lo complejo.

Esta idea de *simplicidad* implicaba también *uniformidad* u *homogeneidad*.

Y para resaltar su sentido en el contraste con las ideas imperantes en nuestra época —valga como anticipo—, simple quiere decir también: *a)* no estructura; y *b)* no respectividad intrínseca.

3. Idea de *estaticidad*

El *ser,* el *ente,* la *categoría,* el *cuerpo* (diferentes expresiones filosóficas y científicas de los *objetos)* se consideraban estáticos. Y, por supuesto, en primer lugar, el Universo era estático. No con la acepción mecánica de quietud, de carencia de movimiento, sino con el sentido filosófico de permanencia, de identidad a sí mismo, de ser igual a sí mismo siempre, aunque hubiera movimientos (de traslación y/o rotación).

Los astros aunque en la Modernidad ya no fueran *perfectos* (la perfección de «los cielos» era idea dominante en el pensamiento medieval escolástico) sí eran *mismos*. [Por ejemplo, al introducir Newton el magistral concepto de *cantidad de materia o masa* (*inercial,* primero, y *gravitatoria*, después) de un cuerpo, ésta tenía la propiedad de ser intrínseca a él, idéntica a sí mismo siempre].

En el sentido del contraste con las ideas imperantes en nuestra época, quiere decir: *a)* no emergencia (están ahí desde siempre o desde un instante de generalizada creación); y *b)* no dinamicidad.

4. Idea de *continuidad*

La apariencia de continuidad del aire y del agua había conducido desde la antigüedad a determinar la continuidad del espacio. Y también se impuso la continuidad en el tiempo. Y desde ahí... se inundó toda la Física de esta supuesta característica de la Naturaleza.

El espacio y el tiempo, continuos, tuvieron, para Newton, carácter *absoluto*, *verdadero* y *matemático*.

El imperio de la realidad concebida como continua (espacio, tiempo, materia) condujo, por una parte, a la creación de los *números reales* (¡números reales!, ¡qué barbaridad!) con su progresiva constitución como estructura algebraica de grupo abeliano, de cuerpo conmutativo y de espacio vectorial sobre sí mismo como dominio de operadores; por otra, a la teoría de las funciones reales de variable(s) real(es) con el desarrollo del cálculo diferencial e integral en los siglos XVIII y XIX; y a nuestros efectos más directos a la **continuidad** (expresada con la exactitud de la matemática) **de todas las magnitudes físicas,** de todas sin excepción, tanto las *caracterizadoras* de las «cosas» como las *descriptoras* de los «acaecimientos»[11].

5. Idea de determinismo

Los «acaecimientos» de la Naturaleza (movimiento, proceso termodinámico, desplazamiento de una onda, etc.) «han de ser» normativos o legaliformes (no milagrosos, aunque puedan ser mistéricos o ignotos). «La Naturaleza está escrita en lenguaje matemático» fue el primer principio de la creencia científica moderna establecido por Galileo. Pero a éste se añadió un segundo principio, el de su concepción determinista —*determinismo causal*— que en su expresión matemática para los fenómenos físicos significó su concreción en *relaciones de proporcionalidad* (progresivamente más generalizada) *efecto(s)-causa(s)*.

Estas cuatro ideas —simplicidad, estaticidad, continuidad y determinismo— dominan toda la Física Moderna, y desde ella —«ciencia por excelencia»— todo el pensamiento moderno. Hoy persisten o sobreviven en las Teorías de la Relatividad las ideas de continuidad y determinismo pero de modo que no determinan el pensamiento actual. En éste han sido sustituidas prioritaria y respec-

[11] González de Posada, F. (1994): *Teoría Dimensional.* Madrid: Publicaciones de la E.T.S. Arquitectura, Universidad Politécnica de Madrid.

tivamente por las de discontinuidad y de probabilismo y/o indeterminación. No obstante, aunque no determinan sí condicionan la visión cosmológica actual como dominantes con otras del trasfondo intelectual vigente, que expondremos a continuación.

B) IDEAS QUE «DOMINAN» EL PENSAMIENTO ACTUAL [12]

Los *horizontes abiertos* por las Teorías de la Relatividad han sido numerosos, de modo que las *revoluciones intelectuales* causantes de aquéllos han modificado radicalmente el pensamiento científico y filosófico en el siglo XX.

Cinco son las ideas fundamentales que creo pueden destacarse del pensamiento de Einstein que **trascienden de la física a todo el pensamiento científico y filosófico.** Son las siguientes: *estructura, respectividad, dinamicidad, emergencia* y *finitud.*

Estas ideas (¡las ideas conceptuales o filosóficas!... no sus concreciones científicas que constituyen problemas diferentes) fueron rubricadas posteriormente por la Física Cuántica. (Dejo al margen las ideas que ésta introduce independientemente —distintas— de las Teorías de la Relatividad). Es decir, son ideas aportadas, en primer lugar, por la Relatividad y después por las sucesivas «nuevas físicas» (Atómica, Nuclear y de Partículas Elementales o Altas Energías), que han quedado *establecidas*, ¿definitivamente?, para todas las ciencias de la Naturaleza y para todo el pensamiento científico y filosófico.

Aquí tanto la selección y relación como el contenido de estas ideas que «dominan» el pensamiento actual se orientan prioritariamente al Universo.

6. Idea de *estructura*

El **Universo de Einstein** —a la luz de la concepción de las «categorías fundamentales» dominantes en el pensamiento occidental desde Aristóteles, pasando especialmente por Newton, hasta Einstein— no es el conjunto de elementos disjuntos espacio-tiempo-materia, sino un **sistema estructural** caracterizado por unas **propiedades:** la **espacialidad,** la **temporeidad** y la **materidad,** cuestión harto diferente. El tiempo, el espacio y la materia propiamente no existen: no son entidades constitutivas *per se,* no son entidades ni últimas ni primordiales, ni tampoco independientes entre sí; son meras adjetivaciones, «notas de», características o propiedades del Universo. De modo que desde el punto de vista de la concepción de Einstein puede decirse que el **Universo es espacioso,** el **Universo es tempóreo,** el **Universo es matérico,** el **Universo es energético,** etc... (además de ser, como veremos más adelante, intrínsecamente

[12] Este parágrafo se toma básicamente de GONZÁLEZ DE POSADA, F. (2005): *Einstein: 100 años de relatividad. Ideas fundamentales para las ciencias farmacéuticas.* Real Academia Nacional de Farmacia.

dinámico). Y siendo propiedades no tienen prelación sobre **el sistema,** que **es lo primario,** sino que sólo son «propiedades de» el sistema, sin posibilidad de existencia física o real fuera del sistema que conjuntamente caracterizan: el Universo se presenta así como única Realidad —con mayúscula— física (realmente) existente.

El **Universo de Einstein** —desde la perspectiva de los astros— tampoco es un conjunto de cuerpos (noción de Newton) independientes, elementos yuxtapuestos, sometidos a unas determinadas leyes; por ejemplo, en el mundo clásico, las de la gravitación universal newtoniana. El Universo es la Realidad —insisto en el «con mayúscula»— única [más adelante veremos que en ella se suceden diferentes configuraciones cada una de las cuales continúa siendo dinámica (nace, vive, muere)]. Realidad que es **estructura** (a continuación con palabras clásicas) **de entidades, propiedades e interrelaciones** [que son todas cambiantes; ejemplos de momentos distintos de la historia del Universo: período inicial (supuesto) de unificación de las fuerzas, luz confinada por la materia, aparición de protogalaxias, etc.].

La Física Cuántica, por una parte, como marco teórico, y los descubrimientos observacionales, por otra, han ido confirmando y ampliando esta perspectiva estructural, han ido enseñando también, y quizá con más claridad, que toda *realidad* —ahora con minúscula— es un sistema estructurado.

Pues bien, tanto en Química como en Biología Celular, Genética, Biología Molecular, Bioquímica, Genómica o Proteómica, desde esta visión estructural preexistente se ha ido confirmando que el punto de vista establecido en la física es generalizable a toda la ciencia. En síntesis, **todo lo existente es primaria y constitutivamente *estructura*,** o si se quiere más brutalmente **no existe nada en la Naturaleza que sea simple, homogéneo o uniforme**. El ser estructura de «propiedades de la estructura», supone que el *sistema* estructural es lo primario; no es lo que primeramente puede comprenderse como estar compuesto de otros elementos, ya que propiamente no existen estos otros elementos en tanto que reales integrantes del sistema.

7. Idea de *respectividad*

Las **consecuencias formales matemáticas** deducidas por Einstein de sus postulados pusieron de manifiesto la **respectividad,** o **interdependencia,** o **relacionalidad,** primero entre las métricas de espacio y tiempo (longitudes y duraciones), después entre las magnitudes masa y velocidad, a continuación entre masa y energía, y finalmente entre todas las «categorías fundamentales» que —desde Aristóteles— integraban —a juicio de los hombres— el Universo: tiempo, espacio, materia (-energía), de acuerdo con la expresión [13] de las *ecuaciones de campo*

[13] La expresión conjunta establecida como *clásica,* sin el *término cosmológico,* que representa un sistema de diez ecuaciones diferenciales en derivadas parciales con las diez incógnitas, potenciales

$$\underbrace{R_{ij} - \frac{1}{2} g_{ij} R}_{Efecto} = K \underbrace{T_{ij}}_{Causa}$$

Einstein muestra que las antiguas «categorías fundamentales» de espacio, tiempo y materia-energía no son existires independientes sino que son precisamente «propiedades de» el Universo. Además, no sólo no son independientes sino que ni siquiera son independizables *realmente* (aunque lo fueran intelectualmente: filosófica y matemáticamente) ya que son interdependientes, son mutuamente respectivas, están relacionadas por dichas ecuaciones. La realidad muestra que las «propiedades» son «propiedades de» el sistema, cuya unitariedad precede lógica y constitutivamente a las propiedades.

Las *nuevas físicas* fueron acumulando sabiduría de la misma naturaleza, de modo que toda realidad se concibe como un sistema de notas mutuamente respectivas, en todas las escalas, en todos los ámbitos de realidad.

8. Idea de *dinamicidad*

El Universo de Einstein, como todo su pensamiento, está dominado implícita y a veces explícitamente por la idea de que el «acaecimiento» (movimiento, proceso, transformación...) precede a la «cosa» (cuerpo, sistema, objeto...).

La aportación del físico alemán que he considerado primordial ha sido la inversión de los términos del presupuesto básico que ha inundado toda la historia preeinsteiniana desde Aristóteles. La clásica concepción de que «la materia precede al fenómeno» ha sido sustituida por la revolucionaria de que —en el plano filosófico— **«el fenómeno precede a la materia»,** o bien —en los planos de las diferentes teorías físicas— de que el movimiento precede al móvil, la transformación al sistema termodinámico, etc., etc.

El Universo ha dejado de ser tanto la yuxtaposición de las (supuestas tradicionalmente) entidades tiempo, espacio, materia, como un conjunto de objetos cósmicos tales que independientemente siguen unas leyes generales (que respetan sus independencias constitutivas). El Universo es **«un único TODO total en funcionamiento»** (repito con reiteración poniendo énfasis especial en las aparentes aberraciones lingüísticas del «un único» y del «TODO total»). Establece Einstein la **dinamicidad de/en el Universo** como característica fundamental de su concepción que se expresa en las anteriores *ecuaciones de campo* en tanto que manifestación (matemática) de la evolución del Universo, de la estructura referencial (matemática) espacio-temporal del Cosmos como consecuencia de la cantidad de impulsión-energía (expresado todo como funciones tensoriales en un espacio riemanniano de dimensión 4).

---

gravitacionales, $g_{ij}(u^k)$, en el espacio tetradimensional riemanniano de Einstein, a falta de establecer unas condiciones de contorno espacio-temporales.

Por primera vez en la historia de la humanidad la Postmodernidad concibe un **Universo dinámico,** que deja de ser «lo que es»/«como es» para hacerse otro; tras cada (hipotético) *ser*, un inmediato *no-ser*, constituible en un *alter*. En todas las cosmologías anteriores —fueren de naturaleza prioritariamente mítica, religiosa, filosófica o científica (por ejemplo, la newtoniana)— el Universo era filosóficamente estático (en general, igual a sí mismo siempre). Bajo este presupuesto histórico, en su fiel seguimiento, el propio Einstein «falseó» sus ecuaciones, que ofrecían un Universo *dinámico*, introduciendo un término cosmológico que lo hacía *estático*; confesaría años más tarde —cuando por vía observacional se demostraba la dinamicidad— que esto había significado el mayor error de su vida.

En resumen: el TODO real es dinámico, la **Realidad es intrínsecamente dinámica,** y en el Universo y con él todo lo real —toda realidad— es dinámico.

Esta idea de dinamicidad, ya con no tanta claridad, sería expresada también en y desde las *nuevas físicas*: primero, la Física Atómica, después la Física Nuclear, y finalmente la Física de Partículas Elementales o de Altas Energías.

Y con ello, trascendiendo la Física, inundando la Filosofía y el pensamiento científico todo, se ha introducido en la Química y en la Biología: la vida, el *philum*, el genoma...

9. Idea de *emergencia*

El Universo que explican las *ecuaciones de campo* de Einstein sin el término cosmológico ofrece soluciones integrales que muestran que debe existir una *singularidad en el origen* como condición de contorno temporal: el Universo sería así fruto de una *emergencia*. Concepciones complementarias posteriores y datos observacionales invitaron a la consideración del *big bang* (gran explosión) como instante inicial (o expresión del momento creacional).

Así, **el Universo, la Realidad, es emergente;** y, no se olvide... emerge como estructura.

Y en él, como muestran las *nuevas físicas* y las ciencias biológicas, toda realidad es emergente a partir de estructuras preexistentes.

10. Idea de *finitud*

Si en la descripción, ciertamente muy somera, de las ideas precedentes transparece de diferentes maneras el pensamiento de Zubiri, en ésta lo hará el de Ortega, de quien reproducimos unos párrafos del ensayo «El sentido histórico de la teoría de Einstein»[14].

[14] Ortega y Gasset, J. (1923): «El sentido histórico de la teoría de Einstein», Apéndice de *El tema de nuestro tiempo*.

La tendencia al finitismo es la «más clara y patente».

«Mientras el pasado utopista lo arreglaba todo recurriendo al infinito en el espacio y en el tiempo, la física de Einstein —y la matemática reciente de Brouwer y Weyl, lo mismo— acota el Universo. El mundo de Einstein tiene curvatura, y, por tanto, es cerrado y finito. Por todas partes, en el sistema de Einstein se persigue al infinito. Así, por ejemplo, queda suprimida la posibilidad de velocidades infinitas [...] Súbitamente, en la física y en la matemática, empieza una marcada preferencia por lo finito y un gran desamor a lo infinito [...] Hay evidentemente en esta propensión al finitismo una clara voluntad de limitación».

SEGUNDA PARTE

VISIÓN COSMOLÓGICA ACTUAL

11. En torno a la Cosmología y la Física

En la Primera Parte se han organizado y caracterizado sintéticamente las *ideas fundamentales* que dominan el pensamiento científico y filosófico en la Modernidad y en la actualidad, con una cierta orientación hacia el Universo.

En esta Segunda Parte nos enfrentamos directamente con el Universo, desde la Cosmología, donde se concretan aquellas *ideas fundamentales* para la *referencia* al Cosmos y como *representación* de éste, representación histórica dada su dinamicidad, en dos grandes parágrafos: a) *Cosmología filosófica*: la caracterización metafísica; y b) *Cosmología física*: el Universo en su evolución.

Puede decirse que la *Cosmología* es el ámbito del saber que estudia el Universo como constituido por «un todo único total»: su origen, evolución, configuración(es) y destino. Puede decirse también que presenta dos caras: la *Cosmología filosófica* o, si se quiere, Metafísica del Cosmos, en tanto que Filosofía de la Naturaleza; y la *Cosmología física*, ciencia que ha ido adquiriendo progresiva importancia desde que la formulación de la Relatividad General de Einstein (1915) comenzó a expresarse en unos primeros modelos cosmológicos, aún bajo la consideración einsteiniana de «Universo estático», es decir, siempre idéntico a sí mismo en sus grandes parámetros. Descubrimiento básico para la modificación de la visión cosmológica generalizada de «Universo estático» hasta el propio Einstein, como acabo de recordar, fue la interpretación de Hubble (1927-29) del corrimiento hacia el rojo de los espectros de la luz procedente de las galaxias como «expansión del Universo», introduciéndose así la *dinamicidad intrínseca* en el funcionamiento del Cosmos.

La *Cosmología física* dispone en la actualidad de un *modelo estándar*, denominado del «*Big-Bang* caliente» o de la «Gran explosión», construido pri-

mordialmente a partir de ideas de Friedmann, Hubble y Gamow. Puede considerarse como un modelo consensuado que explica de manera satisfactoria los principales datos de la observación y de la experimentación y que además es capaz de asumir diferentes teorías físicas. Permanecen misterios, ignorancias, inexplicaciones.

Desde otra perspectiva, la *Cosmología física* puede considerarse como una «parte de la Física» integradora de diversas teorías físicas; o más bien como una «concepción» del Cosmos (su objeto de estudio). No es sustantivamente *una* teoría física en el sentido propio ya establecido para este concepto de teoría física [15].

A) COSMOLOGÍA FILOSÓFICA ACTUAL

12. Caracterización metafísica del Cosmos

La perspectiva metafísica de Zubiri, en concreto de su *Estructura dinámica de la realidad*, transparece en este parágrafo que ha resultado una *extensión* del pensamiento zubiriano, a modo de *ejercicio de aplicación* de su concepción de realidad.

La concepción actual que la Física, la *Cosmología física*, tiene del Cosmos lo caracteriza metafísicamente, a mi modo de ver, y siguiendo prioritariamente la senda sugerida por Zubiri [16], mediante las cuatro notas capitales que integran la expresión siguiente: El Universo es la Realidad por antonomasia, emergente, estructural y dinámica.

Primera. *Realidad* por antonomasia

El Universo en tanto que «un único todo» es la «realidad total», *la* Realidad (con mayúsculas), que a su vez está constituida por *realidades* (con minúsculas) integradas en él en respectividad unas con otras. La(s) *realidad(es)* —toda *realidad*— no responde(n) a ninguna de las categorías filosóficas clásicas: no es sustancia, no es ente, no es ser, no es objeto, no es sujeto.

Segunda. *Producto de una emergencia*

El Cosmos, «todo lo existente», surgió como emergente. También, en él, toda realidad ha sido y es emergente. El acto de emergencia primicial del Todo

[15] González de Posada, F. (1994): *Breviario de Teoría Dimensional*. Universidad Politécnica de Madrid.

[16] Zubiri, X. (1989): *Estructura dinámica de la realidad*. Madrid: Alianza.

se denomina *Big-Bang* o «gran explosión». Heredado del lenguaje matemático se dice que ese «instante inicial» fue una *singularidad,* un «momento» (en los dobles sentidos temporal y filosófico) en el que todo o el Todo (o nada o la Nada, que desde la sabiduría/ignorancia presentes es prácticamente lo mismo) era diferente. Lo substratual, anterior, de lo que ha emergido el Universo —materia, energía, espacio, tiempo, leyes, constantes, etc.— constituye, al menos hasta el presente, un misterio. Emerge, ¡qué duda cabe!, y lo hace bien desde la Nada bien desde otra realidad de naturaleza ignota. El Cosmos —«nuestro Universo»— surge pues de forma emergente. Metafóricamente podría decirse que a partir de un punto y a modo de un puñado de Dios que se abre. De ninguna manera es estático en sus grandes líneas, idéntico a sí mismo, creado de una vez por todas como algo cósmico al modo de la taxiz aristotélica (ordenamiento propio).

Tercera. *Estructuralidad*

La realidad, «de suyo» —que decía Zubiri—, por sí misma y en sí misma, es estructural, no sustancial, no objetual, no subjetual. Es una *sustantividad* de notas constitutivas que la codeterminan como estructura. El Cosmos, desde las *nuevas físicas* del siglo XX —Relatividad Especial, Relatividad General, Física Atómica, Física Nuclear, Física de Partículas Elementales o de Altas Energías—, es una estructura. Utilizando los términos lingüísticos clásicos de la Física, las notas fundamentales de esta estructura se denominan espacio, tiempo, materia y energía; no son cuatro realidades independientes sino cuatro notas constitutivas del Cosmos —con otras concepciones distintas, agregadas en mutua respectividad—. Estas notas constitutivas del Cosmos son las clásicas *categorías fundamentales* (tiempo, espacio, materia) de la Física de todos los tiempos hasta el siglo XIX; en la Física actual estas categorías, con la energía, forman una tétrada cada uno de cuyos polos puede entenderse por sus relaciones con los otros y por las relaciones entre estos otros. La Cosmología, pues, puede considerarse también como ciencia de las relaciones espacio-tiempo-materia-energía.

Cuarta. *Dinamicidad intrínseca*

La visión predominante de la Física del siglo XX establece que toda realidad es en sí misma y por sí misma dinámica. En síntesis dirá Zubiri que «toda realidad "de suyo" "da de sí"». La dinamicidad consiste en dar de sí por sí en respectividad.

El Cosmos, por sí mismo y desde sí mismo, es esencialmente dinámico, intrínseca y constitutivamente dinámico. El dinamismo no consiste sólo en movimiento; éste es el más elemental o sencillo de los dinamismos. El dinamismo de la variación de lugar es sólo el dinamismo básico. La dinamicidad intrín-

seca supone también la transformación de la realidad y en ella la alteración. En su dinamicidad, el Cosmos va produciendo otros *alter,* otras realidades, nuevas configuraciones.

Todo lo existente, desde lo más efímero hasta lo considerado más estable, tiene una «vida media», una duración, una vida; nada permanece indefinidamente. Hasta hace años se suponía que el protón era estable, hoy se sabe (se cree saber, con más precisión) que tiene una vida media muy larga, notablemente mayor que la edad estimada de «nuestro Universo»; hoy nada es estable (estático) sino que todo es esencialmente dinámico en sí y por sí mismo. El Cosmos sobre todo, en tanto que realidad por antonomasia, es constitutivamente dinámico.

Y esta dinamicidad le otorga el carácter más significativo de la visión cosmológica actual en contraste con todas las cosmovisiones precedentes.

Como resumen, puede aplicarse al Universo lo que Zubiri afirma para la realidad. De este modo construyo por sustitución las siguientes densas afirmaciones.

Una. El Universo como esencia es una estructura. Una estructura constitutiva, pero cuyos momentos y cuyos ingredientes de constitución son activos y dinámicos por sí mismos.

Dos. El Universo no es solamente lo que es actualmente; también está, en una o en otra forma, incurso en eso que de una manera más o menos vaga podemos llamar el devenir.

Y tres. El Universo es una estructura que «de suyo da de sí».

B) COSMOLOGÍA FÍSICA: NOTAS ACERCA DE LA HISTORIA, EL PRESENTE Y EL FUTURO DEL UNIVERSO

La visión cosmológica actual —modelo cosmológico— no sólo consiste en la (actualmente imposible [17]) descripción de la configuración presente del Universo sino que incluye especialmente una visión total de la historia del Cosmos que debe comprenderse previamente a dicha (hipotética) descripción, aunque sea sintéticamente.

[17] A medida que en el Universo nos distanciamos —alejamiento espacial— de la Tierra, nuestro «conocimiento» se refiere a instantes —alejamiento temporal— progresivamente más pretéritos.

13. La historia del Cosmos

13.1. *El origen del Universo: la «gran explosión»*

Una «gran explosión» no se sabe *de qué* sustantividad sustratual, ni *por qué* causas ni *cómo* tuvo lugar fenomenológicamente, produce el Universo emergente constituido por una «sopa indiferenciada de partículas», muy caliente y muy densa: ha surgido el Cosmos; es decir, materia y energía, sí, pero también el espacio y el tiempo. Hipótesis tan mistérica como plausible y coherente con el conocimiento de su evolución posterior. Parece conveniente destacar, no obstante, que la ignorancia de la Física sobre este tema es grande.

Desde una perspectiva matemática la explicación se hace más sencilla, el *Big-Bang* se entiende como una *singularidad* en la que densidad de materia y temperatura (y/o densidad de energía) tienden a infinito en el tiempo cero (instante inicial).

La Cosmología física de los primeros instantes del Universo y la Física de Partículas Elementales se encuentran con un objeto de estudio prácticamente común aunque sus perspectivas sean diferentes. Tanto que hoy, por una parte, la Física de Partículas es la que decide, a nuestros ojos humanos actuales, cómo era el Universo —es decir, cómo pudo ser— en sus primeras etapas y, por otra, las observaciones y descubrimientos astrofísicos delimitan mediante lo que se denominan «imposiciones cosmológicas» el ámbito de los modelos aceptables por esta rama de la Física.

13.2. *La evolución: una historia de expansión continua y generalizada*

En su dinamicidad, el «nuestro Universo» —y cada día se hace más necesario utilizar esta expresión— emergente en el *Big-Bang*, desde una perspectiva que podríamos denominar geométrica, se encuentra —esto afirma la Física— en un proceso de expansión desde su nacimiento, expansión que es continua en el tiempo y generalizada en el espacio. Esta relación con la categoría espacio se amplía mediante el *postulado cosmológico*.

Conviene recordar que se considera fundamento de la Cosmología física actual que el Universo a gran escala se caracteriza por las propiedades de homogeneidad e isotropía. Este *principio cosmológico de homogeneidad e isotropía* estipula que un observador situado en un cúmulo de galaxias determinado verá/concebirá que los demás cúmulos tienen las mismas características (distribución en el espacio, distribución de velocidades, composición, etc.) que las vistas/concebidas por cualquier otro observador situado en cualquier otro cúmulo de galaxias. Y mirase desde donde y hacia donde mirase no habría ninguna posición privilegiada para observar el Universo ni ninguna dirección especialmente relevante en él.

El crecimiento espacial continuo y generalizado del Universo desde el instante primicial supone básicamente, en un enfoque globalizador, y a la luz de magnitudes físicas consideradas fundamentales, lo siguiente:

a) Una disminución progresiva de la densidad de materia.

b) Una disminución progresiva de la densidad de energía.

c) Una disminución progresiva de la temperatura.

De estas tres magnitudes intensivas —densidad másica, densidad energética y temperatura— se habla de ordinario, y mucho. Pero hay una cuarta que introdujo a mediados del siglo XIX la Termodinámica, la entropía, que ha venido perdiendo protagonismo sometida a un olvido que podría denominarse en algún sentido *culpable* por aquello de su dificultad conceptual intrínseca, por sus relaciones no muy claras con el conjunto de las demás y por las consecuencias no suficientemente nítidas que con su auxilio se deducirían aplicadas a algunos de los modelos cosmológicos con extrapolación hacia el futuro; digamos simplemente que la entropía no está de moda, pero también que, de momento al menos, no puede desterrarse y que presenta una derivada de signo contrario; es decir:

d) Un aumento progresivo de la entropía del Universo.

Desde una perspectiva formal matemática la *ley de Hubble*, en la excepcional sencillez de su escritura clásica elemental, da cuenta de este proceso generalizado de expansión:

$$v = H\ d;$$

donde v es la velocidad con la que se separan dos galaxias situadas a distancia d y H es la *constante de Hubble,* de valor unos 15 km/s/millón de años-luz. Esta ley está en perfecto acuerdo con el *principio cosmológico de homogeneidad e isotropía*. Desde este punto de vista formalmente científico, en el Universo no hay centro, o bien, el centro está en todas partes; no hay posición privilegiada para observar el Universo ni para aplicar las leyes de la Física.

El tiempo transcurrido desde que las galaxias comenzaron a ponerse en movimiento puede estimarse como proporcional a la inversa de la *constante de Hubble*. Hoy se considera que el tiempo de vida del Universo desde el *Big-Bang* hasta el presente es de unos $13.800_{1}000.000$ de años.

Con respecto a la noción de espacio, y dado que he hablado de perspectiva geométrica, debe decirse que la visión relativista de la Física no sólo invita a hablar de, sino que obliga a hacerlo, que el Universo no está en el espacio sino más bien que *el Universo es espacioso*, cuestión bastante diferente. El espacio (mejor, la espaciosidad) lo crea el propio Universo en su expansión.

Por lo que respecta a la noción de tiempo, debería afirmarse análogamente que el Universo no está en el tiempo, sino más bien que el *Universo es tempóreo*. El tiempo lo creó el propio Universo.

En síntesis, a la luz de la Cosmología actual, espacio y tiempo no son realidades infraestructurales preexistentes, al menos lógicamente, al «Universo materia-energía» sino que son también, como la materia y la energía, elementos constituyentes del Universo. Espacio y tiempo (o bien espacio-tiempo) son notas constitutivas del Universo desde su emerger, no «algos» externos a él. Forman parte de las notas estructurales de la realidad cósmica.

Esta expansión hasta hoy continua y generalizada podría haber sido acelerada o desacelerada. De los datos observacionales del último lustro del siglo XX parece deducirse —contra lo creído a lo largo de los dos últimos tercios de dicho siglo— que se trata de *expansión acelerada*.

13.3. *Las sucesivas diferentes constituciones y diversas configuraciones*

En su evolución expansiva, el Universo no se ha limitado simplemente a crecer volumétricamente de modo que los parámetros fundamentales de la Física, considerándolos desde la perspectiva de magnitudes intensivas —densidad de materia, temperatura, densidad de energía— han disminuido sus valores progresivamente. El problema es de superior entidad: ha ido cambiando la constitución intrínseca del Universo de tal manera que puede considerarse que en su evolución ha ido adquiriendo sucesivas diferentes constituciones y diversas configuraciones, que manifiestan su esencial dinamicidad intrínseca no sólo expandiéndose «lo mismo» (que quedaría más distribuido, más disperso, sólo que con menor densidad) sino que «sorprendentemente» ha ido cambiando también cualitativamente: su constitución es de diferente naturaleza en distintas etapas de la evolución.

A título informativo, y sin mayores consideraciones, pueden exponerse algunos aspectos relativos a estas diferentes constituciones y diversas configuraciones, utilizando como referencia descriptiva la variable usual tiempo.

Desde el punto de vista de la *constitución* pueden establecerse tres etapas (quizá cuatro) especialmente significativas y claramente diferenciadas que caracterizaré muy superficialmente pero de modo harto significativo para la intelección de la historia del Universo como «cascada de configuraciones».

Primera etapa. «Sopa indiferenciada» de partículas

Tuvo una duración brevísima, desde el preciso instante del *Big-Bang* hasta unos 10^{-6} segundos, pero en ella ocurrieron —presupuestamente, como todo en esta concepción— numerosos acontecimientos importantísimos, casi todos los relacionados con la disgregación o independencia de las interacciones fundamentales. En primer lugar [18], el fin de la «gran unificación» (con el que se independiza

[18] Que sería segundo lugar si hubiese existido la «generalísima unificación» integradora de la gravitación, cuya formulación teórica constituye un reto en la actualidad.

la interacción nuclear fuerte) en torno a los 10^{-34} segundos; y, en segundo lugar, el final de la «unificación electrodébil» en torno a los 10^{-11} segundos.

Los constituyentes del Universo en esta época primicial fueron las partículas elementales (leptones y quarks —fermiones—, y fotones, mesones intermedios y gluones —bosones—) que considera hoy la Física de Partículas Elementales o de Altas Energías. (En síntesis, el cuadro del *modelo estándar* de la Física de Partículas Elementales actualmente vigente.)

Segunda etapa. Hadrónica (o bariónica)

En torno a los 10^{-6} segundos de vida se produce la transición quarks-hadrones con la emergencia de estos últimos, entre los que cualitativamente importantes serán los protones y neutrones, tipos de bariones (fermiones hadrónicos, partículas de materia).

En esta etapa queda libre una gran cantidad de neutrinos y antineutrinos que como fondo, fósiles y fríos, a una temperatura de 2 grados Kelvin (K) (unos –271 grados centígrados) inundan en la actualidad todo el Cosmos.

Tercera etapa. Materia nuclear

En torno a los 100 segundos comienza a producirse propiamente materia nuclear (iones positivos de los elementos más ligeros) en un proceso de progresiva constitución de estructuras nucleares más complejas: H^{+}, D^{+}, $^{3}He^{++}$, $^{4}He^{++}$ y $^{7}Li^{+++}$, permaneciendo los electrones, e^{-}, en estado libre.

Estas dos etapas podrían integrarse en una sola que podría bautizarse como de nucleosíntesis.

Cuarta etapa. Materia atómica y molecular

Muy larga, en la que estamos actualmente y que podría denominarse también de la *materia ordinaria*.

En torno a los 10^{13} segundos, o mejor unos 100.000 años, comienza la formación de átomos: H, D, ^{3}He, ^{4}He, ^{7}Li, ... y el desacoplamiento de la materia y la radiación que origina la denominada radiación de fondo (de fotones) a una temperatura de unos 2,7 K.

A los $1.000_{1}000.000$ de años se forman las galaxias y más o menos a los $10.000_{1}000.000$ nuestro Sistema Solar, que, parece ser, tiene unos $4.500_{1}000.000$ de años de existencia.

Esta etapa actual se caracteriza por el dominio de la materia (neutra) y la formación de estructuras macroscópicas; se denomina también *etapa astronómi-*

ca en contraste con las anteriores que pueden integrarse, desde esta perspectiva, en una común denominada *etapa astrofísica*.

Esta *cascada de configuraciones* y *constituciones* progresivamente más diversas y sobre todo más complejas no impide que se conciba que toda la materia, en todo el Universo y desde su origen, estuvo, ha estado y está hecha de quarks y leptones, considerados hoy en la Física de Partículas Elementales como las bases fundamentales o los constituyentes últimos de la materia.

Parece adecuado este momento para establecer una más estrecha relación entre esta visión cosmológico física de la historia del Universo y la caracterización metafísica del parágrafo anterior.

Elijamos, por ejemplo, la realidad *protón*. Es una estructura constituida por tres *quarks* confinados con y por sus interacciones —*gluones*—. Es decir, la materialidad protón está integrada por las «partículas matéricas» *quarks* (fermiones) y por las «partículas de interacción» *gluones* (bosones). Y además los protones en los núcleos atómicos están en respectividad con los restantes nucleones, y en el átomo en respectividad con los correspondientes electrones, y así sucesivamente.

14. La configuración actual

El análisis de la configuración presente del Cosmos invita a considerar tres aspectos fundamentales, netamente diferentes pero complementarios. Primero, una descripción general (es decir, *cómo* es). Segundo, su constitución (es decir, *de qué* está formado). Y tercero, su funcionamiento (es decir, *en qué consiste y a qué se debe* su intrínseca dinamicidad).

14.1. *Descripción general*

Lo primero que debe decirse en este parágrafo es que la configuración actual del Cosmos es *producto* de la evolución, resultado actualizado de su dinamicidad intrínseca. El Universo se nos presenta ahora con una impresionante diversidad de estructuras de diferentes grados de complejidad. No obstante, conviene recordar que ha sido producto de la evolución desde la «sopa indiferenciada de partículas» emergida inicialmente.

A partir de la molécula, agregado de átomos químicamente estable, se constituye la *materia macroscópica ordinaria:* lo que hay en la Tierra, el Sol y las estrellas.

Debe recordarse también que hay un acuerdo global entre la configuración actual que presenta el Universo y el *principio cosmológico de homogeneidad e isotropía* referido. Desde la perspectiva de la astronomía clásica, descripción

físico-geométrica, la configuración actual de las grandes estructuras puede organizarse sucesivamente de la siguiente manera: estrellas, galaxias, cúmulos y supercúmulos, distribuidos, en general, de una manera aceptablemente homogénea e isótropa en toda su extensión y direcciones.

En resumen, desde esta perspectiva el Cosmos puede considerarse —y así suele hacerse— como un «gas perfecto de partículas correspondientes a los supercúmulos» (y así a las sucesivas estructuras). La Cosmología integra, pues, una *jerarquía de estructuras* de diferentes escalas.

Por otra parte, el Universo es *finito*, aunque sea tan impresionantemente grande que supera los límites del alcance de nuestro posible conocimiento limitado a un determinado dominio.

14.2. *Constitución*

El Universo en la actualidad se considera constituido por *materia ordinaria* (luminosa) en un 4%, *materia oscura* (que no sabemos de qué está hecha) en un 23%, y *energía oscura* (que no sabemos lo que es); así como por una *radiación de fondo* (de unos 2,7 K) y un mar o *fondo de neutrinos* (a unos 2 K).

a) Algunas breves consideraciones en torno a la materia ordinaria

Todo lo conocido que existe hoy en el Cosmos, presupuestamente, desde la visión predominante de la Física actual, constituye lo que puede denominarse con claridad y precisión *materia ordinaria*.

Átomo químico, molécula física, molécula orgánica, célula, tejidos, organismos o seres vivientes. Se establece así una *jerarquía de complejidad* que tratan diferentes disciplinas científicas: Física atómica, Física molecular, Química, Bioquímica, Biología, Sociología, etc. En lo esencial este mundo plural y complejo se nos presenta dominado por la interacción electromagnética que actúa, puede decirse, de manera muy sutil dado que átomos y moléculas son neutros.

En la búsqueda de sucesivos niveles de elementalidad como se ha recordado en un parágrafo anterior, la materia ordinaria actual del Cosmos se supone constituida por las denominadas partículas elementales y sus interacciones fundamentales. Es decir, se dispone de un mundo esencialmente simple. Pero desde él, con él y sobre él ha surgido una impresionante complejidad.

Aunque sólo sea fugazmente, reflexionemos sobre la vida, y desde ésta en torno a su constitución y fundamentos a la luz de su complejidad. También fugazmente sobre las grandes estructuras cósmicas. ¡Bien!, todo es producto de la evolución, de la dinamicidad intrínseca. Brota así, espontánea e incisiva, entre otras, la pregunta capital acerca de si la constitución y funcionamiento de lo más

complejo y de lo más grande se deduce directamente desde lo elemental... o bien se presentan otras novedades de otra naturaleza al cambiar de nivel de complejidad o de escala. Problema objeto de numerosos estudios en la actualidad, aún no resuelto.

Por otra parte, la composición de estrellas y galaxias manifiesta una tan evidente como llamativa falta de simetría material: hay mucha materia y nada (o casi nada) de antimateria. No se detectan zonas del Cosmos con predominio de antimateria ni en las que tengan lugar reacciones de aniquilación materia-antimateria con la producción consiguiente de fotones. En resumen, toda la materia nuclear, atómica, etc., existente es propiamente materia, no antimateria. La respuesta a este enigma se pretende situar como fenómeno de asimetría en los instantes iniciales.

Por lo que respecta a la densidad de nucleones (protones y neutrones), estimándola a partir de la materia visible y de la densidad de esta materia visible, es del orden de 0,1 a 0,2 nucleones/m^3.

Por su naturaleza, la distribución material se establece de la siguiente manera: prácticamente el 75% es H y casi el 25% restante He, siendo muy poco abundantes todos los demás elementos químicos.

b) Algunas breves consideraciones en torno a la radiación cósmica

En el Cosmos existe una *radiación difusa isótropa* detectada por primera vez en 1964 por Penzias y Wilson de manera casual. Se considera como residuo «fósil» del momento del desacoplamiento materia-radiación. Su intensidad, en función de la longitud de onda, se adecua de manera notable con el espectro de emisión del cuerpo negro de la ley de Planck correspondiente a la temperatura de 2,7 K, en buen acuerdo teórico, por tanto, con el problema de la radiación en equilibrio con la materia.

La densidad numérica de fotones de la radiación difusa isótropa a 2,7 K que llena el Universo, se estima en $0{,}5 \times 10^9$ fotones/m^3.

Hasta finales del siglo XX (y a la espera de nuevas confirmaciones y descubrimientos sobre *materia oscura* y *energía oscura*) decíamos que comparando las densidades numéricas de nucleones y fotones existente en el Cosmos, en acuerdo con los datos anteriores, resulta la relación n.º nucleones/n.º fotones $= 0{,}3 \times 10^{-9}$, o con otro lenguaje, por lo que respecta a la densidad de partículas el Universo está dominado por los fotones.

Pero a los efectos energéticos y a la luz de la ecuación de transmutación masa-energía de la Relatividad Especial de Einstein, $E = mc^2$, la energía de cada nucleón es del orden de 10^9 eV mientras que la que transporta un fotón de 2,7 K es de unos 3×10^{-4} eV, de modo que la energía asociada a la materia es del orden de 1.000 veces la asociada a la radiación por lo que nuestro Universo, en lo referente a densidad de energía, está dominado por la materia.

14.3. *Consideraciones en torno al funcionamiento*

«Nuestro Universo», homogéneo e isótropo, está en expansión, como manifestación general de su dinamicidad intrínseca. Su funcionamiento se concibe como debido a dos causas: la acción expansiva impresa en —y/o desde— el *Big-Bang* (hoy se explica en relación con la *energía oscura* mediante una fuerza antigravitante —¿quintaesencia?—) y la gravitación.

La gravitación, concebida como fuerza (Newton), como deformación del espacio-tiempo (Relatividad General de Einstein) o como interacción fundamental (Física de Partículas Elementales) presenta unas propiedades específicas que siempre es interesante recordar: *a)* actúa a grandes distancias (aunque sea irrelevante a niveles microscópicos)[19]; *b)* manifiesta un decrecimiento débil con la distancia (inverso al cuadrado de ésta), lo que implica alcance infinito; *c)* toda materia participa en ella, ninguna pone obstáculos; *d)* toda acción gravitatoria es atractiva, y *e)* aditividad.

El Universo, en un instante determinado de su evolución, se caracteriza, entre otros, por dos parámetros fundamentales: la velocidad de expansión y la densidad de energía (integradas aquí todas las formas: radiactiva, cinética y másica). A esta densidad se asocia una curvatura del espacio-tiempo. La expansión del Universo parece hoy que tiene lugar de modo acelerado.

Desde el punto de vista de las teorías físicas que estudian este comportamiento dinámico, en la perspectiva actual, deben señalarse básicamente dos: La (formalización matemática de la) Relatividad General y la Termodinámica.

Nota esencial caracterizadora de la Física —como se ha puesto de manifiesto en la Primera Parte— es su matematicidad y la matematización consecuente. El Cosmos, y su evolución, han logrado un cierto nivel de representación formal bajo la teoría de la Relatividad General (Einstein, 1915). El espacio-tiempo tetradimensional einsteiniano de métrica funcional (variable) dependiente del contenido de materia-energía que se establece en las *ecuaciones de campo* relativistas constituye uno de los elementos principales para el conocimiento, descubrimiento y predicción de las características del Cosmos en su funcionamiento general macroscópico.

15. Hacia el futuro

La visión del Universo que construye la Cosmología física actual no se limita a ofrecer una panorámica de su historia y una descripción de su actualidad sino que también aporta vías de reflexión científicas sobre su destino futuro. Destacaré algunas consideraciones.

[19] No obstante, a pequeñísimas distancias, en los momentos iniciales del Cosmos, se considera que «recobra» su importancia.

1. La esencial *dinamicidad intrínseca* implica que la configuración actual del Cosmos es sólo eso: actual. En su dinamismo el Universo no ha alcanzado una «configuración definitiva» (ni presumiblemente la alcanzará nunca a la luz de esta esencial dinamicidad).

Ciertamente que «el futuro (aquí con referencia exclusiva a nuestro conocimiento) no está escrito» y cierto también que la Física (puede decirse que) al menos aún no ha establecido leyes de la propia evolución de las leyes (en su caso) con el devenir del tiempo; sin embargo, la Física, en su quehacer tantas veces utópico y profético, se atreve a hablar del futuro del Cosmos.

2. Diversas posibilidades consideraba la Física con el nombre de *Modelos de futuro* o vías posibles de la marcha de la evolución del Universo. Parámetro fundamental del Universo, por lo que respecta a su evolución, es la densidad másica. En síntesis forzada de perspectivas extremas podría decirse que existía un valor, *densidad crítica*, tal que según que la densidad real fuera mayor o menor que ella se produciría un desplome gravitacional o continuaría la expansión indefinidamente.

De estas dos, que he considerado como opciones extremas netamente diferenciadas, una de ellas tenía más partidarios, la que resulta no más plausible matemática y/o filosóficamente sino más bien diríamos que elegida estéticamente por su apariencia geométrica de simetricidad (no propiamente simetría física). Esta opción era la que se denomina *modelo cerrado* que en imagen geométrica bidimensional clásica volumen-tiempo supone que el Cosmos alcanzaría un tamaño máximo y continuaría un proceso de contracción hacia un colapso gravitacional o *Big-Crunch* final. El ciclo «explosión-expansión —máximo tamaño— contracción-implosión» constituiría propiamente lo que podría denominarse «nuestro Universo», nombre que aproxima más humildemente a lo que de hecho podríamos considerar como sabiduría humana, impresionante y portentosa, pero, en principio al menos, limitada.

La otra opción suponía que la expansión del Universo, cuya velocidad debería disminuir continuamente —es decir, expansión desacelerada—, proseguiría «eternamente» si la densidad actual fuera inferior o igual a esa *densidad crítica*.

Hoy se concibe el funcionamiento del Cosmos hacia el futuro prioritariamente con esta opción de *expansión indefinida*, pero además *acelerada*.

TERCERA PARTE

EN TORNO A LA TIERRA

16. Consideraciones introductorias

En esta Tercera Parte se aplican las concepciones anteriores, de fundamentos de física, de caracterización metafísica de la realidad, de la visión cosmológica actual al estudio de la *realidad* Tierra, que casi siempre se olvida tanto en los textos de corte filosófico como en los propiamente de Física. Aquí se pretende salvar ese olvido.

La Tierra es la única *plataforma vivencial* conocida del Cosmos. En ella vive el hombre, vivimos nosotros. Y a ella —con nosotros, por nosotros y para nosotros— se dedica este libro.

Dos consideraciones deseo hacer.

Primera. Es usual en los estudios filosóficos acerca del hombre, escritos con orientaciones cosmológicas, transitar directamente del Cosmos a la Vida. Ese puente, transición en el sentido kantiano de su obra póstuma, une directamente las dos islas citadas, ambas fundamentales, de la reflexión metafísica. Pero, como ingeniero de Caminos, me atrevo a decir que no es aconsejable un puente de tan gran luz cuando existen islas intermedias de tamaño considerable y a distancias adecuadas entre esos estribos colocados en ese caso sólo en el Cosmos y en la Vida. Es conveniente, pues, concebir el puente cuando menos con un pilar de apoyo intermedio cimentado en el planeta Tierra. ¿Qué es la Tierra? se constituye, así, en pregunta ineludible para dicho tránsito. No puede obviarse la Tierra de ninguna manera en el tratamiento del problema del hombre (repito, si se estudia en clave cosmológica) mientras sólo tengamos constancia de su existencia precisamente en la Tierra. (Y, si queremos, sabemos perfectamente que sólo existe aquí. Otro tema es la posible existencia de vida y de vida inteligente en otros planetas o mundos).

Segunda. Como *aplicación* de la concepción de realidad basada en el pensamiento de Zubiri y expuesta en las Partes Primera y Segunda (casi como si se tratara de un ejercicio, de difícil solución, pero con naturaleza de ejercicio) se estudia ahora la realidad emergente, estructural y dinámica, Tierra. Y se profundiza en esta aplicación al hilo de la noción zubiriana tan rica del *problema de la respectividad, intrínseca y extrínseca*, no tratado de ordinario con tanto interés y detenimiento como los conceptos de estructura y dinamismo. La esencia es estructura y la esencia es dinámica, «de suyo da de sí». Las notas estructurales son a su vez dinámicas y respectivas, las intrínsecas y las extrínsecas. En esta característica, como he dicho, quiero centrar la atención. La importancia de la respectividad, a mi juicio, se pone especialmente de manifiesto en estos temas típicamente científicos: de órdenes físico, químico, geológico y biológico.

A modo de presentación puede hacerse una primera descripción formal de la Tierra. Es un planeta del Sistema Solar, el tercero por su distancia al Sol, uno de los considerados como planetas interiores, conjunto formado por Mercurio, Venus, Tierra y Marte. Su diámetro es de unos 12.800 kilómetros y tiene una masa de $5{,}97 \times 10^{27}$ gramos y una densidad relativa del orden de 5,5. Orbita a unos 150 millones de kilómetros de media alrededor del Sol, con una velocidad de traslación de unos 30 kilómetros por segundo.

Con respecto a los restantes planetas interiores presenta cuatro características poco comunes: 1) posee océanos de agua; 2) tiene una atmósfera específica, constituida básicamente por un 78% de N_2 y un 21% de O_2; 3) en ella ha surgido y se ha desarrollado la vida; 4) de ella emana un campo magnético intenso; y 5) sufre la denominada «deriva continental».

17. En torno al origen y evolución de la Tierra

La Tierra, en tanto que realidad, es una estructura dinámica inserta en el dinamismo general del Cosmos.

El principio de la Tierra arranca, parece ser, de la compleja y aún no suficientemente explicada fenomenología que se relaciona con las condensaciones de materia interestelar —«nube de polvo»— que dieron origen al Sistema Solar y en éste, en sus comienzos, a la proto-Tierra que se generaría por acreción (condensación gravitacional).

Tiene unos 4.500 millones de años.

Y su dinamicidad, intrínseca y extrínseca, la han conducido al estadio evolutivo actual que incluye como característica fundamental y diferenciadora —si no en el Cosmos sí en el Sistema Solar— la Biosfera, región biologizada, y hoy, además, humanizada.

18. La naturaleza estructural de la Tierra: notas intrínsecas

La naturaleza estructural intrínseca de la Tierra, como esbozo, queda caracterizada en la actualidad por un conjunto de notas entre las que pueden destacarse las siguientes.

1. Su *campo gravitatorio*

En tanto que realidad material, la Tierra participa de la *gravitación universal.* Aquí me refiero a su capacidad activa, generadora, en tanto que crea un campo gravitatorio, es decir, un campo vectorial central newtoniano, con centro en su centro de gravedad. Este campo, intensidad de la atracción gravitacional entre la Tierra y cualquier otro cuerpo, se expresa de la forma:

$$\vec{g} = G\frac{M_T}{r^2}\vec{r}_0,$$

donde $\vec{g}$ es el campo vectorial de la aceleración de la gravedad terrestre; G = 6,673 × 10^{-11} N.m^2/kg^2, la constante de la gravitación universal newtoniana; M_T = 5,97 × 10^{27} g, la masa de la Tierra; r, la distancia del punto considerado al centro de la Tierra; y $\vec{r}_0$ el versor radial de dicho punto. El valor escalar de dicha aceleración, módulo del vector $\vec{g}$, es:

$$g = G\frac{M_T}{r^2}$$

de tal modo que, aplicada a la superficie de la Tierra, R_T = 6.370 km = 6,37 × 10^6 m, se obtiene el valor conocido

$$g_T = G\frac{M_T}{R_T^{\,2}} = 6{,}673\times10^{-11}\,\frac{5{,}97\times10^{24}}{(6{,}37\times10^{6})^2} = 9{,}81\,\mathrm{N/kg}.$$

Este campo gravitatorio $\vec{g}$ hace posible que exista la atmósfera terrestre, tal que atraída por él queda atrapada sobre la superficie de tierras y mares. No todo cuerpo celeste puede gozar de atmósfera gaseosa, sólo aquellos que poseen un determinado valor mínimo de su campo gravitatorio. Esta propiedad, así considerada, de naturaleza intrínseca, es, en principio al menos, la primordial o la más importante, aunque de ordinario no se cite.

El campo gravitatorio terrestre, como todos los demás análogos, se extiende hacia todo el espacio universal, en respectividad extrínseca con todo otro cuerpo, disminuyendo su intensidad con el cuadrado de la distancia según las relaciones anteriores. A una altura h sobre la superficie, $r = R_T + h$, el valor de $g(h)$ en función de g_T se expresa:

$$g(h) = G\frac{M_T}{\left(R_T + h\right)^2} = \frac{1}{\left(1+\dfrac{h}{R_T}\right)^2}\,g_T.$$

Así, la aceleración de la gravedad, en los límites —aproximados— de la atmósfera, h = 100 km, será de unos 9,51 N/kg; y, en una órbita usual para una nave o estación espacial situada a unos 300 km de altura sobre la superficie de unos 8,95 N/kg.

En el entorno de la superficie de la Tierra se han desarrollado todas las formas de vida conocidas. Y todas ellas, por tanto, con un valor de la gravedad próximo a 9,81 N/kg.

2. *Constitución, composición*

La Tierra tiene una forma próxima a la esférica.

Tres conjunciones diferenciadas pueden destacarse, desde el centro hasta el exterior: endolitosfera, hidrosfera y atmósfera.

2.1. Endolitosfera

La litosfera-endosfera, que emerge como sólida sobre la superficie de los mares, posee tres partes específicas que reciben las denominaciones de núcleo, manto y corteza.

A) El *núcleo* representa el interior de la Tierra y tiene un radio aproximado la mitad del de ésta, es decir, de unos 3.000 km. Se conoce, en realidad se cree conocer, aceptablemente. Se concibe con una zona externa líquida y otra interna sólida. Ambas zonas, complejas y de difícil caracterización, parece que están compuestas por hierro y níquel y derivados de ambos, pero a una presión del orden de miles de veces la atmosférica. El interior es caliente (por la energía de los elementos radiactivos) y se estima que posee una temperatura de entre 3.000 y 10.000 K, es decir, del orden de la temperatura existente en la superficie del Sol que es de unos 6.000 K. Este núcleo, en tanto que líquido, es fuertemente conductor.

B) El *manto* representa los otros aproximadamente 3.000 km, exteriores al núcleo. Es una región rocosa, en su mayor parte sólida. El calor proveniente del interior hace que los materiales de las capas más internas del manto sean dúctiles, blandos, y que existan movimientos tales que los calientes (menos densos) ascienden y los más fríos (más densos) se hundan.

C) La *corteza*, relativamente delgada, está partida en placas que «flotan» sobre el manto parcialmente convectivo y se desplazan sobre él. Las placas, cuando sobresalen de los océanos, dan lugar a los continentes[20]. La corteza es la parte más directamente relacionada con los temas geoantropodinámicos.

2.2. Hidrosfera

La Tierra tiene agua, mucha agua[21]. Y por sus condiciones de temperatura y presión está en cantidad importante en forma líquida. También abunda en forma sólida, hielo, y en forma de vapor de agua, gas, en la atmósfera.

El agua líquida constituye los océanos, mares, lagos y ríos.

---

[20] Suele considerarse que las placas de material más ligero sobresalen de la superficie oceánica constituyendo los continentes (placas continentales) y que las de mayor densidad forran los fondos de los océanos de modo que entre ellas puede existir continuidad o líneas de fractura.

[21] El agua, elemento indispensable para la vida, al menos tal como la conocemos, es abundante en la Tierra. También parece relativamente abundante en Marte y existente en la Luna, pero no se cree que exista en los demás planetas y satélites del Sistema Solar.

2.3. Atmósfera [22]

La atmósfera de la Tierra es la capa gaseosa que la rodea. Parece singular, al menos en el Sistema Solar, por la cantidad de oxígeno y la carencia prácticamente absoluta de hidrógeno. Su composición actual aproximada es la siguiente: un 78% de nitrógeno, un 21% de oxígeno y del orden de un 1% de otros gases entre los que destacan vapor de agua, gases nobles, ozono y dióxido de carbono. Se la denomina, sobre todo en las capas bajas, aire.

La temperatura varía mucho con la altitud: desde la superficie hasta los 10 km, disminuye gradualmente alcanzando unos 200 K; aumenta hasta los 50 km, donde tiene un valor de unos 273 K; después disminuye de nuevo, de modo que a 100 km puede ser de unos 173 K; y a partir de aquí aumenta hasta unos cuantos miles de grados. Esta estructuración térmica aparentemente tan extraña se debe a la absorción de la radiación solar por diferentes compuestos químicos. Sólo el 50% de la radiación alcanza la superficie terrestre y de ésta el 15% es absorbido por la atmósfera y el 35% reflejado hacia el espacio. En la superficie de la Tierra la temperatura presenta un valor promedio de unos 22º C.

La presión en la superficie de la Tierra —a nivel del mar— es de unos 760 mm Hg (valor de la presión que suele conocerse como de «una atmósfera»). A medida que se asciende por la atmósfera disminuye la presión.

3. *Biosfera*

Por su especial significado para la vida, debe distinguirse cualitativamente la biosfera como unión de partes de las zonas anteriores que constituyen una entidad diferenciada de las demás y que, por otro lado, diferencia a la Tierra respecto de todos los demás cuerpos del Sistema Solar.

La biosfera es la región de la Tierra donde se manifiesta la vida, la habitada por seres vivos. Comprende la zona inferior de la atmósfera, la totalidad de la hidrosfera hasta sus mayores profundidades, la superficie del suelo y la litosfera hasta aproximadamente unos 2 km hacia el interior. Desempeña, pues, el papel especialmente relevante para la vida, y constituye, sin ningún género de dudas, lo más sorprendente y singular de nuestro planeta con respecto a todos los demás, en los que ni siquiera, al menos hasta hoy, se perciben indicios de vida.

---

[22] Una cuestión de suma importancia, y no aclarada, es el por qué la Tierra posee una atmósfera (de nitrógeno y oxígeno) y un clima radicalmente distinto a los de Venus y Marte (ambos con atmósferas de dióxido de carbono) si su órbita se encuentra entre las de estos planetas y próxima a ellas. La evolución de la Tierra ha sido muy diferente de la de Venus y Marte.

4. *Campo magnético*

De la Tierra emana un campo magnético con dos centros: los polos denominados norte y sur magnéticos, en la actualidad relativamente próximos a los geográficos pero con desplazamientos continuos. Este campo magnético puede considerarse como excepcionalmente intenso. Se interpreta como generado: *a)* por corrientes eléctricas que circularían por el núcleo metálico líquido altamente conductor del interior y por movimientos convectivos de las partes frías y calientes (dado que el movimiento de estos líquidos no es regular, los polos se mueven irregularmente); y *b)* por la rotación de la Tierra (por ello los polos geométricos y magnéticos están próximos).

Otro conjunto de notas, quizá más representativas de la dinamicidad que de la estructura, pero sin que sea posible una nítida diferenciación y que se tratará en el punto de la dinámica, es el integrado por el vulcanismo, la tectónica global (o de placas), la radiactividad y la rotación diurna.

19. La naturaleza estructural de la Tierra: notas extrínsecas

Pero, suelo repetir, «la Tierra no es la Tierra y sólo la Tierra», sino que es la Tierra también por su respectividad extrínseca con otros cuerpos celestes sin cuyas referencias y acciones la Tierra no sería la Tierra.

La naturaleza estructural de la Tierra, hasta ahora caracterizada sólo por sus propiedades intrínsecas, se completa con el conjunto de notas correspondientes a su *respectividad extrínseca*, notas tales que en sus propias dinamicidades inducen y añaden también dinamicidad en y a la propia Tierra. Esta respectividad principalmente se refiere, a los efectos de clasificación, a las siguientes otras realidades.

Primero. El *Sol*

A) El *campo gravitatorio solar*, en el que se encuentra la Tierra, condiciona las características orbitales de ésta: la distancia al Sol (la órbita es casi circular, de radio $r = 150 \times 10^9$ m), la velocidad de desplazamiento, v, y el ciclo anual (o período de revolución, T).

El equilibrio dinámico del planeta en su giro alrededor del Sol se establece mediante la condición de que la gravitación solar, $\vec{g}_{solar}$, es la fuerza central —fuerza centrípeta si se quiere— necesaria para el movimiento elíptico a la distancia orbital, r, considerada. Es decir, en el marco de la Física Newtoniana:

$$\vec{g}_{solar}\, M_T = \vec{f}_c \Rightarrow G\frac{M_S}{r^2} M_T = M_T \frac{v^2}{r} \Rightarrow v = \sqrt{G\frac{M_S}{r}}$$

donde M_S = 1,999 × 10^{30} kg es la masa del Sol. Sustituyendo y operando se obtiene:

$$v = \sqrt{6,673 \times 10^{-11} \frac{1,999 \times 10^{30}}{150 \times 10^{9}}} = 29.800 \text{ m/s}$$

Por otra parte, de las relaciones de equilibrio dinámico de la órbita se deduce también el período de revolución aproximado:

$$\frac{4\pi^2 r^2}{T^2 r} = G\frac{M_S}{r^2} \Rightarrow T^2 = \frac{4\pi^2}{GM_S} r^3$$

de acuerdo con la tercera ley de Kepler del movimiento planetario. También puede obtenerse directamente por mediación de la velocidad ya calculada:

$$v = \frac{2\pi r}{T} \Rightarrow T = \frac{2\pi r}{v} = \frac{2\pi r 150 \times 10^{9}}{29800} = 365,25 \text{ días}$$

En resumen, la Tierra gira alrededor del Sol en una órbita de unos 150 millones de km con una velocidad de unos 30 km/s y un período de revolución de unos 365 días (el año terrenal). Y, además, gira sobre su eje con un periodo de rotación de unas 24 horas. Este eje de rotación está inclinado en la actualidad unos 23° 27' respecto de la perpendicular a la eclíptica[23], lo que permite que se produzcan variaciones apreciables de la temperatura en cada latitud a lo largo del año.

B) La *actividad solar,* que se manifiesta por las manchas solares y el viento solar, influye en el clima terrestre de manera considerable. Existe una correlación entre los períodos de escasa actividad solar, que se corresponden con épocas anormalmente frías y de intensas nevadas en la Tierra, que se han puesto de manifiesto en registros históricos por anillos más delgados de los árboles y por concentraciones más altas de ^{14}C radiactivo que se produce en las capas altas de la atmósfera por la radiación cósmica. Las glaciaciones se interpretan como consecuencias de períodos de falta de actividad solar.

El *viento solar* es un gas de hidrógeno tenue y caliente disociado en protones y electrones a unos 800 km/s. Supone del orden de un millón de toneladas por segundo de material ionizado arrastrando el campo magnético, que ha sido detectado por las sondas espaciales aún más allá de Saturno, es decir, a una distancia mayor de diez veces la distancia Tierra-Sol. Sería peligrosísimo para la vida si incidiera directamente sobre la superficie terrestre, pero la atmósfera y

[23] Plano de la órbita de la Tierra alrededor del Sol.

el campo magnético terrestre lo frenan protegiendo así la superficie. Estas corrientes de viento solar, como las erupciones de rayos X, perturban también el campo magnético terrestre.

Por otra parte, y en forma telegráfica, conviene recordar que el Sol no está quieto (y el resto del Cosmos tampoco), que se desplaza hacia la estrella Vega a una velocidad de unos 20 km/s, y que los encuentros interestelares (e intergalácticos) también existen.

En resumen, del Sol recibimos su radiación: luz y calor, y también, entre otras, tormentas magnéticas, radiaciones de protones y electrones y radiaciones de neutrinos.

Segundo. La *Luna*

La Luna es el único satélite natural de la Tierra. Tiene un radio de 1.738 km y una masa de $7{,}34 \times 10^{22}$ kg. Orbita alrededor del planeta a una distancia de unos 385.000 km con un período de revolución de 27,32 días. Su acción gravitatoria sobre la Tierra es la causa principal de las mareas.

Tercero. Los *planetas*

Sólo deseo destacar aquí que algunos planetas, sobre todo *Júpiter y Saturno*, dadas sus grandes masas, $M_J = 1{,}9 \times 10^{27}$ kg y $M_{Sat} = 5{,}67 \times 10^{26}$ kg, respectivamente, modifican apreciablemente la órbita terrestre por sus respectivos campos gravitatorios.

Cuarto. La *actividad general cósmica*

Existen indicios (óxidos de nitrógeno) de que la radiación en forma de rayos X de alta energía generada por explosiones de supernovas dejaron trazas permanentes sobre la Tierra registradas en los hielos polares.

Con mayor o menor intensidad actúan sobre la Tierra las estrellas, la radiación de fondo, el polvo interplanetario, el interestelar, etc.

Y quinto. *Acciones especiales*

No deben olvidarse en este ámbito de la respectividad extrínseca de la Tierra, el conjunto que puede catalogarse de acciones especiales, integrado por elementos tales como los debidos a impactos de asteroides, cometas y meteoritos de los que deseo simplemente dejar constancia.

20. La dinamicidad de la Tierra: su actividad

La separación en apartados distintos de las estructuras intrínseca y extrínseca y ahora éste de la dinámica, si bien se hace con rigor formal, debo reconocer que no es posible hacerlo con rigor en sí, dado que aunque el formalismo pudiera ser fácil se aplica a una realidad muy compleja: cada nota estructural es dinámica y está en respectividad con las otras. Con esta salvedad destacaré, una vez más, que la Tierra es una estructura intrínsecamente respectiva y también extrínsecamente respectiva y, además y por ello, también dinámica. Está en dinamicidad, evoluciona. El «ser» *Tierra,* el de ahora, no es más que la «actualidad de la realidad» *Tierra*, esencial y constitutivamente dinámica.

Las manifestaciones de esta dinamicidad que cobran mayor importancia a los efectos de nuestro objetivo, y más o menos adecuadamente organizadas, son las siguientes:

1. *El dinamismo variacional de naturaleza geométrico-gravitatoria*

Los dinamismos variacionales principales son cuatro.

Uno. El correspondiente a la órbita alrededor del Sol, que varía de forma y tamaño con un período de unos 105.000 años. La causa principal de esta variación es la gravitación ejercida por otros planetas, y sobre todo por los grandes, Júpiter y Saturno.

Dos. El de la inclinación del eje respecto de la eclíptica entre 22 y 24,5 grados con un período de unos 41.000 años.

Tres. El de precesión, o dirección del eje con respecto a las estrellas fijas, que tiene un período de unos 26.000 años. Se debe a la atracción del Sol y la Luna.

Y cuatro. La longitud del día —movimiento de rotación— crece como consecuencia de la fricción de las mareas, que producen un efecto de frenado de unos 16 segundos por millón de años, de forma que complementariamente la Luna se aleja de la Tierra unos 4 cm por año.

Los efectos de estos dinamismos pueden superponerse o equilibrarse.

Todos estos cambios afectan a la cantidad de calor solar que llega a la Tierra y a su distribución.

2. *El proceso de erosión-sedimentación-meteorización*

Estos procesos tienen como lugares principales la corteza terrestre y las cuencas oceánicas, modificando el hábitat de la biosfera.

3. *El vulcanismo*

En el manto tienen lugar procesos magmáticos y materiales de esta región, por intrusión, penetran en la corteza. Si salen al exterior dan lugar a las extrusiones volcánicas, lanzando productos a la atmósfera, sobre la superficie terrestre, o en el interior de los océanos.

4. *La tectónica global*

La corteza terrestre está en permanente evolución. Se suceden en ella, a lo largo del tiempo, fenómenos de aparición y desaparición de continentes, desplazamientos de éstos (la «deriva continental») y con ello de los propios océanos, la formación de montañas, etc. En este marco cambiante se ha desarrollado el proceso de la vida.

Como datos geocronológicos más significativos (ya se ha apuntado que la Tierra se formó hace unos 4.500 millones de años) suelen destacarse los siguientes: 1) el continente Pangea, supuestamente primordial y único entonces, se desarrolló hace sólo unos 300 millones de años (ejemplo de la acción expansiva por salida de materiales del interior); 2) el océano Atlántico comenzó a abrirse hace unos 200 millones de años (ejemplo de desplazamientos relativos horizontales); y 3) la cordillera del Himalaya, como plegamiento de la corteza, hace unos 12 millones de años (ejemplo de colisión de continentes).

Corteza terrestre y vida, en sus evoluciones propias, han caminado juntos; lo han hecho, pues, conjuntamente, no han sido realidades independientes sino respectivas.

Podría decirse, mirando hacia el futuro, si no existieran ya factores humanos —«artificiales», por tanto— que estos cambios geológicos de la corteza terrestre serían marcadores relevantes del porvenir de los seres vivos como lo han sido en el pasado.

5. *La radiactividad natural*

Se produce en el interior de la Tierra y se considera fuente generadora de calor que asciende hacia el exterior.

6. *La variabilidad del campo magnético*

7. *La transformación de la constitución de la atmósfera*

La constitución variable de la atmósfera (composición, espesor, densidad, presión) se debe, sobre todo, a los siguientes factores: vulcanismo, radiactividad,

actividad de los organismos, procesos debidos a la radiación solar y, en esta época de desarrollo industrial, a la emisión de productos contaminantes.

8. *Los cambios climáticos*

Los dinamismos variacionales descritos son causa, a su vez, de que varíe la cantidad de calor solar que llega a la Tierra y su distribución por la superficie, lo que genera la evolución climática, que resulta a corto plazo impredecible, pero que, sin embargo, a largo plazo —por ejemplo, las grandes glaciaciones— se conoce mejor.

En la actualidad se cree que el clima evoluciona hacia un período más frío del que tendría lugar su mínimo en torno al año 60.000 d.C., independientemente de épocas de más corto plazo. En este contexto se debate el problema, que se presenta como grave, de la presencia de la humanidad, de su industrialización, con la gran cantidad de contaminantes, especialmente de CO_2, que se lanzan a la atmósfera facilitando, mediante un exceso de «efecto invernadero», el calentamiento actual que se observa.

En resumen, de nuevo, «la Tierra no es la Tierra y sólo la Tierra». Además de sus notas estructurales intrínsecas, que son respectivas entre sí, tiene otras extrínsecas que también lo son entre sí y con las primeras. Entre las extrínsecas, la realidad principal es el Sol. El suministro de energía solar es muy estable gracias a la notable lentitud del flujo de energía en el interior de esta estrella, proceso regulador que minimiza las variaciones interiores en el centro solar. El Sol «explotará» dentro... de unos 5.000 millones de años, y presumiblemente engullirá a la Tierra. Y también podría suceder que el Sistema Solar fuera «asaltado» por (o asaltara a) otra estrella... Serían complejidades añadidas, pero se presentan, en todo caso, como fenómenos demasiado lejanos en el tiempo futuro.

¡Bien! Pues en esta Tierra esencialmente así descrita surgió la vida, se ha desarrollado y ha evolucionado. Y hoy la habita nuestra especie.

CONSIDERACIONES RELACIONALES

Concluyamos este capítulo introductorio con unas *consideraciones finales* que tienen más bien el carácter de *consideraciones iniciales* del libro, por lo que se presentan como *consideraciones relacionales* del contenido de este capítulo inicial con los restantes del cuerpo del libro.

Primera. La Naturaleza —toda— *naturalmente* es dinámica, lo es intrínsecamente. El Universo —*la* Realidad— por la respectividad intrínseca de sus notas —entre ellas, las *realidades*—, y las *realidades*, cada una, por la respectividad intrínseca de sus notas, y, entre sí, por la respectividad extrínseca (la *intrínseca* en *la* Realidad).

Segunda. La Tierra en tanto que *realidad* es dinámica, por la respectividad intrínseca de sus notas y por la respectividad extrínseca con otras realidades cósmicas.

Tercera. El *hombre* —los hombres, la humanidad— es también *realidad* intracósmica, pero *terrenal*, y siendo en la actualidad cósmica una nota constitutiva de la Tierra ha actuado siempre en respectividad con otras notas constitutivas del planeta.

Cuarta. En el último siglo, y de manera progresiva, esta actuación humana adquiere caracteres de *violencia continuada* sobre el planeta y sobre sus alrededores (una espaciosidad circundante transportada gravitacionalmente en su traslación alrededor del Sol, a veces sólo constituida en «basura espacial»). Recordemos algunas manifestaciones de esta violencia humana.

Quinta. Esta sobre-actuación humana está produciendo un *cambio climático* indiscutible y progresivo. No alcanza, ciertamente, la condición de *cataclismo cósmico*, del tipo (posible) del metafórico «la Tierra parió a la Luna con dolor» —modificación brutal del planeta en sus estadios primitivos por un supuesto choque con otro cuerpo de tamaño similar—, ni tampoco al harto plausible impacto del gran meteorito —modificación brutal de la atmósfera del planeta— que acabó con la vida de los dinosaurios. Pero la actual actuación humana es de acción continuada y creciente y alcanzando niveles del orden de los cambios climáticos más o menos cíclicos conocidos en la historia de nuestro planeta... pero de modo que se percibe en esta ocasión como más rápido.

Sexta. Las acciones de la humanidad en el camino de lo que denominamos *progreso* y *desarrollo* está modificando también el planeta de manera notable, originando un creciente número de complicaciones que pueden integrarse en la palabra *contaminación.*

Séptima. Ante el *cambio climático* y la *contaminación*, dos caras del poliedro del desarrollo de la acción humana sobre la Tierra —seleccionados como temas de referencia en esta introducción—, urge un incremento en la toma de conciencia individual, colectiva e institucional de los Estados y las organizaciones mundiales para detener el proceso, paliar sus efectos y buscar adecuación.

I. Degradación de suelo por contaminación y su repercusión en la salud humana

JUAN HERNANDO COSTA y ANTONIO LÓPEZ LAFUENTE



Juan Hernando Costa es Doctor en Farmacia. Profesor Titular del Departamento de Edafología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Farmacia y Académico Correspondiente de la Real Academia Nacional de Farmacia. Es especialista en temas de contaminación del suelo. Fue Vicedecano de la Facultad de Farmacia de la UCM. El trabajo ha sido realizado en colaboración con el Doctor López Lafuente.

Nuestros antepasados del Paleolítico inferior eran poco numerosos y estaban muy dispersos sobre la superficie terrestre, por lo que ejercían sobre el medio natural una acción muy limitada. En realidad, eran parte integrante de los ecosistemas, uno de los múltiples elementos que constituyen las biocenosis, participando en los ciclos de la materia y en los flujos de energía en la biosfera. Pero en el momento que los cazadores paleolíticos dispusieron del fuego iniciaron una acción degradante sobre el medio natural desproporcionada en relación a su escaso número. Deevey (1) calculó que en el Paleolítico inferior la población total era de 125.000 personas, con una densidad de 0,00425 habitantes por kilómetro cuadrado y que el único continente poblado era África. Según estos datos, la biomasa humana era prácticamente despreciable frente a las biomasas vegetales y animales.

El descubrimiento de la agricultura en el Neolítico llevó aparejado un crecimiento demográfico sin precedentes, llegando la población total a $5{,}32 \times 10^6$, distribuida por todos los continentes y con una densidad de población de 0,04 habitantes por kilómetro cuadrado. Si consideramos el fuego como la primera adquisición tecnológica humana, la agricultura constituye la segunda revolución tecnológica de la humanidad.

La agricultura parece iniciarse en Mesopotamia (sur de Palestina, norte de Siria y oriente de Irán), hace más de 10.000 años, como indican los yacimientos de Zawwi Chemi en Irak (2). Al cabo de los años, este descubrimiento condujo

al «horror sylvanum» de la Edad Media, actitud destructora del hombre respecto al árbol, y al desarrollo creciente de las ciudades. A pesar de todo, hasta el comienzo del siglo XVIII, la civilización agraria no modificó irreversiblemente los flujos de materia y energía en la biosfera. Se puede afirmar que hasta esa fecha el hombre seguía integrado en el conjunto de fenómenos ecológicos naturales. A partir de entonces se iniciaron las primeras transformaciones que nos han conducido a la sociedad tecnológica en la que vivimos en la actualidad, llevándonos a reducir la biodiversidad, a romper el ciclo de la materia, a causa de una acumulación incesante de desechos no reciclados, que trastorna los ciclos biogeoquímicos, a un consumo exagerado de energía y a una explosión demográfica sin precedentes, que considera que en el año 2.015 la población mundial será de $10{,}5 \times 10^9$.

En la actualidad, la agricultura debe producir cada vez mayores cantidades de alimentos, al mismo tiempo que disminuye la superficie de suelo cultivable a causa del crecimiento demográfico, a la extensión creciente de las ciudades, a la industrialización y otros usos del suelo alejados de la agricultura. Es preciso, pues, intensificar los cultivos a base de abonos químicos y pesticidas minerales y orgánicos, que llegan a contaminar los suelos bien por las impurezas que contienen, en el caso de los fertilizantes, bien por sí mismos, en el de los pesticidas, que pueden pasar a la biomasa y de ésta a los animales y al hombre, en una cadena trófica elemental:

$$\begin{array}{l} \text{Suelo} \rightarrow \text{Planta} \rightarrow \text{Hombre} \\ \qquad\qquad\quad \big| \rightarrow \text{Animal} \rightarrow \text{Hombre} \end{array}$$

Además, los suelos reciben de la atmósfera metales pesados y elementos radiactivos, que llegan con las precipitaciones. En muchos casos, los suelos son un intermediario entre la atmósfera y la hidrosfera para una parte de cada contaminante que el hombre vierte en el aire. Pero no sólo fertilizantes, pesticidas y precipitaciones contaminantes llegan al suelo. Grandes cantidades de desperdicios sólidos de origen agrícola o humano no son devueltos a los campos de cultivo, pero tampoco son reciclados, sino acumulados en basureros en los que la fermentación anaerobia producen compuestos sulfurosos y amoniacales que contaminan los suelos. La solución de quemar desperdicios en los incineradores es engañosa y conduce a sustituir la contaminación de suelos por la del aire.

El hombre transforma la naturaleza y, al hacerlo, se transforma a sí mismo. Utiliza los recursos para obtener productos que no siempre son benéficos y considera que la productividad es la guía y la máxima. A su vez, trata de inculcar que el logro de esta productividad es el responsable de la contaminación del medio. Ni la productividad ni la creación de bienes son malos en sí, malsano es la concepción de un sistema determinado de producción y el carácter inapropiado de las relaciones del hombre con la naturaleza. El hombre es parte de la naturaleza y ésta le entrega los elementos básicos que forman su

organismo, proteínas, minerales, vitaminas, etc., en la mayoría de las ocasiones en función de la cadena trófica elemental expuesta anteriormente, en la que el suelo es el punto de partida. Cuando estos elementos básicos penetran en el hombre se «humanizan» al convertirse en parte esencial de él. Si estas sustancias no están en estado puro, al ingresar en el organismo alteran todas las funciones metabólicas y pueden producir enfermedades e, incluso, la muerte.

El suelo es un componente clave del medio ambiente. Puede adsorber y perder iones en función de los tipos de partículas minerales presentes, de la cantidad y naturaleza de la materia orgánica, de la reacción (pH), del potencial redox, de la humedad, etc. El pH es importante porque controla el comportamiento de los metales, amén de otros muchos productos edáficos. Los cationes de metales pesados son más móviles cuando el pH de la solución del medio es ácido; estos elementos son, entonces, tomados por las plantas y de esta forma pasan a las cadenas tróficas, bien como tóxicos o bien en cantidades mínimas que producen deficiencia; pH básicos producen el efecto inverso, la inmovilización de estos elementos, excepto para el Molibdeno. El cambio iónico es otro factor determinante en la dinámica de los metales; en él intervienen factores como la naturaleza del cambiador y la del ión, la concentración de los iones en la solución, el efecto de contraión, etc.

En este artículo hacemos una revisión si no de todos los contaminantes del suelo, sí de aquellos que influyen en la salud humana, señalando las fuentes antropogénicas y los efectos en el hombre. Asimismo, revisaremos los fenómenos de geofagia, inhalación del polvo y las posibles enfermedades por entrada de partículas del suelo a través de absorciones en la piel.

PRINCIPALES CONTAMINANTES DEL SUELO

Son muchas las clasificaciones que pueden hacerse de los distintos contaminantes que afectan al suelo y repercuten en la salud humana. De forma general, y en función de su composición, los podemos dividir en dos grandes grupos: contaminantes de origen mayoritariamente agrario y contaminantes de origen mayoritariamente industrial.

1. CONTAMINANTES DE ORIGEN AGRARIO

1.1. Fertilizantes

Los abonos químicos se añaden al suelo con el fin de aumentar el rendimiento de los cultivos. En la recolección se extraen elementos nutritivos (N, P, K, S, Ca, Mg...) que hay que devolver al suelo en forma de nitratos, fosfatos, sales de potasio, etc., en cantidades equivalentes a las extraídas, pero esto último

conllevaría el análisis constante de suelos y plantas, lo que encarecería el precio de los productos; por lo que la falta de análisis se solventa con la adición, cada vez en mayor proporción, de fertilizantes químicos, sin tener en cuenta el principio de los rendimientos decrecientes o menos que proporcionales y la ley del mínimo de los factores limitantes. Mientras que se incorporan al suelo cantidades excesivas de fertilizantes, se ha cesado, en nombre de la «rentabilidad», de devolver a las tierras de cultivo el humus que garantiza su fertilidad, lo que, además de su implicación, en algunos casos, en la salud humana, va en deterioro de la estructura edáfica no creándose el complejo adsorbente arcillo-húmico, que tiene, entre otros, el papel de facilitar los elementos nutritivos a las plantas debido a los fenómenos de cambio de iones. Asimismo, y debido a esta utilización excesiva de fertilizantes de síntesis química, se están cambiando los ciclos biogeoquímicos de las plantas, ya que la cabaña ganadera ingiere hierba durante períodos más largos en el año, lo que hace se acorten los periodos de descanso entre cosechas. Esto afecta de forma directa, tanto al desarrollo de la planta como a las condiciones del suelo, que modifica los tiempos en la alteración de la materia orgánica. En la Figura 1 se muestra la distribución en España de los puntos donde la contaminación por fertilizantes es más intensa. Como se puede apreciar trazando una línea que una Cantabria con la costa de Granada, el aporte de fertilizantes se corresponde con la España silícica, a la izquierda de la línea. A la derecha, el incremento de abono está relacionado con la producción hortícola y de cítricos. Podemos observar que las provincias menos fertilizadas son aquellas cuyo cultivo son fundamentalmente olivar y viña.



Figura 1. *Distribución de la contaminación por fertilizantes en España. Mapa extraído de http://www.unex.es/edafo/GCSP/GCSL4CEFertilizantes.htm*

1.1.1. *Nitratos*

Además de la contaminación de las aguas que conlleva el aporte excesivo de nitratos y fosfatos, agentes que producen la «eutrofización» de ríos y lagos, los nitratos pueden contaminar los alimentos a través de los suelos. Ya Commoner (3) puso de manifiesto el contenido en N de lechugas plantadas en una tierra normal (0,1% de nitrógeno nítrico en relación a su peso seco) y las cultivadas en un suelo que ha sido fertilizado con 600 kg de nitratos por hectárea (0,6%). Algo similar, pero con más intensidad, sucede en las espinacas, capaces de acumular nitratos del orden de 3,5 g/kg puesto de manifiesto por Schuphan (4). Las espinacas producidas en grandes superficies por métodos industriales presentan riesgos para los consumidores, ya que pueden llegar a producir metahemoglobinemia. Durante la conservación en refrigeradora, el acondicionamiento industrial o incluso por acción de la flora bacteriana intestinal, los nitratos pueden ser transformados en nitritos que son los responsables de la producción de metahemoglobina. Además, los nitratos, por sí solos, tienen un efecto vasodilatador que agrava los efectos de la formación de la metahemoglobina.

En general, se considera que los síntomas de intoxicación aparecen cuando el contenido en metahemoglobina excede al 20% del total de la corporal (0,24 g/100 ml de sangre); síntomas iguales a los asociados con la anemia funcional y la asfixia, con un aumento en el número de contracciones cardiacas.

Existen mecanismos de defensa para regenerar la hemoglobina, es decir, para reducir la metahemoglobina y efectuar el intercambio normal de oxígeno, que consiste en un sistema enzimático llamado NADH-metahemoglobina-reductasa. En los lactantes menores de tres meses este sistema enzimático no está completamente desarrollado, por lo que son más susceptibles de este tipo de intoxicaciones. A esta susceptibilidad influyen, además, la menor acidez del estómago en los bebés, que favorece el desarrollo de microorganismos capaces de reducir los nitratos a nitritos; la presencia de hemoglobina fetal, que parece más susceptible a estas alteraciones; y la elevada ingesta de líquidos si la lactancia es artificial. Es importante en este último caso que el agua no contenga nitratos, lo que puede suceder en regiones en las que el suministro de agua es de pozos; pozos que pueden estar contaminados con los nitratos procedentes del abonado de suelos agrícolas. Pero hay algo todavía más grave; los nitritos formados en el tubo digestivo y en los alimentos mal conservados pueden transformarse en nitrosaminas, potentes agentes cancerígenos (5).

1.1.2. *Fosfatos*

El fósforo se aporta al suelo casi siempre en forma de superfosfatos (ortofosfato soluble). El problema que se presenta no es la contaminación del suelo por los superfosfatos, sino por las impurezas que contienen, dada la carestía del proceso de purificación de este abono, tales como arsénico, cadmio, cromo,

cobalto, cobre, plomo, níquel, selenio, vanadio y cinc; que no son demasiado importantes, pero que se suman a los aportados por otros fertilizantes y pesticidas tales como sales de cobre, arseniato de plomo y herbicidas orgánicos que contienen arsénico en su molécula.

1.2. Pesticidas

Existe una diferencia fundamental con el resto de los contaminantes; los pesticidas se distribuyen voluntariamente sobre el medio natural, bien para proteger al hombre o para proteger a los animales de ciertos parásitos, o bien para destruir las plagas de los cultivos, incluidas las malas hierbas, las cuales no suponen una enfermedad sino una competición por el agua y los minerales nutrientes del suelo. Se distiguen: insecticidas, fungicidas, herbicidas, rodenticidas, nematocidas, etc., pero en realidad, estas denominaciones son un abuso terminológico, porque no sólo afectan al término al que se refieren, sino a todos los seres vivos; es decir, los pesticidas afectan al conjunto del ecosistema. De todos ellos, los herbicidas son los que más afectan al suelo, porque, en muchas ocasiones, se depositan directamente sobre él, incluso, en su interior, como en el caso de las triacinas que actúan por absorción radicular, inhibiendo la fotosíntesis, aunque la mayoría de los herbicidas actúan por contacto. Los suelos contaminados por estos productos, pueden permanecer afectados largo tiempo (Tabla 1) durante el cual son incapaces de soportar cualquier tipo de vegetación, como ha sucedido en Vietnam después de utilizar picloran (piridina clorada), como defoliante. En ocasiones, estos productos afectan directamente a quien los usan, informes sobre malformaciones congénitas en los hijos de soldados de Estados Unidos de América se han relacionado con la aplicación masiva de un defoliante, el «agente naranja» (combinación de ésteres de 2-4-D y 2-4-5-T), derivados del ácido fenoxiacético y de la TCDD (tetracloro-debenzodioxina) durante la guerra de Vietnam.

TABLA 1. *Algunos ejemplos de persistencia de pesticidas en suelo manteniendo su actividad biológica*

Tipo	*Acción*	*Persistencia*
Organoclorados	Insecticida	2-5 años
Derivados benzoicos	Herbicida	3-12 meses
Derivados de la urea	Herbicida	4-10 meses
Amidas	Herbicida	2-10 meses
Ácidos alifáticos	Herbicida	3-10 semanas
Organofosforados	Insecticida	7-8 semanas
Carbamatos	Todas	2-8 semanas

Tanto los herbicidas como los plaguicidas son contaminantes de los suelos por sí mismos o como resultado de transformaciones químicas o biológicas. Desde los años cuarenta del pasado siglo, cuando el DDT irrumpió en los mercados, hasta los posteriores organoclorados o carbamatos, entre otros utilizados en la actualidad, constituye una gama de productos muy eficaces en los tratamientos de plagas, pero con secuelas graves para los ecosistemas y la salud humana (6). En la actualidad más de 600 compuestos orgánicos, con cerca de 50.000 formulaciones se utilizan en todo el mundo para el control de las diferentes plagas. Europa utiliza anualmente cantidades en torno a 350 millones de kg de pesticidas (7). Esta cantidad tan elevada tiene una relación directa con el aumento de enfermedades asociadas. No hay en la actualidad estudios comparados de los distintos orígenes de enfermedades relacionadas con actividades agrarias, pero según la OMS, dos millones de personas se intoxican por estas sustancias cada año, y unas 200.000 mueren por exposición directa o indirecta con plaguicidas.

Dependiendo de la concentración, del tiempo de exposición y del tipo de contaminante, los efectos varían. Vómitos, diarreas, cefaleas, somnolencia están asociados a la ingestión de dosis únicas con altas concentraciones. Cánceres, leucemias, necrosis de hígado se deben a exposiciones repetidas. Los síntomas aparecen con el tiempo, dado que son sustancias de biotransformaciones lentas que provocan efectos acumulativos en los organismos. Zumbado *et al.* (8), estudiaron los efectos de la acumulación del DDT en sueros procedentes de una población representativa de las Islas Canarias y pusieron de manifiesto la persistencia de los compuestos organoclorados en el organismo. Otros efectos que en la actualidad se están investigando son los relacionados con la homeostasis endocrina. Se ha acuñado el término disruptor endocrino para definir a cualquier sustancia química, contaminante ambiental, que, una vez incorporada al organismo, altera el sistema hormonal con graves consecuencias para la salud del individuo o de su descendencia. Estas disfunciones se analizan en pacientes de alto riesgo, entre los que destacan niños y trabajadores en áreas con agricultura intensiva, en las que se prodiga el uso de pesticidas, y en los habitantes que ocupan zonas circundantes (9).

2. CONTAMINANTES DE ORIGEN INDUSTRIAL

La concentración de metales pesados en suelos debería tener su origen únicamente en función de la composición litológica y de los procesos edafogenéticos que dan lugar al suelo (Tabla 2).

TABLA 2. *Concentraciones naturales de metales en diversos materiales originales y suelos (mg/kg)*

Elemento	*Granito*	*Basalto*	*Esquisto*	*Caliza*	*Arenisca*	*Suelo*
Al	77.000	88.000	88.000	90.000	43.000	71.000
As	1,5	1,5	13	1	1	6
Cd	0,09	0,13	0,22	0,03	0,05	0,35
Co	1	35	19	0,1	0,3	8
Cr	4	90	90	11	35	70
Cu	13	90	39	5,5	30	30
Hg	0,08	0,01	0,01	0,18	0,29	0,06
Mo	2	1	2,6	0,16	0,2	1,2
Ni	0,5	150	68	7	9	50
Pb	24	3	23	5,7	10	35
Se	0,05	0,05	0,5	0,03	0,01	0,4
Zn	52	100	120	20	30	90

Sin embargo la actividad humana ha incrementado el contenido de estos metales en el suelo en cantidades considerables, siendo ésta, sin duda, la causa más frecuente de las concentraciones tóxicas detectadas. Describimos a continuación algunos ejemplos de la influencia que estos elementos tienen en la salud humana.

2.1. Plomo

Este metal ha sido utilizado por el hombre desde hace muchos años. Los egipcios ya lo utilizaban para vidriar vasijas 5.000 años a.C. Los romanos lo utilizaron para sus cañerías además de para innumerables objetos. Hay quienes aseguran que la caída del imperio romano se debe, en parte, a la exposición crónica de las clases dirigentes a este elemento.

Las concentraciones de plomo en el medio ambiente se elevaron a partir de la revolución industrial en el siglo XVIII, pero cuando el aumento se elevó sobremanera fue a finales de la segunda guerra mundial, por la introducción de compuestos orgánicos de este elemento como aditivos para la gasolina. En la actualidad la contaminación por este metal se detecta hasta en los hielos de Groenlandia. Hoy día se utiliza en la producción de acumuladores y baterías, pigmentos, insecticidas, explosivos, reactivos químicos, soldaduras, aditivos

antidetonantes para la gasolina, alfarería, cubiertas para la protección contra los rayos X, tuberías, etc.

Es un contaminante importante de la atmósfera, la hidrosfera y la edafosfera. A los suelos les llega a partir de residuos industriales, de minería, de la deposición atmosférica y a partir de la roca madre si ésta es rica en minerales que lo contienen. Aunque el suelo puede inmovilizarlo en la materia orgánica y en la arcilla, si el suelo es ácido el Pb es móvil y puede ser tomado por las plantas y de aquí a los animales y al hombre. Cuando realizamos la isoterma de sorción en horizontes superficiales de suelos desarrollados sobre materiales carbonatados, podemos observar (Fig. 2) que hasta concentraciones por encima de los 8.000 mg/kg son retenidos por el suelo. A partir de estas cantidades las concentraciones de este metal pueden pasar a la solución del suelo y contaminar otros sistemas.

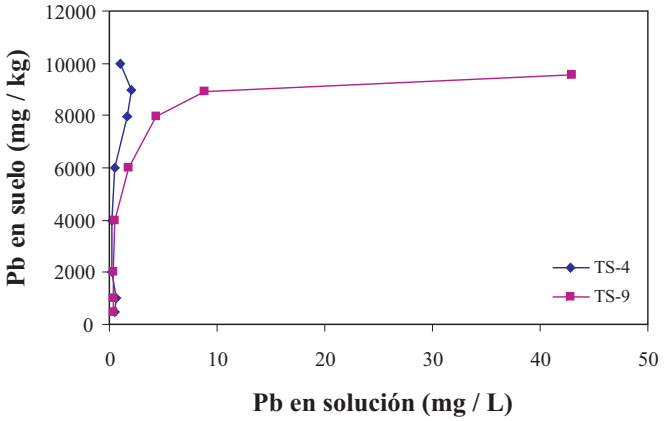


FIGURA 2. *Sorción de plomo en horizontes superficiales de suelos carbonatados.*

Las plantas que crecen en suelos contaminados por este metal lo concentran, principalmente, en su sistema radicular. Las lombrices de tierra tienden a acumular plomo y pueden ser una de las rutas por las que este elemento entra en la cadena alimenticia.

El plomo que proviene de suelos contaminados entra en el cuerpo humano por ingestión directa del suelo, por inhalación de polvo o por las rutas de diversas cadenas alimentarias. Culbard *et al.* (10) y Watt *et al.* (11), en estudios realizados en Gran Bretaña, mostraron que el 50% del Pb ingerido por los niños lo fue en el polvo doméstico. Por vía oral, en adultos, sólo es absorbido el 10%, pero en los niños este porcentaje puede alcanzar el 53% de la dosis ingerida. Sea cual sea la vía de absorción, el plomo se transporta por la sangre y, en un principio, se distribuye por todos los tejidos y órganos. El plomo se acumula en el tejido óseo (el 90% de la concentración corporal total). Menos importantes son sus concen-

traciones en hígado, corteza y médula renal y en los eritrocitos; en éstos su concentración es 16 veces más alta que en el plasma. La vía de eliminación más importante en el hombre es la orina (76% aproximadamente); el resto, por heces, sudor, cabello, secreciones gastrointestinales, etc. Es importante señalar la eliminación de este metal por la leche materna (hasta 12 mg l^{-1}).

La intoxicación por Pb afecta al sistema hematopoyético, produciendo anemia debido a la inhibición que hace el Pb sobre la síntesis del grupo hemo de la hemoglobina. También afecta al sistema nervioso central produciendo encefalopatías, principalmente en los niños, que se manifiestan por torpeza, irritabilidad, dolor de cabeza, dolor muscular, ataxia y pérdida de memoria. En casos extremos se puede llegar al coma o la muerte con o sin convulsiones. Afecta, asimismo, al sistema nervioso periférico con debilidad en los músculos extensores (12), (13), (14). El plomo fue el primer metal ligado a fallos en la reproducción, ya que puede atravesar la placenta fácilmente (15).

2.2. Cadmio

El hombre ha liberado cadmio al ambiente sin saberlo desde que empezó a fundir metales: cinc, cobre y plomo. En la actualidad es considerado como uno de los elementos más tóxicos y es importante aclarar que los procesos naturales por los que se libera Cd son insignificantes como fuente de contaminación en comparación con el que procede de las actividades del hombre. Como el cadmio es relativamente volátil, se elimina en la etapa de cocción o desulfuración de todos los productos que contienen cinc, es capturado para someterlo a un tratamiento para la obtención de Cd metálico de alta pureza como producto final. Las principales fuentes antropogénicas son los usos de este elemento: pigmentos y pinturas, baterías, estabilizadores del cloruro de polivinilo (PVC), recubrimiento de otros metales, galvanoplastia, electroplateado, aleaciones, acumuladores, soldaduras, reactores nucleares, joyería, etc., sin despreciar su presencia en fertilizantes químicos fosfatados, que son, en la mayoría de los casos el origen de la contaminación, por Cd, del suelo. En ellos este elemento pueden presentar concentraciones que van de 2 a 156 mg kg^{-1}. Generalmente, las concentraciones de Cd en el suelo son inferiores 1mg kg^{-1} y suelen mantenerse en rangos de 0,01 a 0,5 mg kg^{-1} (Tabla 2). El Cd se acumula en los horizontes superficiales de los suelos, pero puede emigrar a los subsuperficiales e, incluso, llegar a la capa freática subyacente. Tiene una vida media en el suelo de 15 a 1.100 años, lo que supone un problema a largo plazo una vez contaminado el suelo con dicho elemento. En la Figura 3 se muestra la isoterma de sorción del Cd en dos muestras de horizontes superficiales. Como podemos ver, desde concentraciones próximas a 1.000 mg/kg en suelo, empieza a ser móvil ya que lo encontramos en la solución del suelo. Este comportamiento ratifica la movilidad de este metal y por tanto su peligro en los procesos de contaminación, tanto para la cadena trófica (adsorción por la planta), como para las aguas subterráneas.

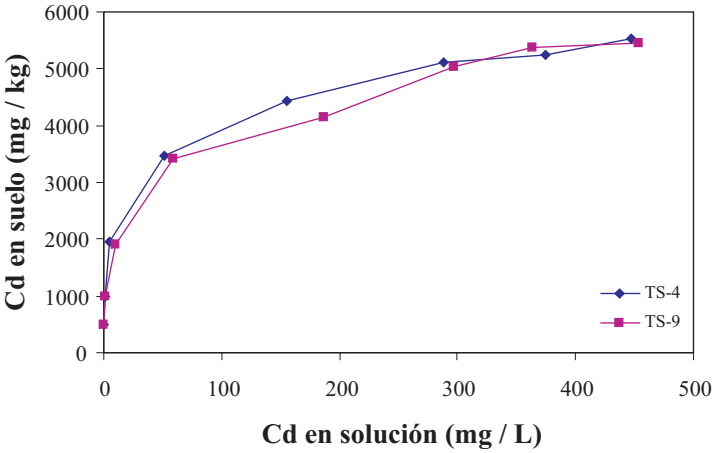


FIGURA 3. *Sorción de Cadmio en horizontes superficiales de suelos carbonatados.*

Los óxidos hidratados de Al y de Fe adsorben Cd e impiden su paso a las plantas a corto plazo. A bajos pH se incrementa su asimilación por las plantas (16). Por ejemplo, en ciertas regiones de Japón, en suelos contaminados por Cd, se han encontrado concentraciones del mismo de hasta 69 mg kg^{-1} en plantaciones de arroz.

Las plantas no tienen mecanismos para excretar el Cd y la acumulación suele ser mayor en las raíces que en la parte aérea de la planta. Sin embargo, algunos cereales como el arroz, la avena y el trigo pueden asimilar cantidades considerables de Cd a partir de suelos contaminados. También son sensibles al metal la espinaca y la soja, mientras que el tomate y la col son completamente resistentes (17).

Considerables cantidades de Cd se ingieren a través de alimentos. Estudios realizados con Cd radioactivo se observó que en los seres humanos la absorción de este elemento fluctúa entre el 3 y el 8%. Las personas con baja proporción de hierro en sangre tienen una absorción promedio cuatro veces mayor que los individuos con concentraciones normales de hierro. También favorecen la absorción la deficiencia de proteínas y calcio. Después de ser absorbido se trasporta por la sangre a todas las partes del cuerpo, pero hígado y riñones, páncreas y glándulas salivares lo acumulan más que el resto de órganos y tejidos. La placenta actúa como una barrera eficaz para este elemento y no permite su paso al feto (12). La principal vía de eliminación del Cd en el hombre es la orina. Gran parte del Cd (70-80%) que se acumula en hígado y riñones se une a una proteína soluble de bajo peso molecular, que gracias a su gran número de grupos sulfhídricos se puede unir no sólo al Cd, sino también al Cu y al Zn, formándose metaltioneinas, que son las causantes del largo período de vida media del Cd en el hombre.

La ingestión de Cd en alimentos contaminados puede causar trastornos agudos en el tracto gastrointestinal con náuseas, salivación, vómitos, dolor abdominal tipo cólico y dolor de cabeza. En 1947 se detectó en Japón una enfermedad extraña y dolorosa de naturaleza «reumática» en pacientes procedentes de varios pueblos situados en los márgenes del río Jintsu, en la Prefectura de Toyama. Posteriormente, esta enfermedad se conoció con el nombre de Itai-Itai (en español ¡ay¡ ay!), debido a las quejas asociadas con los dolores que provocan las deformaciones en el esqueleto de los afectados. La fuente de Cd era una mina de cinc y plomo que se localizó a 50 km río arriba (Fig. 4). Las personas que sufrían esta enfermedad habían ingerido Cd en elevadas concentraciones junto con el arroz y el agua potable contaminados.

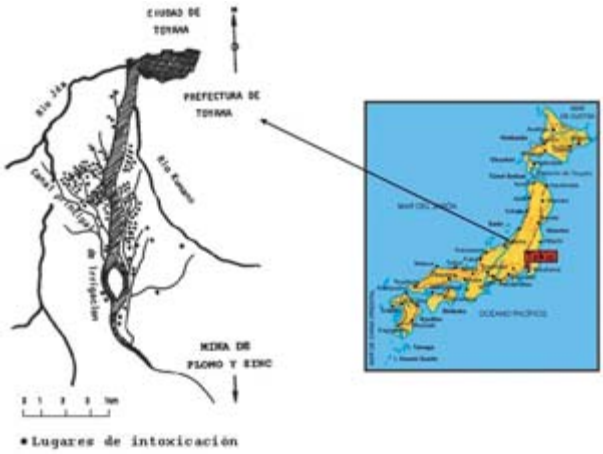


FIGURA 4. *Contaminación por Cadmio en el río Jintsu (Japón).*

En los suelos encharcados de los arrozales, en condiciones reductoras, el potencial redox del suelo es bajo y el Cd se encuentra en forma de CdS insoluble y poco asimilable por las plantas. Cuando el Eh se incrementa, al desecarse los suelos, el CdS se oxida a sulfato y el Cd^{2+} es fácilmente asimilable. La característica principal de una intoxicación crónica con Cd es el daño al riñón, ya que afecta a las funciones de reabsorción de los túbulos proximales. El primer síntoma suele ser un aumento en la excreción de proteínas de bajo peso molecular (β_2– microglobulina), lo que se conoce como proteinuria tubular.

Los daños en el sistema óseo se relacionan con el daño renal, ya que este elemento interfiere en el metabolismo del calcio. Enfermedades de los huesos, tales como osteomalosis y osteoporosis, solamente se han detectado en Japón, en donde los efectos de la toxicidad del Cd aumentaron por dietas deficitarias de calcio, vitamina D y proteínas (18). Los trastornos que produce el Cd en el metabolismo del calcio se manifiestan en un ablandamiento de los huesos, fractura y deformidades del esqueleto. Incluso puede producirse una disminución de la

estatura del enfermo. También parece influir en trastornos cardiovasculares, hipertensión e, incluso, puede tener efectos carcinogénicos.

2.3. Selenio

El selenio es el componente primario de los magmas intrusitos y efusivos y de los gases volcánicos. Se encuentra difundido en toda la corteza terrestre (6×10^{-5}%), en pequeñas cantidades en minerales como pirita, tiemanita, estilleita, etc. Se utiliza como pigmento en manufacturas de vidrio y cerámica, en celdas foto-eléctricas, ingrediente en el baño de viraje en fotografía, rectificados en aparatos de televisión y radio, en el procesamiento de caucho, en mezclas para semiconductores de fusión, productos químicos y medicamentos.

En los suelos aparece en cantidades muy pequeñas desde 0,1 mg kg^{-1} hasta 8.000 mg kg^{-1} en áreas contaminadas (19). Ciertas plantas acumulan Se a través del suelo natural o contaminado. Se ha encontrado este elemento en leguminosas (*Veza*), compuestas (*Xylorhica* y *Oonopris*), rubiaceas (*Standlega*), etc. Estos vegetales pueden concentrar hasta 1,5% de selenio en sus tejidos, por lo que se las considera plantas indicadoras de suelos con más o menos cantidad de selenio. Por otro lado, estos vegetales pueden llegar a intoxicar el ganado que se alimente en regiones seleníferas. Pequeñas concentraciones pueden aparecer en alimentos que utiliza el hombre, que se deben bien a que el contenido en el suelo es bajo o bien, si es más elevado, porque se encuentra fijado de forma no asimilable por las plantas. En el suelo la disponibilidad de este elemento para los vegetales depende de otros iones; por ejemplo: el Fe restringe su absorción al igual que la materia orgánica. En otro sentido, los fosfatos desplazan al selenio, por lo que cuando son añadidos, como abono, incrementan su contenido en plantas. En suelos alcalinos de regiones áridas, generalmente aparece como selenato que es soluble y asimilable, mientras que en áreas húmedas, aparece como selenito menos soluble. La adsorción de selenio por las arcillas depende más del pH del suelo que del tipo de arcilla. Con la adición de caliza aumenta su disponibilidad para las plantas.

Se puede generalizar que todo el selenio en el cuerpo humano procede de los alimentos, y que, a su vez, el contenido depende de la dieta y del origen geográfico del alimento. El selenio es un componente del enzima glutation-peroxidasa, un componente de uno de los sistemas de defensa antioxidante del cuerpo; hasta tal punto que es utilizado como un índice del estado de Selenio en el hombre (14).

En el caso de este elemento, es su deficiencia la que causa, además de efectos tóxicos, trastornos en la salud. La primera enfermedad asociada a esas deficiencias se descubrió en China en el siglo XIV. Apareció en las montañas y colinas de China central extendiéndose a través del país desde el NE al SO. Se trata de una osteoartropatía causada por una perturbación al final de los huesos, con la aparición de una artitis crónica y deformidades en niños y jóvenes (20). La otra enfer-

medad típica ligada a la deficiencia de selenio es la enfermedad de Keshan, que aparece, principalmente, en áreas rurales con una agricultura de subsistencia y alimentos casi exclusivamente locales. Se trata de una cardiomiopatía hallada en mujeres jóvenes y niños, con múltiples necrosaciones en el miocardio y fibrosis del corazón. Parece que esta enfermedad está asociada a las deficiencias de vitamina E. El Selenio y esta vitamina actúan sinérgicamente como antioxidantes (21). También se han encontrado deficiencias de selenio en Escandinavia, Serbia y Finlandia. En este último país se ha incrementado el contenido de este elemento en fertilizantes, con el consecuente aumento del mismo en los cereales (22).

También existen enfermedades asociadas con la toxicidad del selenio, como fue puesto de manifiesto en China, en la provincia de Harabi, en donde la ingesta de selenio alcanzaba cifras tales como de 3,2 a 6,7 mg/día^{-1}. La enfermedad apareció cuando se encalaron los suelos para subir el pH, lo que hizo que el selenio fuera disponible por las plantas, sobre todo en el maíz. La mortalidad llego hasta el 50% en las áreas más afectadas (14). Han aparecido enfermedades asociadas al selenio en California y Turkestan.

2.4. Arsénico

Este elemento es bien conocido como veneno desde tiempos inmemoriales. Hoy se sabe que, además, es carcinogénico. Fue descubierto en tiempo de los alquimistas, atribuyéndose a San Alberto Magno su obtención en 1250. Si se alea con cobre de un producto parecido a la plata, lo que hizo creer en la conversión del cobre en plata. Durante la Edad Media, en la que la administración de venenos era considerada como una de las «bellas artes», fue ampliamente utilizado el arsénico blanco (anhídrido arsenioso). Hoy día se utilizan compuestos de arsénico en la fabricación de vidrio, en taxidermia, como pigmento (verde París), insecticidas contra el gorgojo del algodón y los gusanos del manzano, rodenticidas, herbicidas, etc. Con los residuos de estas industrias y los de minería se pueden contaminar los suelos.

Las especies de As presentes en el suelo y su forma, depende del pH, Eh y actividad biológica. Sin embargo, su disponibilidad para las plantas se ve restringida por la presencia de hierro, arcilla y materia orgánica, por lo que suelen contener poco As, solamente cuando los suelos son arenosos, pasa a cereales y hortalizas. La ingesta de este elemento se debe fundamentalmente al consumo de agua contaminada y, todo lo más, a la ingestión de partículas del suelo que lo contienen (23) de forma directa, pero indirectamente puede contribuir a la contaminación de aguas que atraviesan suelos contaminados con As. Tan conocida como la intoxicación masiva con Hg en Minamata, es el caso de intoxicación con As en Taiwan, donde se produjeron cánceres de piel, hiperqueratosis, hiperpigmentación, desórdenes vasculares, etc. Se supo que la intoxicación se producía al beber agua de pozos diseminados por una región en la que el arroz

era el cultivo principal. El As llega al agua a partir del suelos contaminados con este elemento al usar, años atrás, un rodenticida rico en As, que fue retenido en el suelo durante mucho tiempo y que, al final, contaminó las aguas freáticas. En el Norte de Chile suelos y aguas contienen concentraciones elevadas de As.

2.5. Aluminio

En el suelo es soluble a pH menores de 5,5 en forma de catión aluminio (Fig. 5). Proviene de la alteración de los silicatos que contienen dicho elemento, muy extendido en la naturaleza. En procesos de acidificación del suelo, a causa de la lluvia ácida, el Al aumenta en los cursos de agua y puede llegar fácilmente al ser humano. Las plantas lo asimilan muy poco, y casi exclusivamente el té es una de las plantas que lo acumulan. Pero es el agua de bebida el camino por el cual el Al entra en la dieta humana (24).

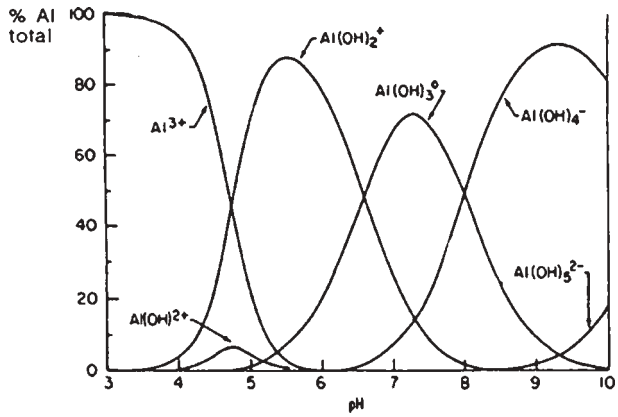


FIGURA 5. *Distribución de especies de aluminio en función del pH.*

El hecho de mencionarlo se debe a que está implicado en la etiología de desórdenes neurológicos, incluso en la enfermedad de Alzheimer, asunto muy controvertido en la actualidad (25).

2.6. Cromo

El Cr nunca se halla en estado libre en la naturaleza, pero sus compuestos están muy diseminados. La fuente mineral más importante del cromo es la cromita, en la que se encuentra en forma trivalente, pero al entrar en contacto con el oxígeno del aire se oxida convirtiéndose en Cr^{+6}, que es más tóxico. El Cr

siempre ha estado presente en el suelo, aire y agua del planeta; en el suelo se presenta con mayores concentraciones (5-1.500 mg kg^{-1}) (26).

Las principales fuentes antropogénicas del cromo son: fabricación de colorantes y pigmentos, mordiente de textiles, curtido de pieles, minería, industrias químicas, cromado electrolítico, fotograbado, explosivos, etc. Sin embargo, la causa más frecuente de contaminación de suelos es la aplicación de fangos y aguas residuales. No obstante, la toxicidad del cromo es incierta excepto en suelos muy ácidos en los que permanece como catión de cambio fuertemente retenido, lo que hace que las plantas, especialmente los cereales, presenten muy bajas concentraciones de este elemento. Puede suceder que se produzca una intoxicación crómica por ingestión de compuestos de cromo durante mucho tiempo, con efectos tales como irritación gastrointestinal, úlcera gástrica, hepatitis, nefritis y erosión y coloración amarilla de los dientes, etc.; pero esto sucede rara vez. En cambio, el Cr es un elemento esencial para el hombre y su carencia puede producir perturbaciones en la salud.

No se conoce aún cuál es el requerimiento mínimo para una salud óptima, porque el cromo no fue reconocido como esencial hasta 1970. Anderson (27) considera que la mayoría de las dietas son deficientes en cromo. Los alimentos frescos son una buena fuente de cromo, el organismo lo necesita para el metabolismo de carbohidratos y lípidos y para la utilización de aminoácidos. Estudios epidemiológicos a pequeña escala encuentran una relación entre la cerencia de Cr y problemas cardiovasculares. La función biológica del mismo parece estar íntimamente asociada con la de la insulina. Si el balance de Cr en el cuerpo es óptimo, se reduce la demanda de insulina, aunque no puede reemplazarla.

Figueroa (26) cita un caso ocurrido en México en 1976. Una industria de cromatos, para eliminar sus desechos los cedió para tapar los baches de la población de Lechería en Tultitlan. Además, infiltró sus residuos líquidos a través de un pozo de la propia industria. Así que el cromo impregnó a la población y murieron varias personas. Para evitar que continuaran las intoxicaciones se quitó la capa superficial del suelo que contenía cromo y la industria se trasladó a otro lugar.

2.7. Cobre

El contenido de Cu disponible para plantas en el suelo depende del material original y las características del suelo. La disponibilidad se reduce a altos valores de pH, altos contenidos en materia orgánica y arcilla y un buen drenaje. La concentración de cobre en las cosechas depende de su concentración en el suelo, del pH, de la especie vegetal, etc., pero la concentración de Cu en los suelos no es una indicación segura de la deficiencia en vegetales a causa de la gran variedad de condiciones que influencian su disponibilidad (28).

El cobre es esencial para el hombre: forma metaloproteínas, tales como ceruloplasmina, así como complejos orgánicos, tiene alguna función en reacciones metabólicas, participa en el desarrollo de los huesos y en el metabolismo de lípidos. Su deficiencia es seria con riesgo de anemia hipocuprémica, neutropenia, hipopigmentación del cabello y de la piel, osteoporosis, trastornos neurológicos y deformidades vasculares. El Zn y el Fe son fuertes antagonistas del Cu, por lo que una gran ingestión de aquellos puede acarrear una deficiencia de éste. Es muy rara la toxicidad por Cu; WHO (14) aconseja dosis de 12 mg/día^{-1} para adultos y 150 mg día^{-1} para niños.

2.8. Talio

La concentración de suelos por Tl se debe siempre al hombre y las plantas que viven en suelos contaminados contienen bastante cantidad de este elemento. Son síntomas de su toxicidad, producida por comer alimentos contaminados, depresión, insomnio y varios desórdenes nerviosos. Envenenamientos por Tl se han producido en el Oeste de Alemania y en Ucrania (29).

Además de las posibles complicaciones debidas a la mayor o menor toxicidad de los elementos anteriormente citados, se pueden producir enfermedades por ingestión directa del suelo, inhalación y a través de lesiones producidas en la piel en contacto con el suelo, pero, generalmente, están muy localizadas, por lo que no hemos creído necesario su desarrollo en este artículo. Asimismo, se pueden producir tanto carencias como toxicidad por otros elementos tales como el F y el I. En el primer caso, la posible carencia o exceso se produce en el agua más que en el suelo, y en el caso del yodo se está trabajando en relacionar su presencia en suelos con las posibles deficiencias en alimentos; así se ha encontrado esta relación suelo-enfermedad carencial (bocio), pero de forma variable, sin una seguridad que pueda conducirnos a una generalización. Parece ser que los suelos arenosos contienen menos yodo que los arcilloso-francos y los más ricos en materia orgánica. Además, y al contrario de lo que sucede con los metales pesados, salvo con el Se, en medio ácido diminuye la disponibilidad del I para las plantas.

La determinación de efectos directos sobre la salud humana de los diferentes elementos en el suelo y en el agua es difícil porque se ponen en juego muchos factores junto a diferencias de clases sociales, dieta, estilo de vida, factores geneticos, salud general, edad y otros muchos. Tampoco se conoce la dosis óptima diaria procedente del medio ambiente, los límites de seguridad para las concentraciones de los elementos traza y sus concentraciones en el suelo, atmósfera o agua que conlleva deficiencias o toxicidad en la dieta.

2.9. Metales radiactivos

Los suelos presentan un alto poder de retención sobre los elementos radiactivos, el estroncio 90 y el cesio 137. Los suelos ácidos fijan y retienen cantidades importantes de Sr^{90}. El problema se acusa cuando los suelos presentan un complejo arcillo-húmico evolucionado capaz de retener cantidades importantes de elementos radiactivos. Por ejemplo, los coloides minerales de dicho complejo pueden fijar el Cs^{137} a un grado tal que puede resultar una peligrosa contaminación, incluso a partir de la lluvia o aguas de riego con muy bajos niveles de este elemento. El Sr^{90} es más móvil en los suelos, por lo que en zonas lluviosas con suelos permeables puede llegar a contaminar las aguas freáticas. A pesar de la gran retención que sufren estos elementos por los coloides edáficos, pasan a la vegetación, penetrando así en las cadenas tróficas. Sin embargo, existen diferencias específicas entre los diversos vegetales respecto a la cantidad de elementos absorbidos.

El paso de Sr^{90} a los vegetales cultivados es más intenso en los suelos pobres en materia orgánica, de tal manera que la contaminación de remolacha es seis veces mayor en un suelo con 2,1% de materia orgánica que en otro con 10%, como pusieron de manifiesto Adans *et al.* (30). Existen numerosos trabajos acerca de contaminación radiactiva a partir de los años cincuenta del pasado siglo, en función de las experiencias termonucleares y de bombas atómicas que provocaron rápidamente una sistemática contaminación de las cadenas tróficas.

Los efectos masivos para la salud humana provocados por los residuos procedentes de las precipitaciones nucleares ha dado lugar a muchas controversias. No obstante, el hecho es la evidente acción acumulativa de los efectos mutágenos y cancerígenos en el ser humano.

Desde los últimos años se viene investigando acerca del radón y la salud humana. El radón es un gas radiactivo que pasa al estado sólido como ^{218}Po, ^{214}Po, ^{214}Pb y ^{214}Bi. Estudios epidemiológicos sugieren que al inhalar radón y transformarse éste en los pulmones, interviene o contribuye en el cáncer de pulmón, y parece ser que interviene en otros tipos de cánceres. Peake and Hess (31) estiman que de 5.000 a 7.000 fallecimientos por cáncer de pulmón en Estados Unidos se deben al Rn, comparado con el número total de fallecimientos por otros tipos de cáncer (500.000). Aunque sea una pequeña proporción frente al total, debe tenerse en cuenta porque es posible prevenir la enfermedad causada por el radón.

Este elemento gaseoso se forma en las rocas y en los suelos que contienen uranio o thorio. La vida media del Rn es de 3,83 días, de aquí que se crea que el detectado en las casas provenga del suelo, dado el tiempo que necesitaría para desplazarse por las rocas subyacentes. Jones (32) dice que el Rn proviene del uranio diseminado en el suelo y del uranio atrapado en minerales tales como zircón, esfena y apatito.

La concentración de Rn en las casas depende de varios factores del suelo: permeabilidad, contenido en dióxido de carbono, que actúa como transportador,

y humedad, que reduce el transporte. En general, la concentración de radón en el suelo es mayor cuando la roca madre es granito, aunque no se puede despreciar su presencia en suelos sobre calizas (33).

PAPEL DEL SUELO EN LA SALUD

Los conocimientos acerca de los riesgos que la contaminación del suelo tiene en la salud del hombre son todavía limitados. La falta de estudios concretos sobre procesos difusos de contaminación hace que los efectos de los mismos tarden años en describirse, sin olvidar que es difícil en las enfermedades degenerativas determinar su causa, y en muchos casos, las causas son múltiples.

De lo que sí podemos reflexionar, y cada vez son más numerosos los trabajos de investigación que encontramos en la bibliografía, es de la contribución que ciertos compuestos que llegan, o se forman en los suelos, ejercen sobre la salud de la población y su carácter multiplicador cuando se localizan en ambientes urbanos.

Industrias, tráfico, calefacciones, constituyen los emisores más importantes de elementos contaminantes, tanto a la atmósfera como al suelo. La concentración de compuestos tóxicos depende de múltiples factores, que van desde el grado de desarrollo socioeconómico, hasta las condiciones ambientales de la zona. La concentración y tipo de contaminante también varía: características de las industrias, alquitranes utilizados, construcciones, parque móvil, abonos y fitosanitarios empleados, son algunos de los elementos que configuran el espacio urbano, todos diferentes y con distinto grado de control en función del desarrollo del país (34). Lo que en todos los casos es común son los lugares donde se deposita la contaminación: suelos naturales, cultivados, parques, jardines, espacios de ocio, campos de deporte. Zonas, todas ellas, donde transita el hombre.

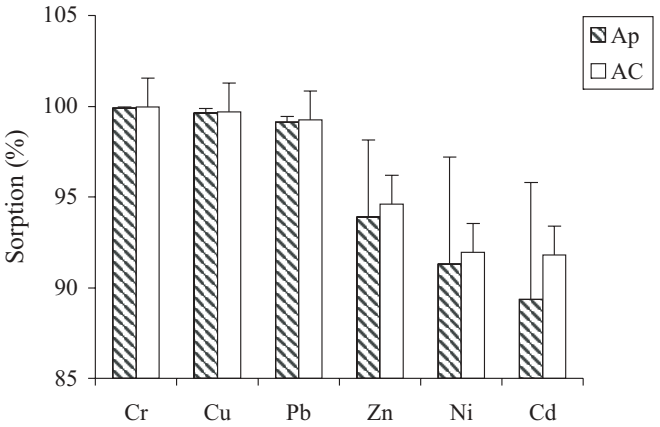


FIGURA 6. *Retención de metales pesados en horizontes superficiales de suelos calcáreos.*

Estudios realizados en suelos cultivados de naturaleza calcárea muestran la gran retención que los metales presentan en estos medios. Como podemos apreciar en la Figura 6, más del 90% de los metales que llegan al suelo son sorbidos en los horizontes superficiales, no existiendo diferencias apreciables en los 30 primeros centímetros de profundidad independientemente del número de horizontes.

Este hecho confiere a la contaminación de suelos en general, y de áreas urbanas en particular, un especial significado, pues las consecuencias pueden tener carácter de inmediatez (35). Es difícil cuantificar el número de enfermedades infecciosas, parasitarias, alérgicas, respiratorias, degenerativas que se producen, y que están directamente relacionadas con la contaminación de los suelos, sin embargo, parece evidente que el suelo es un reservorio de compuestos tóxicos y que son tanto más peligrosos cuanto mayor sea su persistencia y biodisponibilidad.

Esta nueva forma de estudiar el suelo ha hecho que las instituciones oficiales tomen conciencia de la importante relación que existe entre el suelo y la salud humana, lo que ha permitido promulgar normativas donde se incluyen los suelos cuando se analiza la salud de las poblaciones. Únicamente, y a modo de recordatorio, referiremos las normativas que desde distintos organismos internacionales han ido apareciendo en los últimos años.

Las primeras referencias surgen a finales de los años setenta del pasado siglo, cuando la Organización Mundial de la Salud (OMS) publica en el año 1977 una ambiciosa estrategia con el lema «Salud para todos en el año 2000» (36). Para alcanzar esta meta, Europa fue de las primeras en aceptar el reto y en el año 1984 promulgó un plan donde se incluían distintos objetivos a desarrollar durante los siguientes años.

El proyecto se dividía en cinco áreas: 1) reducción de la mortalidad y morbilidad, 2) estilos de vida, 3) obtención de un medio ambiente saludable, 4) servicios sanitarios, y 5) planificación de las estrategias del plan. Dentro del área tercera «obtención de un medio ambiente saludable» se desarrollaban estrategias que relacionaban medio ambiente y salud. Las actuaciones se referían, entre otras, a la gestión de la salud ambiental, a la mejora en la calidad del agua, del aire y de los alimentos, así como a mejorar el control de residuos y a la contaminación del suelo. Junto a estos proyectos, la National Academy of Sciences USA (37) propuso un modelo para valorar los riesgos ambientales y su relación con la salud humana que, posteriormente, fue adoptado por la Environmental Protection Agency (38), y que más tarde se impuso como estándar en la UE. Está basado en la valoración de tres factores: concentración de contaminantes en el suelo, exposición a la contaminación por distintas vías, y la toxicidad del contaminante.

En el caso de España, se comienza con el Real Decreto 1310/1990, sobre Lodos de Depuradora, sigue la Ley básica sobre Residuos Tóxicos (Ley 10/1998), la que corresponde a Fertilizantes y Afines (Orden 28/05/1998), y termi-

na, por ahora, con el Real Decreto 9/2005, por el que se establece la relación de actividades potencialmente contaminantes del suelo. Este Real Decreto lo emite el Ministerio de la Presidencia a propuesta de los Ministerios de Medio Ambiente y de Sanidad y Consumo.

BIBLIOGRAFÍA

(1) DEEVEY, E. S. (1960): The human population. *Sci. Am.,* Vol. 209. n.º 9. Mineral cycles. *Sci. Am.,* Vol. 223. n.º 3: 148-158.
(2) RAMADE, F. (1974): Élements d'ecologie appliqueé. Ediscience/McGraw-Hill. París, p. 242.
(3) COMMONER, B. (1970): Threats to the integrity of the nitrogen cycle: nitrogen compounds in soil, water atmosphere and precipitation. En singer, global effect of environmental pollution. Reide ed. pp. 70-95.
(4) SCHUPHAN (VON), W. (1965): Der Nitrat gehalt von spinat *Spinacia oleracea L.*, beziehung sur methänoglobinämie der Säuglinge. *Z. Ernährungswiss* **5,** p. 207.
(5) RONDEST, J. (1972): Les process des Nitrates. *La Recherche.* Vol. 3. n.º 29: 109-405.
(6) SILBERGER, E. K., PATRICK, T. E. (2005): Environmentalexposures, toxicologic mechanisms, and adverse pregnancy outcomes. *American Journal of Obstetrics and Gynecology,* **192:** S11-21.
(7) FAO (2002): Código de conducta sobre la distribución y el uso de pesticidas. Revised Versión. 123 Session of the FAO Council.
(8) ZUMBADO, M.; GOETHALS, M.; ÁLVAREZ-LEO, E.; LUZARDO, O.; CABRERA, F.; SERRA-MAJEM, L., DOMÍNGUEZ-BOADA, L. (2005): Inadvertent exposure to organochlorine pesticidas DDT and derivatives in people from the Canary Island (Spain). *Science of the Total Environ* **339:** 49-62.
(9) PAZOS, P.; OLEA-SERRANO, M. F.; ZULUAGA, A., OLEA, N. (1998): Endocrine Disruptig Chemicals: Xenoestrogens. *Med. Biol. Environm. Int. J.* **26:** 41-47.
(10) CULBARD, E. B.; THORNTON, I.; WATT, J.; WHEATLEY, M.; MOORCROFT, S., THOMPSON, M. (1988): Metal contamination in British urban dusts and soils. *J. Environ. Qual.* **17:** 226-234.
(11) WATT, J.; THORNTON, I., COTTER-HOWELLS, J. (1993): Physical evidence suggesting the transfer of soil Pb into young children via hand-to-mouth activity. *Applied Geochimistry, Supplementary Issue,* n.º 2: 269-272.
(12) FRIBERG, L.; NORDBERG, G. F., VOUK, V. B. (1979): Handbook on the Toxicology of metals. *Elservier:* 451-484.
(13) DUFFUS, J. H. (1980): Environmental Toxicology. Edaward London: Arnold Pub: 1-74.
(14) WHO (1996): Trace Elements in Human Nutrition and Health. Word Health Organitation. Geneva.
(15) PEREBOOM-STEGEMAN, J. H. J. C. (1987): Toxic trace elements and reproduction. *Tox. Environ. Chem.* **15:** 273-292.
(16) OLIVER, M. A. (1997): Soil and human health: a review. *Eur. Jour. Soil Scie.* **48:** 573-592.
(17) BADILLO, J. F. (1988): *Curso básico de Toxicología Ambiental.* 2.ª ed., Limusa. México: 145-169.
(18) WHO (1992): Environmental Health Criteria 134. Cadmiun. World Health Organization. Geneva.
(19) NEAL, R. H. (1995): Selenio. In: Health Metals in Soils. 2.ª ed. (Ed. B. J. Alloway). *Blactril Academic and Profesional,* Glasgow.

(20) XU, G. L., JIANG, Y. F. (1986): Selenium and the prevalence of Keshan disease and Kashin-Beck direase in China. In: Proceedings of the first International Symposium on Geochemistry and Heelth (ed. I. Thornton). *Science Reviews ltd. Northwood.* U.K.: 192-204.
(21) YANG, G.; CHEN, J., WEN, Z., *et al.* (1984): The role of selenium in Keshan disease. *Advances in Nutrition Researchy.* 6: 203-231.
(22) VARO, P.; ALFTHAN, G.; HUTHUMEN, J. K., ARO, A. (1994): Nationwide selenium supplementation in Finland. Effects on diet, blood and tissue levels and health. In: Selenium in Biology and Human Health. Ed. R. F. Burk. Springer. New York: 197-218.
(23) MITCHELL, P., BARR, D. (1995): The nature and significance of public exposure to arsenic: a review of its relevance to South West England. *Environ. Geochem. Health.* **17:** 57-82.
(24) MARION *et al.* (1976): In: PORTA, J.; LÓPEZ-ACEVEDO, M., ROQUERO, C. (1999). *Edafología.* Ediciones Mundi Prensa. Madrid, p. 224.
(25) MARTYN, C. N.; BARKER, D. J. P.; OSMOND, C.; HARRIS, E. C.; EDWARDSON, J. A., LACEY, R. F. (1989): Geographical relation between Alzheimer's disense and Al in drinking water. *The Laucet,* I, n.º 8629: 59-62.
(26) FIGUEROA, A. (1988): Cromo. Curso básico de Toxicología ambiental. 2.ª ed. Limusa. Mexico: 171-183.
(27) ANDERSON, R. A. (1981): Nutricional role of chromium. *Sci. Total Environ.* **17:** 13-29.
(28) MCDOWELL, L. R. (1992): *Minerals in Animal and Human Nutrition,* **3:** 341-412.
(29) ALLOWAY, B. J. (1995 b): The origin de heavy metals in soils. In: *Heavy metals in soils.* Ed B. J. Alloway. Blackie Academic and Professional. Glasgow: 38-55.
(30) ADAMS, W. A.; CHRISTENSON, C. W., FOWLER, E. B. (1965): Relationship of soil, plant and radionucleidos. In Fowler, E. R., radioactive fallout, soil, plant, man. Elocvier ed.: 30-51.
(31) PEAKE, R. T., HESS, C. T. (1987): Radon and geology: some observations. In: trace substances in Environmental Health. XXI. Proceeding of the 21st Annual Conference. Ed D. D. Hemplill. University of Missouri. Columbia: 186-194.
(32) JONES, R. L. (1995): Soil uranium, basement radon and lung cancer in Illinois. USA. *Environmental Geochemistry and Health.* **17:** 21-24.
(33) OLIVER, M. A., BADR, I. (1995): Determining the spacial scale of variation in soil radon concentration. *Mathematical Geology* **27:** 893-922.
(34) CRAUL, P. J. (1985): A description of urban soils and their desired characteristics. *Journal of Arboriculture* **11:** 330-339.
(35) IBAÑEZ MARTÍN, J. J.; LÓPEZ LAFUENTE, A., IBÁÑEZ MARTÍ, M. C. (2005): *La pérdida y transformación acelerada de la edafosfera: Sellado, Tecnosuelos y Urbisuelos.* II Simposio Nacional. Control de la degradación de suelos. CDS. Madrid, 151-174.
(36) WORLD HEALTH ORGANISATION (1979): *Formulación de estrategias con el fin de alcanzar la salud para todos en el año 2000. Principios básicos y cuestiones esenciales.* Serie «Salud para todos», n.º 2 WHO.
(37) NACIONAL ACADEMY OF SCIENCES (1983): Risk asseement in the Federal Government: Managin the process. *National Academy Press.* Washington, D.C.
(38) U. S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (1989): Risk assessment guidance for superfund. Vol. I: Human Health Evaluation Manual. Tnterim Final. Office of Emergency and Remedial Reponse. EPA/540/2-89/002.

II. Biorremediación y fitorremediación en suelos contaminados

ANTONIO LÓPEZ LAFUENTE



Es Doctor en Farmacia por la Universidad Complutense. Profesor Titular de Edafología y Geología Aplicada en el Departamento de Edafología de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense, del que es actualmente su Director. Director Académico de Estudios de la UCM de 1994 a 1995.

Académico Correspondiente de la Real Academia Nacional de Farmacia.

Son muchos los elementos que deterioran el medio natural, y muchas las actividades del hombre que tienen consecuencias negativas en los recursos naturales de la Tierra. Cada vez es mayor el número de alarmas que se disparan para alertarnos de los riesgos, no existe ningún medio que no esté afectado, o con grandes posibilidades de afectarse, y no existe ninguna solución que garantice la plena resolución de los peligros.

El vertido de sustancias tóxicas se hace cada año más incalculable, los organismos nacionales e internacionales publican cifras aproximadas, que siempre se refieren a millones de toneladas. Esta llegada de miles de compuestos químicos, creados en laboratorios, altera el funcionamiento de los ecosistemas y atenta contra la salud de sus habitantes.

Son cada día mayores las conexiones entre contaminación y salud, ya nadie duda que no podemos soslayar el hecho de que un ambiente contaminado provoca numerosas enfermedades, desde las relacionadas con la piel o el aparato respiratorio (alergias, dermatitis, asmas), a procesos mucho más graves de tipo degenerativo. Como consecuencia de esta situación, la comunidad científica y los poderes públicos deben establecer estrategias que luchen contra la contaminación y su repercusión en nuestra calidad de vida.

Para lograr estas metas, tanto la Organización Mundial de la Salud (OMS) (1) como la Agencia Europea del Medio Ambiente (2) establecen programas a escala mundial que propugnan un ambiente más sano. En ellas se analizan los distintos componentes del medio natural y su relación con la deposición de residuos peligrosos. Entre estos medios está la atmósfera, el agua, tanto superficial como subterránea, y están los suelos.

De los tres elementos que constituyen el medio físico, nos centraremos en el estudio del suelo, que tiene unos condicionantes específicos, pues mientras la composición del aire o del agua se puede medir y responde a valores estándares definidos globalmente, es mucho más complejo definir la calidad del suelo al no tener unos constituyentes fijos que marquen una composición ideal, es más, los parámetros a medir están en función del uso o del lugar que ocupa en el ecosistema, lo que hace más necesario su conocimiento.

Este trabajo pretende dar una visión general de las soluciones que se están investigando para la recuperación de suelos contaminados, concretamente la utilización de técnicas biorremediadoras, es decir, tratamiento del suelo mediante procesos biológicos. Para ello dividiremos el tema en varios apartados. En primer lugar, analizaremos el concepto de suelo y su importancia dentro del medio, en segundo lugar trataremos las causas que originan la contaminación, tanto desde el punto de vista del elemento contaminador, como desde el punto de vista del proceso que tiene lugar. A continuación describiremos las distintas fuentes y tipos de contaminantes, para terminar con la descripción de los efectos y procesos involucrados en la reducción o eliminación de sustancias tóxicas por medios biológicos.

1. CARACTERÍSTICAS DEL SUELO

El suelo es la parte superficial de la corteza terrestre entre la roca y la atmósfera que está dotada de una gran complejidad, tanto estructural como funcional. Esto es debido a las mutuas relaciones que se mantienen entre la biocenosis edáfica (seres vivos en el interior del suelo) y el sustrato físico y químico donde se desarrolla. Todo ello constituye una unidad que debe ser analizada en su conjunto si pretendemos aproximarnos al estudio del suelo. La dinámica de las comunidades biológicas está directamente relacionada con el soporte abiótico, de forma que ambas estructuras tienen un componente común que es el de la evolución. A veces se olvida que la estructura abiótica del suelo puede y debe entenderse como un sistema abierto, susceptible de evolucionar, unas veces, hacia estados más complejos, y otras, cuando las condiciones modifican el medio, hacia formas menos diferenciadas.

La consideración de que el suelo es un sistema se remonta a 1941 cuando Jenny (3) formula la ecuación de los factores formadores, donde expresa la relación entre las propiedades del suelo y los factores externos edafogenéticos.

El suelo es un sistema abierto porque recibe y pierde materiales y energía de su entorno, y como la mayor parte de los sistemas abiertos es jerárquico. Smeck (4) señala que el mecanismo edafogenético expresa un descenso de la entropía del sistema. Ibáñez (5) (6), realiza una interpretación de los procesos formadores de la horizonación desde la perspectiva de la termodinámica del no equilibrio. Estos autores llegan a la conclusión de que existe una estrecha relación entre la evolución termodinámica de la corteza terrestre y la de los suelos que la recubren. En definitiva, el suelo puede considerarse como un sistema que se acerca o se aleja del equilibrio, y que su funcionamiento está relacionado con el dinamismo de la corteza terrestre, derivado de los procesos bio-geo-químicos que en ella tienen lugar.

Cuando los materiales de la corteza terrestre entran en contacto con la atmósfera, sufren una serie de transformaciones físico-químicas para alcanzar un equilibrio estable con el nuevo ambiente. La incorporación de restos orgánicos procedentes de la biosfera origina lo que denominamos suelo. Aparece el concepto de edafosfera como la interfase litosfera-atmósfera-biosfera, que tras los procesos de alteración conducen a la formación de un sistema que se autoorganiza originando una serie de capas u horizontes que constituyen el pedión. Éste surge como resultado de la incorporación, salida, transformaciones y movilizaciones de materia y energía.

Según este concepto, el suelo trasciende de ser un mero elemento del ecosistema para definirse como una parte de la corteza terrestre denominada edafosfera. No cabe duda que en este contexto, la edafosfera posee las suficientes peculiaridades estructurales y evolutivas para poder ser considerado como un subsistema independiente, aunque se incluya en el sistema bio-geológico. De este modo, el concepto de suelo integra los elementos que constituyen la biocenosis con los que constituyen el sustrato.

Como conclusión, se puede afirmar que una definición precisa de suelo es difícil, debido a su naturaleza heterogénea. En general, las definiciones que se dan son de tipo descriptivo. «*Suelo es la capa superficial de la corteza terrestre de naturaleza orgánica e inorgánica en equilibrio dinámico con la atmósfera, biosfera y litosfera. El suelo actúa como aceptor y proveedor de agua y nutrientes para las raíces, como espacio vital para una gran comunidad de organismos y animales, como depurador del medio natural y como fuente de materiales para la construcción. Asimismo, el suelo es un componente básico del ecosistema, que al tiempo condiciona su evolución*».

Analizado el concepto de suelo, describiremos a continuación el concepto de calidad de suelo, término muy utilizado en los últimos años, que pretende definir unos patrones que permitan delimitar las condiciones del sustrato.

Las aproximaciones para definir la calidad de un suelo deberían ser similares a aquellas que se utilizan en la calidad del agua. Por ejemplo, deseamos agua lo suficientemente pura y natural para que pueda ser bebible, pero no tienen

que ser todas las aguas superficiales igual de puras. A menudo, las aguas superficiales se evalúan más por su disponibilidad como soporte de vida acuática que por su uso como agua de bebida. En uno u otro caso, los contenidos cualitativos y cuantitativos de los elementos constitutivos del agua son conocidos, y puede valorarse su presencia y determinar sus consecuencias.

Este principio es más difícil aplicarlo en el caso de los suelos, su heterogeneidad en la composición y en las funciones hace que haya una variabilidad enorme de un suelo a otro, por tanto no se pueden establecer estándares globales que definan un estado ideal. Además, determinar cuáles son los indicadores que definan la calidad, es a menudo un juicio subjetivo, que depende, en la mayor parte de los casos, del uso que le demos. En general, el término «calidad del suelo» va más dirigido a las funciones que tenga en un medio específico, que a sus constituyentes y composición.

Partiendo de estos conceptos, son muchas las definiciones que los diferentes autores establecen, incluso estas diferencias también aparecen entre las distintas formas de concebir el suelo que tienen distintos países. Así, en Estados Unidos el término calidad del suelo incluye fertilidad del suelo, productividad potencial, recurso sostenible y calidad ambiental (7). En Europa y Canadá son los niveles de contaminación y sus efectos los términos más utilizados (8), (9) y (10).

De cualquier forma son las funciones y no la composición quien determina los niveles de adecuación al medio. Larson y Pierce (11) afirman que la calidad del suelo está relacionada con el buen funcionamiento que el suelo tiene dentro de los límites de los ecosistemas y su interacción positiva con el medio externo. Dan al suelo tres funciones esenciales: medio para el desarrollo de plantas, regulación de las capas freáticas y filtro natural. Arshad y Coen (12) relacionan calidad con capacidad de almacenaje y reciclado de agua, minerales y energía para la producción de buenas cosechas, al tiempo de preservar un ambiente saludable. Son pues, suelo, clima e hidrología, los factores que contribuyen a la calidad y sugieren, además, qué factores socioeconómicos, como uso, manejo, actividades industriales o de ocio, deben tenerse en cuenta al analizar la calidad. Doran y Parkin (13) incluyen términos de salud para animales y plantas, y reconocen al suelo el papel protector de la calidad de aire y agua, así como su función para fomentar la salud humana.

Esto mismo lo ratifica la Soil Science Society of America Ad Hoc Committee on Soil Health (14), quien propuso que en la definición de calidad del suelo se tengan en cuenta su capacidad de ser un elemento fundamental de los ecosistemas, ser medio para el desarrollo de plantas y animales, mantener y aumentar la calidad de aire y agua y su fundamental contribución a la salud humana (15). Esta amplia definición lleva implícita cinco funciones del suelo que deben ser analizadas para determinar su calidad: (I) sustento de la actividad biológica, de la diversidad y de la productividad; (II) regulación y reparto del agua y capas solubles; (III) filtro, barrera, degradación, inmovilización y desintoxicación de materiales orgánicos e inorgánicos, incluidas las deposiciones de origen indus-

trial o urbano, así como de origen atmosférico; (IV) almacenado y reciclado de nutrientes y otros elementos de la biosfera; (V) soporte de estructuras socioeconómicas y protector de tesoros arqueológicos asociados a la actividad humana.

Ahora bien, la dificultad en establecer el concepto de calidad del suelo no sólo está ligada a la ambigüedad de su definición, si no también a la ambigüedad en la definición de sustancias contaminantes. Como veremos más adelante, un elemento puede ser contaminante si su concentración alcanza un determinado nivel, o si su estado químico está en disposición de poder entrar en la cadena trófica. La identificación del elemento, su estado y su concentración, determinará su peligrosidad, que debe ser, en principio, independiente de que sea sintético o natural, pues hay sustancias naturales que pueden llegar a ser mucho más tóxicas que los compuestos sintéticos. Estos últimos, a menudo se han obtenido a partir de sustancias naturales, por ejemplo, el crudo es un producto natural, pero los derivados del petróleo, como la gasolina, son sintéticos y, sin embargo, pueden ser degradados a formas químicas naturales.

2. CAUSAS DE LA CONTAMINACIÓN

Las sustancias que llegan al suelo tienen diversas procedencias, unas veces son consecuencia de actividades naturales, y otras producto de actuaciones humanas. En ambos casos, las sustancias pueden llegar a la superficie o al interior del perfil. A la superficie llegan, en su mayor parte, por deposiciones naturales, vertidos antrópicos, deposición aérea, lluvia y deposición fluvial. En el interior del suelo los contaminantes proceden de infiltrados, transformaciones *in situ,* o ascenso capilar de capas freáticas más profundas.

Los contaminantes, una vez depositados en superficie, pueden volatilizarse, infiltrarse, biodegradarse o ser trasladados a otras zonas por organismos vivos o por escorrentía. Las sustancias que se infiltran pueden atravesar el sustrato sin reacción con los constituyentes del suelo, o interaccionar con ellos, en este caso, los elementos extraños pueden ser neutralizados, degradados, adsorbidos, complejados o precipitados. Como resultado final se produce la retención de las sustancias o su movilización, bien en el interior del suelo, bien a través de sus lixiviados a las capas freáticas. Por otra parte, el suelo no es selectivo y puede actuar sobre compuestos orgánicos e inorgánicos, aniones y cationes, ácidos y bases, oxidantes y reductores, metales, sales, partículas coloidales, microorganismos, etc.

El movimiento y destino del compuesto a lo largo del perfil está condicionado por numerosos y complejos procesos físicos, químicos y biológicos que, en muchos casos, para su estudio requiere del apoyo de otras ciencias, como las matemáticas o la física. Las relaciones entre el tamaño y composición de los agregados del suelo, el grado de humectación del medio, o las características del fluido, condicionan procesos de transporte, disolución, transformación o reten-

ción que tienen lugar en el interior del suelo. Y no podemos olvidar que todos estos procesos se realizan con la intervención del agua del suelo, que es el medio donde, bien en forma de suspensión, bien en forma de solución, los contaminantes utilizan para su movilización, y es el agua junto a la temperatura, quienes determinaran las reacciones que tienen lugar.

Tres son los procesos que pueden darse en el suelo ante la llegada del nuevo elemento: transporte, retención y transformación.

2.1. Transporte

El transporte de contaminantes en el suelo depende, en gran medida, de cómo es el movimiento del agua en su interior, es decir, de su evolución espacial y temporal en el terreno. Los contaminantes se encuentran en el suelo en diferentes fases, por lo que su desplazamiento en él está condicionado por la movilidad de estas fases y por la interacción entre ellas. Cuando el agua fluye a través de las partículas sólidas del medio poroso, y con ella las sustancias que se encuentran disueltas, experimenta el complejo proceso de dispersión hidrodinámica. Además, la difusión iónica o la molecular contribuyen al movimiento de las especies químicas desde áreas de concentraciones mayores a áreas de concentraciones menores.

Son, por tanto, dos los procesos que tienen lugar en el interior del suelo: dispersión y difusión.

Las variaciones locales del flujo de agua en el suelo se producen como consecuencia del fenómeno de la dispersión. Ésta se origina por los cambios en la velocidad de la solución cuando atraviesa poros de distintos tamaños, formas y orientación, así como por la concentración inicial del contaminante. El grado de propagación está normalmente relacionado con el tiempo de tránsito del soluto y está limitado por el proceso de difusión molecular, que es responsable del movimiento transversal de solutos en áreas con distintos gradientes de concentración, y puede contrarrestar la propagación vertical de contaminantes causada por la velocidad del flujo longitudinal. La dispersión origina que pequeñas cantidades de contaminantes puedan ser transportados rápidamente a través del suelo. Como norma general, la dispersión aumenta con la velocidad del flujo del agua, con el tiempo y con la profundidad del suelo.

La difusión molecular o iónica es uno de los mecanismos más importantes de transporte de contaminantes en los suelos donde el flujo de agua es pequeño. De acuerdo con la primera ley de Fick, el movimiento de solutos a través de medios porosos por difusión de una solución libre (entendiendo por solución libre aquella que no está afectada por fuerzas externas distintas de la gravedad), es directamente proporcional al gradiente de concentración, al área de sección del poro y al tiempo, pudiéndose expresar por la siguiente ecuación:

$$J_{dif} = -D_o \frac{\partial C}{\partial c}$$

donde, J_{dif} es la densidad de flujo o velocidad de transporte expresada como unidad de masa por unidad de área y por unidad de tiempo ($ML^{-2}T^{-1}$); D_o es el coeficiente de difusión molecular de una solución libre (L^2T^{-1}); C es la concentración del contaminante (ML^{-3}) y χ es la distancia en la que tiene lugar la transferencia (L). El cociente $\frac{\partial C}{\partial c}$ es el gradiente de concentración, y está afectado por el signo menos debido a que la transferencia tiene lugar en el sentido de las concentraciones decrecientes.

Esta ecuación es aplicable asumiendo que el medio está formado por una matriz sólida continua, y que la geometría de los poros no varía durante el proceso de transferencia. Sin embargo, el suelo es un sistema poroso complejo: las diferencias en los diámetros, la tortuosidad de los recorridos, las distintas composiciones de los agregados, las proporciones elevadas de huecos producidos por grietas, raíces o túneles de lombrices, hace que tenga un comportamiento frente al agua diferente del de una matriz rígida. No obstante, hemos de tener en cuenta que la aplicación de estos modelos tiene interés para explicar aspectos importantes como son el movimiento o el retraso del fluido de contaminantes, o efectos de la compactación en la infiltración (16).

Un mecanismo que también debemos considerar al tratar el transporte de contaminantes es el de la volatilización. Los elementos se volatilizan cuando, estando en la fase líquida o en la fase vapor del suelo, pasan de la superficie a la atmósfera. La volatilización se explica a partir de la Ley de Henry (17), que describe el equilibrio en la distribución de especies entre la fase líquida y la fase vapor, expresado por la relación entre la concentración del elemento en fase vapor y en fase líquida a temperatura ambiente y presión atmosférica. Un valor alrededor de 0.0001 indica que el compuesto químico es altamente volátil (18).

2.2. Retención

La retención también se conoce con el nombre de sorción y tiene una relación directa con la biodisponibilidad y la degradación de los elementos tóxicos (19).

Cuando un compuesto llega al suelo, en función de sus características, ocupa un lugar en alguna fase del sistema. Es en la fase sólida donde tienen lugar los procesos más complejos de adaptación y son, fundamentalmente, los minerales de la arcilla y la materia orgánica los constituyentes más activos, al presentar cargas en la superficie que permiten la unión con los compuestos químicos incorporados.

Este fenómeno superficial tiene lugar cuando el elemento sólido del suelo no está eléctricamente neutro y tiende a ganar o perder electrones para alcanzar el equilibrio. El tipo de estructura, el grado de alteración, o la facilidad de disociarse los grupos funcionales, son los factores que determinarán el grado de unión que se produce.

Por otra parte, también influyen en este proceso el tipo de carga y el medio en el que se originan. Así, cargas producidas como consecuencia de la diferencia de valencia entre los elementos sustituyentes y sustituidos, genera un exceso de electrones libres en la superficie del cristal que se manifiesta como una determinada densidad de carga superficial, característica de cada mineral, y que tiene un carácter permanente. Esta densidad de carga es tanto mayor cuantas más sustituciones isomórficas hayan tenido lugar. Cuando la carga varía con el pH y con el tamaño de partícula, su origen es distinto al de las sustituciones isomórficas, y se debe a la rotura de los bordes del cristal y/o a la disociación de protones de grupos hidroxilos (–OH).

Para los compuestos orgánicos del suelo la unión con los elementos contaminantes se genera como consecuencia de la disociación y posterior unión con los iones H^+, de los grupos funcionales hidroxilo (–OH), carboxilo (–COOH), fenólico ($–C_6 H_4 OH$) y amina ($–NH_2$).

Son diversos los mecanismos que tienen lugar en el interior del suelo para la retención de compuestos químicos, aunque los más importantes, por afectar a muchos compuestos, son la adsorción y el intercambio iónico.

El primero de ellos se define como la asociación de sustancias, ya sean moléculas, átomos o iones, a las superficies de los receptores (interfase sólido-líquido). La sustancia que se concentra en la superficie o se adsorbe se llama «adsorbato» y la fase adsorbente se llama «adsorbente». En los mecanismos que dan lugar a esta asociación se encuentran implicadas: fuerzas de Van der Waals, y/o fuerzas de enlace por puentes de hidrógeno, cuando se trata de moléculas, y enlace iónico y/o enlace covalente, para el caso de átomos o iones.

Cuando la adsorción tiene lugar como consecuencia de fuerzas de Van der Waals se llama adsorción física, y en este caso la molécula no se fija en un lugar específico de la superficie, sino que se encuentra libre en la interfase. Si el absorbato interacciona químicamente con el adsorbente, el fenómeno se denomina quimisorción, la energía de adsorción, en este caso, es muy elevada y la fuerza de retención es mayor.

Para conocer la relación existente entre el compuesto retenido y el que está en solución, se recurre a aproximaciones experimentales de equilibrio mediante el empleo de métodos de laboratorio: experiencias en «batch» y métodos con la utilización de columnas (20). En ambos casos se obtiene el índice de retención, para lo cual se pone en contacto el suelo con una solución acuosa del contaminante a concentración conocida. En el primero de los métodos mediante agitación y en el segundo mediante el tránsito de la solución por la columna con

suelo en proporciones y densidad conocidos. Los resultados experimentales pueden describirse teóricamente mediante «isotermas de adsorción», donde se representan gráficamente la relación entre la concentración del contaminante retenido y la concentración en equilibrio. Estas isotermas se pueden clasificar en cuatro tipos, ilustradas en Figura 1 (21):

Isoterma tipo-L (Langmuir). Describe una situación cercana a la ideal, se ajusta bien a bajas concentraciones, es decir, cuando el recubrimiento del sólido es muy bajo. Esta isoterma refleja una alta afinidad entre el adsorbato y el adsorbente y es normalmente indicativa de quimisorción. La representación gráfica de esta isoterma es una curva que se caracteriza por una pendiente inicial que no aumenta con la concentración de adsorbato en la solución del suelo. Su forma es cóncava al eje de concentración debido a la combinación de factores estéricos y de afinidad.

Isoterma tipo-S. Se caracteriza por una pendiente inicial pequeña que incrementa con la concentración de especie adsorbible. Esta isoterma sugiere que la afinidad de los constituyentes del suelo por el contaminante es menor que la que tiene la solución acuosa por las especies adsorbibles. Cuando aplicamos este tipo de isotermas a un elemento como el Cu^{+2} observamos una competencia entre la materia orgánica soluble y las partículas del suelo, de forma que cuando la concentración de Cu^{+2} excede la capacidad complejante de los ligandos orgánicos, es la superficie de las partículas del suelo la que comienza a adsorber cobre, adquiriendo la isoterma la forma de S.

Isoterma tipo-C. Se caracteriza por presentar una pendiente inicial que permanece independiente de la concentración adsorbida. Este tipo de isoterma puede ser debida a un reparto constante de la sustancia adsorbible entre la región interfacial y la solución del suelo.

Isoterma tipo-H. Se caracteriza por una fuerte pendiente inicial, indicativa de una alta interacción adsorbato-adsorbente (quimisorción), es en realidad un

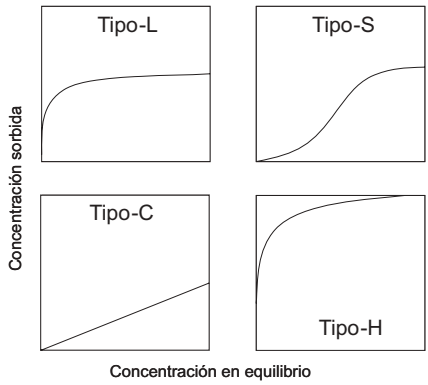


FIGURA 1. *Clasificación de isotermas de adsorción (en: Handbook of Soil Science, 2000).*

caso extremo de la isoterma tipo-L. Esta isoterma se produce generalmente en los casos en los que el ión no está solvatado, el complejo de superficie se denomina de esfera interna (Sposito, 1989). Este tipo de complejo es muy estable ya que se debe a enlaces iónicos, a enlaces covalentes, o a la unión de ambos.

El segundo mecanismo de importancia en la retención de elementos contaminantes es el del intercambio iónico, por el cual el ión de un mineral es reemplazado por otro ión que esté en la solución del suelo, en otras palabras, contaminantes en la fase líquida pueden sustituir a iones estructurales de una sustancia mineral.

La existencia de superficies cargadas exige que haya iones de signo contrario, como ya vimos anteriormente, relacionados con tales superficies para que se cumpla el principio de electroneutralidad del sistema. Los iones en la fase líquida pueden encontrarse unidos o no a moléculas de agua, formando iones solvatados o no solvatados. Son los iones solvatados los que establecen uniones muy débiles con el adsorbente, de tal forma que pueden ser desplazados por otros iones en solución. Se trata pues de un fenómeno regulado por un equilibrio dinámico entre los iones adsorbidos en la superficie del adsorbente (minerales de la arcilla y materia orgánica, fundamentalmente) y los iones en solución.

En general, este proceso se caracteriza porque las reacciones de intercambio que tienen lugar son reversibles, estequiométricas, rápidas y cumplen la ley de acción de masas.

Además de los procesos de adsorción e intercambio, la precipitación química es otro de los mecanismos que intervienen en la retención. Ésta adquiere importancia en suelos muy contaminados, en los que la concentración del elemento supera su producto de solubilidad, originando un nuevo compuesto cristalino. Las condiciones de saturación pueden ser calculadas mediante la relación entre el producto de actividad iónica del elemento en estado soluble (IAP) y el producto de solubilidad (K_{so}) del compuesto cristalizado (carbonatos, sulfuros, óxidos e hidróxidos, etc.). Cuando la relación $IAP/K_{so} = 1$, nos encontramos en situación de equilibrio químico; valores por encima de 1 indican estados de sobresaturación, que favorecen la precipitación; valores por debajo de 1 reflejan subsaturación en relación a la fase cristalizada (22).

2.3. Transformación

En el suelo se producen numerosos procesos de transformación, por ellos el suelo alcanza desarrollos sucesivos a lo largo del tiempo y evoluciona hacia formas más complejas de organización, o hacia estadios más avanzados de alteración.

Mineralización, meteorización, humificación, cementación, argilización, iluviación, son algunos de los procesos transformadores que modifican las caracte-

rísticas del medio. Hidrólisis, hidratación, oxidación, reducción, dehalogenación, demetilación, nitrificación, son algunas de las reacciones que tienen lugar entre los constituyentes del suelo. En todos y cada uno de los casos intervienen tantos elementos que hace difícil explicar la importancia de cada uno de ellos en este artículo. Por tanto, nos referiremos solamente a los procesos de mineralización y humificación por su trascendencia en las técnicas de biorremediación.

La mineralización es una transformación completa de elementos orgánicos en formas inorgánicas, como resultado de la actividad de los microorganismos. Su estudio está generalmente dirigido a caracterizar los caminos y la cinética de degradación química de los compuestos. Identificar los procesos que tienen lugar en las etapas intermedias de alteración, señalar los compuestos que se obtienen y determinar las variaciones en función de las condiciones ambientales, es necesario para identificar la especie química y valorar su toxicidad. En estos estudios deberemos tener en cuenta todos los parámetros que intervienen en la modificación del medio, tales como temperatura, humedad del suelo, aireación, pH o conductividad, pues pueden cambiar el sentido de la reacción.

Si la mineralización es el último proceso de la transformación, no cabe duda que es la humificación el mecanismo transformador más importante que tiene lugar en el suelo para la alteración de los restos orgánicos. El proceso de la humificación implica cambios en la complejidad química de la materia orgánica que hace aumentar la resistencia a la biodegradación (23). El término humus, producto de la humificación, se utiliza en sentido amplio para indicar las sustancias orgánicas que resultan como consecuencia de la alteración de los restos orgánicos. Dos son los tipos de sustancias que se forman: sustancias «no húmicas», incluyen azúcares, aminoácidos, polisacáridos y proteínas, entre otras, y sustancias «húmicas», que incluyen a sustancias de carácter ácido, predominantemente aromáticas, hidrófilas y de elevado peso molecular.

En la humificación pueden tener lugar reacciones químicas (oxidación, condensación y polimerización), procesos biológicos y de síntesis microbiana, con formación de compuestos que no se forman en las células vivas y que son constituyentes típicos del suelo. Su estudio es imprescindible para conocer los procesos de transformación y determinar los caminos que pueden seguir los contaminantes orgánicos que llegan al suelo, así como la influencia de la materia orgánica en los procesos de biorremediación.

Es importante señalar que el análisis de los elementos obtenidos como producto final de la transformación biológica es imprescindible, pues no siempre el compuesto transformado es menos tóxico que el contaminante original, especialmente si su concentración es extremadamente alta, por ello las experiencias en campo y laboratorio son prácticas necesarias en la investigación de estos mecanismos.

Ahora bien, hemos de ser conscientes que el estudio de las cinéticas de transformación es complejo, tanto si lo hacemos *in situ* como si lo hacemos *ex*

situ. Por ejemplo, una de las principales limitaciones de los estudios en el laboratorio para caracterizar las reacciones de transformación es que la velocidad de degradación está condicionada por las condiciones particulares que ponemos en la incubación de la muestra. Si las condiciones son ideales, pH, humedad, temperatura, etc., se puede obtener un potencial de degradación para un compuesto que no representa las condiciones naturales. Si por el contrario realizamos las experiencias en el campo, las condiciones experimentales son difícilmente generalizables, ya que la variabilidad es muy grande y condiciones puntuales hacen variar en gran medida los resultados. Por ello, es necesario la utilización de ambas técnicas para obtener un número suficientemente elevado de datos, que permita modelizar los resultados y realizar previsiones válidas de cuál será el destino de los contaminantes en el suelo.

De cualquier forma, hay que resaltar la capacidad autorreguladora que tiene el suelo, la actividad biológica, con alrededor de 10^{10} bacterias y hongos por gramo de suelo, la actividad química y la capacidad de filtración que favorece la adsorción y el intercambio, hace que en el suelo tengan lugar los procesos cuantitativamente más importantes en la degradación de contaminantes.

3. FUENTES Y TIPOS DE CONTAMINANTES

La contaminación del suelo, de manera global, ha generado una serie de impactos sobre el hombre y los ecosistemas en distintas formas. Así los tipos de contaminantes y sus orígenes condicionan consecuencias, unas veces detectadas a corto plazo, debido a una contaminación puntual a un tóxico conocido, y otras no detectables con inmediatez, pero con efectos devastadores en el futuro. Debido a que estas diferencias tienen que ser conocidas para buscar las soluciones, haremos una breve descripción de la naturaleza de aquellas sustancias contaminantes que tienen mayor incidencia.

La contaminación de suelos puede clasificarse en función de su origen: natural (erupciones volcánicas, incendios naturales, deposiciones, productos de reacciones químicas y/o biológicas, etc.), o antropogénicas (derivadas de actuaciones del hombre en cualquiera de sus actividades, agrícola, industrial, urbana, etc.). Los contaminantes pueden ser inorgánicos u orgánicos, y su toxicidad puede ser primaria, si procede de la fuente original, o secundaria si es producto de alguna transformación en el interior del suelo.

La denominada contaminación natural, o endógena, de carácter inorgánico se debe al desequilibrio que se produce cuando hay una acumulación de un componente inorgánico del suelo en concentraciones nocivas para las especies vivas. Por ejemplo, como consecuencia de precipitaciones ácidas sobre suelos con altas proporciones de Gibsita, se produce una movilización del Al^{3+}, que origina efectos tóxicos sobre plantas, aguas y animales. También, en suelos desarrollados próximos a zonas ricas en piritas, puede suceder un efecto pare-

cido. La oxidación del sulfuro de hierro puede producir una acidificación del medio que favorece la movilización de metales. No obstante, las situaciones más graves son las que se derivan de la contaminación debida a la actividad humana.

La legislación española recoge en la Ley 10/1998 sobre Residuos Tóxicos (24), la definición de suelo contaminado, *«suelo contaminado es todo aquel cuyas características físicas, químicas o biológicas han sido alteradas negativamente por la presencia de componentes de carácter peligroso de origen humano, en concentración tal que comporte un riesgo para la salud humana o el medio ambiente».*

La ley relaciona veintinueve grupos de productos tóxicos que se dividen en compuestos tóxicos de naturaleza orgánica y compuestos tóxicos de naturaleza inorgánica, todos ellos representan un elevado nivel de riesgo para la vida. Por no hacer una prolija descripción presentamos el siguiente cuadro donde se resumen los contaminantes más generalizados, su procedencia y efectos (Tabla 1).

Tabla 1. *Clasificación de contaminantes en suelos*

Tipo de compuestos	*Procedencia*	*Capacidad de dispersión*	*Efectos tóxicos*
Metales pesados (Cd,Pb,Cr,Hg). Cianuros, Ácidos, Hidrocarburos	Industrias manufactureras. Granjas. Fumigación. Minería	Generalmente baja a moderada	Enfermedades del sistema nervioso. Cáncer
Hidrocarburos, Ácidos, Álcalis	Estaciones de servicio. Refinerías	De baja a moderada	Cáncer
Sales, Residuos plásticos, Álcalis, Residuos biológicos	Vertederos urbanos	De moderada a alta	Daños del sistema nervioso. Cáncer
Hidrocarburos, Plásticos, Metales, Cianuros, Aminas	Industrias automovilísticas	De moderada a alta	Daños en el sistema nervioso. Cáncer
Hidrocarburos aromáticos, Fenoles	Industrias metalúrgicas	De baja a moderada	Cáncer
Hidrocarburos simples, aromáticos, Semiconductores (As, Zn, Cd)	Transformadores eléctricos	Baja a moderada	Cáncer
Dioxinas, Metales pesados	Combustión de gasolinas	Baja	Formación de tumores

En esta clasificación se dividen los contaminantes en siete grandes apartados, en función de sus características químicas y procedencias. Añade, asimis-

mo, su capacidad de movilización y algunos efectos negativos sobre la salud humana (25).

Como podemos observar en el cuadro, son muchos los elementos que intervienen en la contaminación de los suelos, aunque hay que tener en cuenta para su estudio, el nivel de riesgo que representa cada uno de ellos. Por ejemplo, la presencia en el suelo de potenciales contaminantes, como es el caso de algunos iones metálicos, no necesariamente tiene un efecto perjudicial. Su carácter de micronutriente les hace necesarios para el crecimiento de las plantas. En estos casos hemos de analizar el límite en la concentración, a partir del cual se pone en peligro la salud pública y/o los ecosistemas.

En general, los metales pesados llegan al suelo como consecuencia de vertidos procedentes de actividades industriales, aplicación de pesticidas o procedentes del tráfico rodado. De forma global, los metales que son vertidos en mayor cantidad son: Mn, Zn, Cu, Cr, Pb, Ni, V, Mo, As, Hg. Su grado de contaminación, una vez en el suelo, depende, como ya dijimos anteriormente, del estado en que se encuentre y de las condiciones del medio.

Un ejemplo de alta toxicidad lo encontramos en la presencia de Hg. Cuando este elemento llega al suelo precipita en forma de $Hg(OH)_2$. En estas condiciones su toxicidad es baja, pero en medios no muy oxidantes el Hg (II) puede reducirse, primero a ión mecurioso y luego a mercurio metálico, el cual es muy volátil y puede difundirse por los poros del suelo. Ahora bien, no es esta la única posibilidad, también el Hg puede movilizarse, a través de su metilación se forma metilmercurio, compuesto organometálico liposoluble de elevada toxicidad, ya que puede atravesar con facilidad las membranas biológicas y, en particular, la piel, incorporando el metal a la cadena trófica (26). Otros metales susceptibles de un proceso parecido son Pb, As y Cr, iones metálicos que encontramos en concentraciones elevadas en los suelos contaminados.

Los fertilizantes son otros de los elementos importantes en los procesos de contaminación. El problema deriva de una aplicación abusiva con el fin de aumentar el rendimiento de las cosechas.

Los fertilizantes contienen nitrógeno, fósforo y potasio (NPK), además de otros componentes orgánicos, bien por separado, bien formando distintas mezclas. Entre los elementos inorgánicos es el contenido en nitrógeno el que más puede afectar. La alta solubilidad de las sales empleadas (nitratos), posibilita que se produzca la lixiviación del anión, y más teniendo en cuenta la baja capacidad de retención que tienen los suelos para las partículas cargadas negativamente. La llegada a las capas freáticas o a las aguas superficiales en concentraciones elevadas de nitrógeno, puede originar la eutrofización del medio.

Otro tipo de contaminación es la debida a la presencia de compuestos orgánicos de origen antropogénico, su alta variabilidad y su compleja composición hacen que estos tóxicos adquieran relevancia en la conservación del medio natural. Vertidos accidentales de hidrocarburos derivados del petróleo y la uti-

lización de fitosanitarios para la lucha contra las plagas (insecticidas, fungicidas, herbicidas, etc.), favorecen la llegada al suelo de compuestos orgánicos muy diversos. Su composición química y sus propiedades físico-químicas, como la polaridad, solubilidad o volatilidad, condicionan la posibilidad de biodegradación. En general, los compuestos orgánicos son más fácilmente biodegradables y la experiencia en este tipo de recuperación es grande. Por ejemplo, durante los últimos treinta años se ha venido utilizando con éxito la biorrecuperación en el tratamiento de suelos contaminados con petróleo (27).

En este sentido, estudios recientes han demostrado que algunos compuestos químicos, que se pensaba eran resistentes a la degradación, como ciertos hidrocarburos clorados, caso del tricloroetileno y determinados bifenilos policlorados (PCB), pueden ser biodegradables, al menos en el laboratorio. Otros compuestos que en la actualidad constituyen objetivos de la biorrecuperación son: (I) disolventes, tales como acetona y alcoholes; (II) compuestos aromáticos como benceno, tolueno, etilenbenceno y xileno, conocidos como BTEX, así como hidrocarburos aromáticos polinucleados (HPA) y el clorobenceno; (III) nitrofenoles y clorofenoles; (IV) fitosanitarios (28).

Entre los compuestos orgánicos que más frecuentemente se encuentran en los suelos y también en las aguas subterráneas están los hidrocarburos aromáticos (BTEX), como resultado de vertidos o fugas, y los compuestos alifáticos clorados, tales como el tetracloroetileno o percloroetileno (PCE), el tricloroeteno (TCE) y el 1,1,1-tricloroetano, utilizados en la industria como desengrasantes (29).

4. BIORREMEDIACIÓN

Una vez analizadas las características del suelo, y señaladas las fuentes de contaminación, se analizan a continuación algunas de las técnicas utilizas para la limpieza de suelos contaminados.

La recuperación de suelos contaminados es uno de los aspectos de la rehabilitación ambiental que menos interés ha tenido en el pasado. La abundancia de tierras permitía el abandono de zonas con riesgo de contaminación o su reutilización para usos alternativos. En los últimos años la cantidad de suelos contaminados ha ido creciendo de forma alarmante, los estados comienzan a preocuparse y la Comunidad Europea en el año 1986 (30), publica la directiva relativa a la protección del medio, e incluye de forma específica el suelo.

Hoy día el tratamiento de suelos contaminados es una realidad, las técnicas a emplear son cada vez más estudiadas, soluciones como el traslado del suelo a vertederos, o el encapsulado (construcción de barreras para impedir su extensión), están muy cuestionadas. Otras técnicas, como la solidificación (empleando cemento, cal, resinas termoplásticas), o la vitrificación (sometimiento a altas temperaturas para convertir los contaminantes en vidrios), se utilizan en mayor grado, aunque no están exentas de inconvenientes.

Actualmente, los métodos que se están probando con más éxito son los que dejan al suelo con propiedades semejantes a las que tenía antes de la contaminación. Para ello es necesario conocer bien las características del suelo y el tipo de tóxico que lo contamina.

Básicamente, se distinguen cuatro tipos de metodologías: extracción con un fluido, ya sea líquido, vapor o gas; tratamiento químico; tratamiento térmico y tratamiento biológico. En general, las técnicas se pueden hacer *in situ,* es decir, en el mismo lugar donde se produce la contaminación, o *ex situ,* en un lugar distinto, lo que requiere el transporte y la modificación de las condiciones naturales.

De todas las posibles técnicas, nos centraremos en los tratamientos biológicos o tratamientos por biorremediación. Esta técnica se basa en favorecer los procesos microbiológicos que de una forma natural se producen en el suelo y que conllevan la degradación de los contaminantes. El objetivo final es conseguir la mineralización de los contaminantes, esto es, transformar los compuestos químicos nocivos en compuestos inocuos, tales como dióxido de carbono, agua, o materia celular.

Son muchas las dificultades a superar para que la biorremediación tenga el éxito esperado. Una de ellas es el tiempo que se utiliza para la transformación, la vida media (tiempo que tarda en transformarse el 50% de un contaminante) de un hidrocarburo varía entre 6 y 230 días. En general, se puede decir que, cuanto más pequeña sea la molécula, más soluble y de composición más simple, más rápidamente se biodegrada, y que, en compuestos con moléculas de mayor peso molecular, menor solubilidad y mayor fuerza de adsorción, la biorremediación, o bien no es posible, o bien es muy lenta.

Adecuar las condiciones físico-químicas del suelo para favorecer el crecimiento de los microorganismos es otro factor básico. Hemos de tener en cuenta que un horizonte A con proporciones equilibradas de carbono, oxígeno y nutrientes, puede contener entre 10^7 y 10^9 microorganismos por gramo de suelo. Esto hace que antes de empezar la biorremediación sea necesario tratar el suelo. Así, es frecuente añadir N y P como nutrientes; mantener el pH entre 6 y 8; asegurarse la presencia de oxígeno; mantener el grado de humedad entre el 70 y el 80% de la capacidad de campo y controlar la temperatura del suelo. Generalmente, a temperaturas superiores a los 40º C se empieza a producir la desnaturalización de enzimas y proteínas de los microorganismos, así como por debajo de 0º C muchos pierden su actividad (31).

4.1. Microorganismos en la biorremediación

Cuando aplicamos el término de microorganismos al referirnos a células de vida libre, estamos incluyendo a todos los procariotas y a los eucariotas unicelulares: protozoos, algas y hongos. Los microorganismos están presentes en los

medios naturales y son responsables de la mayor parte de los ciclos de compuestos como carbono, nitrógeno, azufre y fósforo. Todos estos microorganismos juegan un papel muy importante en los procesos de biorremediación. Analizaremos cada uno de estos grupos destacando las características que los identifica.

4.1.1. *Bacterias*

Las bacterias son el grupo de organismos más abundantes en el suelo, miles de especies han sido identificadas y probablemente habrá otras miles sin identificar. Debido a su diversidad, las bacterias se encuentran en comunidades heterogéneas, algunas son degradadores primarios, esto es, inician la degradación de los compuestos orgánicos en los suelos, y otras especies crecen en los compuestos resultantes de una primera degradación parcial.

Estructuralmente, las bacterias se caracterizan por tener una capa exterior poco organizada compuesta principalmente por polisacáridos (capa mucilaginosa), una pared celular rígida, una membrana celular que encapsula el citoplasma, y la región nuclear. Su tamaño, forma, capacidad de movimiento y características metabólicas, determinan su clasificación. En el suelo los géneros más comunes son: *Pseudomonas, Arthrobacter, Achromobacter, Micrococcus, Vibrio, Acinetobacter, Brevibacterium, Corynebacterium y Flavobacterium* (25).

Los actinomicetos son un grupo intermedio entre las bacterias procariotas más primitivas y los hongos eucariotas. Aunque taxonómicamente estos organismos son clasificados como bacterias, los actinomicetos son similares a los hongos, producen filamentos muy ramificados llamados «hifas», que se desarrollan dentro del micelio. Los actinomicetos son muy abundantes en los suelos, toleran un intervalo amplio de pH y temperatura, y son capaces de crecer en condiciones muy limitadas de nutrientes y agua. Su presencia favorece la degradación de fenoles, compuestos aromáticos, aromáticos clorados y lignocelulosas. En el suelo los géneros más frecuentes son: *Streptomyces* y *Nocardia.*

4.1.2. *Hongos*

Los hongos son organismos heterótrofos eucariotas, no tienen movimiento y emplean la materia orgánica como fuente de carbono y energía, pueden presentarse en forma unicelular, aunque generalmente tienen forma filamentosa. Estos filamentos miceliares o hifas están aislados o agrupados en verdaderos cordones (rizomorfos) que van de un sustrato nutritivo a otro. Los contaminantes inorgánicos, caso de existir, son incorporados dentro del tejido celular en cantidades estequiométricas, parecido a como se realiza en el crecimiento de bacterias.

Mohos, levaduras y setas son los hongos más abundantes en el suelo, aunque están en menor número que las bacterias. Tienen un crecimiento más lento, y

un proceso metabólico menos diverso. Por el contrario, los hongos son activos a pH más ácidos que las bacterias, muchas especies crecen a pH menor de 5, y son más sensibles a la variación del contenido en humedad.

La variedad de especies encontradas en los suelos es muy grande. Encontramos desde las formas más primitivas, *Myxomicetes,* hongos con aparato vegetativo sin forma propia, a los *Ascomycetes,* hongos que tienen el micelio compartido, o los *Basidiomycetes* con micelio tabicado y reproducción sexual.

Un hongo que tiene un considerable potencial en el tratamiento de compuestos orgánicos peligrosos es *Phanerochaete chysoporium,* hongo de la podredumbre blanca. Este organismo produce una enzima extracelular, peroxidasa, que altera la lignina en presencia de peróxido. Se ha encontrado que degrada una gran variedad de compuestos altamente clorados y recalcitrantes, incluyendo dioxinas. El uso de este hongo está limitado a suelos con carencia de nitrógeno, ya que este elemento en exceso impide la formación de peroxidasa (32).

4.1.3. *Algas*

Las algas, igual que los hongos, son inmóviles, protistas, con pared celular, algunas son unicelulares y otras son filamentosas o coloniales, tienen estructura similar a plantas con crecimiento multicelular pero no tienen diferenciación real entre las células. La mayoría de ellas son acuáticas, aunque hay géneros que crecen en el suelo. El dióxido de carbono (CO_2) y/o aniones bicarbonatados (HCO^-_3) sirven como fuente de carbono para el crecimiento, por lo que la energía proviene de la adsorción de la luz por pigmentos fotosintéticos, dando como producto el oxígeno.

Su importancia en los suelos es mal conocida, salvo en medios extremos: helados o tórridos, donde pueden ser abundantes. En estas situaciones forman a modo de costras que impiden los procesos de erosión y evaporación.

Las algas no son importantes en el campo de la biorrecuperación, sólo en algunos casos han sido empleadas en la recuperación de sistemas acuáticos, fundamentalmente en la eliminación de nutrientes para impedir procesos de eutrofización. Las diatomeas (algas del grupo de los Cromófitos) intervienen en los procesos de inmovilización de la sílice (33).

4.1.4. *Protozoos*

Los protozoos son protistas que carecen de pared celular, pueden ser móviles o no, se alimentan por predación de bacterias, u otros organismos como levaduras, hongos, e incluso de otros protozoos. Requieren agua para realizar las actividades metabólicas y hay un gran número de especies que se encuentran formando parte de muchos sistemas biológicos.

Su carácter depredador se ha puesto de manifiesto en estudios de laboratorio, donde se ha podido comprobar que un solo protozoo consume en algunas ocasiones entre varios cientos y varios cientos de miles de células bacterianas por hora, este número depende del tipo de protozoo y del tipo de bacteria (34).

En los suelos los protozoos se localizan en la solución del suelo unidos a partículas en suspensión, o en la fase sólida, unidos a los agregados, y juegan un importante papel en el control de la masa microbiana. En estudios realizados en campo se ha comprobado que la cantidad de bacterias consumidas es más baja que en las condiciones de laboratorio, debido probablemente a que las bacterias tienden a colonizar, en forma de agregado, los poros y grietas de pequeño tamaño, lo que impide el paso de los protozoos.

Esta ingestión que los protozoos hacen de las bacterias ayuda a controlar el crecimiento bacteriano, ocasionando distintos efectos en los suelos. Cuando el crecimiento de bacterias es excesivo y puede impedir el desarrollo de las plantas, o causar obstrucciones del medio poroso, con la consiguiente disminución de la conductividad hidráulica (35), el efecto es positivo, pues al disminuir la masa bacteriana ayuda a paliar estos hechos. Por el contrario, cuando como consecuencia de la predación de bacterias se reduce drásticamente el número de especies, los protozoos pueden ser responsables de una alteración del equilibrio entre los diferentes géneros que constituyen la biomasa de los ecosistemas.

En general, los protozoos no son buenos biorremediadores de contaminantes, en ocasiones se emplean por su capacidad de ingerir compuestos orgánicos adsorbidos a células bacterianas, o atrapados dentro de secreciones extracelulares alrededor de las células (36). Generalmente, la cantidad de contaminantes eliminados por protozoos es prácticamente despreciable si lo comparamos con las cantidades eliminadas por hongos o bacterias.

Para terminar con este apartado es importante decir que los microorganismos empleados en los tratamientos biológicos suelen pertenecer a distintas especies. La asociación implica una interacción positiva, donde el grupo se beneficie de las acciones individuales. Se ha visto que especies aisladas a partir de cultivos puros, a las cuales se les proporciona el compuesto a estudiar, para que les sirva como fuente de carbono, son incapaces de mineralizarlo (37). Cuando este mismo ensayo se ha realizado utilizando una asociación de especies se ha realizado con mayor eficacia la degradación.

4.2. Mecanismos de transformación

Los microorganismos requieren una fuente de energía y una fuente de carbono para desarrollar su proceso metabólico y crecer. La energía la pueden obtener de cualquiera de las siguientes fuentes: materia orgánica, materia inorgánica y la luz. La fuente de carbono puede ser el dióxido de carbono o los carbonatos. Cuando la materia orgánica e inorgánica son usadas como fuentes de energía (da-

dores de electrones), los aceptores de electrones son necesarios para completar la reacción de óxido-reducción. El oxígeno es el aceptor de electrones más ampliamente usado, aunque también son aceptores: NO_3^-, NO_2^-, SO_4^{2-} y CO_2. Cuando la luz es fuente de energía, debe antes ser convertida en energía química.

En función del tipo de energía que los microorganismos utilizan del dador y aceptor de electrones requerido, y de la fuente de carbono, se determinan tanto, los procesos metabólicos que tienen lugar, como cuáles son los más eficaces en los procesos de biorrecuperación. Por ejemplo, cuando la materia orgánica es la fuente de energía y el oxígeno es el utilizado como aceptor de electrones, se refiere al proceso de respiración. Si en lugar de materia orgánica se utiliza materia inorgánica como fuente de energía, y oxígeno como aceptor de electrones, es un metabolismo litotrófico. La fotosíntesis es el proceso por medio del cual los microorganismos pueden convertir la energía lumínica en energía química. El cometabolismo es un caso especial de metabolismo, en el que los microorganismos son capaces de transformar un compuesto orgánico sin poder emplear este compuesto como sustrato para su crecimiento o como fuente de energía.

No todas las rutas metabólicas empleadas por los microorganismos tienen igual eficacia para la biorremediación. Por ejemplo, debido a que el compuesto orgánico no se oxida completamente durante la fermentación, y debido también al bajo rendimiento de la producción de energía, la fermentación no es la ruta más empleada en los procesos de biorrecuperación. Por el contrario, la respiración aerobia es una ruta más eficaz en los procesos de biorremediación, ya que soporta un rango más amplio de reacciones de oxidación, en las que el oxígeno molecular es incorporado en las moléculas por enzimas oxigenasas (38). Por otro lado, rutas que son eficaces en ensayos teóricos no son validadas en su aplicación real. Esto sucede, por ejemplo, en los tratamientos mediante técnicas basadas en el cometabolismo de ciertos compuestos clorados, como el tricloroeteno (TCE) y el bifenilpolicloro (PCB), que han mostrado buenos resultados en experiencias de laboratorio, pero no han funcionado satisfactoriamente en el campo, bien por no ser estables, bien por no ser competitivos con otras formas de biorrecuperación (19).

Como vemos, los mecanismos que tienen lugar en la biorrecuperación son complejos, ya que ni todos los microorganismos actúan igual, ni todos los contaminantes tienen el mismo tratamiento. Analizamos a continuación alguno de los procesos de transformación que se dan cuando el contaminante es de origen orgánico, o cuando el contaminante es de origen inorgánico.

Uno de los compuestos orgánicos más frecuentes en la contaminación de suelos y aguas son los derivados del petróleo constituidos por anillos aromáticos. La biodegradación de moléculas aromáticas incluye dos etapas: activación del anillo aromático y rotura del mismo.

La activación consiste en la incorporación de oxígeno molecular en el interior de la estructura, esto es una deshidroxilación del núcleo aromático. Esta etapa se lleva a cabo por enzimas conocidas como oxigenasas, como resultado se obtienen dihidrodioles que posteriormente son oxidados a compuestos dihi-

droxilados como el catecol. Este compuesto se degrada para formar ácidos (ácido 6-formil-2-hidroxi-2,4-hexadienoico), los cuales son rápidamente utilizados por los microorganismos para síntesis celular o como fuente de energía (39).

Entre los contaminantes inorgánicos más frecuentes cabe destacar los metales pesados, elementos no biodegradables que solamente pueden ser transformados de un estado químico a otro. Este tipo de contaminación se ha incrementado alarmantemente en las últimas décadas, consecuencia del desarrollo industrial y del uso abusivo de fertilizantes (40).

Una de las formas de combatir este tipo de contaminación es la utilización de microorganismos que pueden influir en el comportamiento de los metales (Figura 2) (41). Entre las distintas vías de actuación destacan las siguientes:

— Transformación de metales por procesos de óxido-reducción (Fe y Mn) o por alquilación (Hg). La movilidad y toxicidad del metal transformado difiere notablemente de sus formas originales.

— Acumulación por adsorción pasiva en la pared celular o por sorción en el interior de la célula.

— Liberación de sustancias que influyen en la conducta de los metales, unas veces favoreciendo su movilidad y otras su inmovilidad.

— Los microorganismos también participan en el ciclo del carbono y, por ello, influyen en la cantidad y características de la materia orgánica, la cual es capaz de formar complejos órgano-metálicos más o menos móviles.

— Los microorganismos son capaces de variar las condiciones del suelo (porosidad, conductividad hidráulica, pH, Eh, etc.) afectando a las características químicas de los metales.

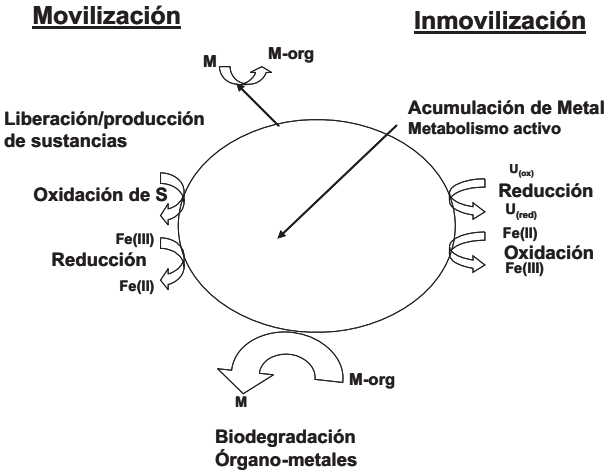


FIGURA 2. *Interacciones entre el microorganismo y los metales* (41).

4.3. Tratamientos

El término biorrecuperación se aplica a cualquier sistema o proceso en el que se empleen métodos biológicos para transformar o fijar contaminantes en el suelo o en las aguas. La biorrecuperación en suelos contaminados puede llevarse a cabo *in situ,* o bien *ex situ,* excavando el terreno y tratándolo a pie de excavación o en instalaciones aparte.

4.3.1. Tratamiento *in situ*

Este tipo de tratamiento normalmente es la opción más adecuada para la recuperación de suelos, ya que no es necesaria la preparación y excavación del material contaminado. No obstante, antes de decidir el tipo de tratamiento deben valorarse numerosos factores entre los que destacamos: impacto ambiental en la zona, actividades industriales que pueden verse afectadas, costos comparativos con otros tratamientos, y otros intrínsecos del proceso como son la dificultad de acceso a la zona contaminada para proveer de oxígeno y nutrientes; la determinación del porcentaje de tratamiento; la velocidad del proceso y el potencial peligro de extensión de la contaminación.

El método de la biorremediación *in situ* de suelos se puede dividir en dos tipos: tratamiento de compuestos volátiles y tratamiento de compuestos semivolátiles y no volátiles.

La extracción de contaminantes volátiles de los suelos se realiza mediante la succión del aire de la zona contaminada y posterior tratamiento del gas extraído. Para realizar esta extracción se instalan pozos hasta la zona contaminada, las dimensiones de los pozos varían en función de la cantidad de contaminante, del tipo de suelo y de la profundidad a la que se encuentre. Por los pozos de ventilación se hace llegar el aire que favorece la dispersión del contaminante, para después poder ser extraído mediante la aplicación de una bomba de vacío con la presión suficiente que mantenga las concentraciones de extracción altas. Esto es necesario para minimizar los costos totales de extracción y para maximizar la eficacia del tratamiento del gas. La aplicación de un elevado vacío y una extracción de aire a gran velocidad dará como resultado una rápida reducción de la concentración del contaminante.

La extracción de vapor desde el suelo es un proceso de extracción excelente para casos donde los compuestos volátiles son los contaminantes principales. Es este un proceso de recuperación, no de tratamiento, ya que en muchos casos el contaminante extraído no puede descargarse en la atmósfera, por lo que debe seguir algún tratamiento para gases contaminados. En casos donde los contaminantes se biodegradan, por ejemplo H_2S, NH_3, compuestos volátiles del petróleo, es posible el tratamiento por biofiltración.

La bioventilación es el procedimiento utilizado en el tratamiento de contaminantes menos volátiles. El mecanismo utilizado es similar al de la extracción por vapor, aunque, en este caso, el caudal de aire está limitado para que ocurra la biodegradación. Mantener el contenido de humedad cercano a la capacidad de campo, los niveles de oxígeno y la concentración de nutrientes suficientes para soportar una población microbiana activa, es un problema relevante. También es necesario controlar las concentraciones del gas de salida, O_2 y CO_2, pues dan una idea del nivel de actividad biológica. Cuando la biodegradación está desarrollándose, las concentraciones de salida de oxígeno se deberían reducir y las concentraciones de dióxido de carbono, por el contrario, se deberían elevar.

Este procedimiento se aplica, como ya hemos dicho antes, cuando los contaminantes tienen baja volatilidad, sin embargo, puede haber alguna eliminación, en los gases ventilados, de sustancias tóxicas, por lo que es recomendable el tratamiento posterior de estos gases. La biofiltración, la adsorción, la oxidación catalítica, o la combustión, son algunas de las medidas que deben estudiarse para asegurarse la inocuidad del gas (42).

4.3.2. Tratamiento *ex situ*

Dos son los tratamientos que se distinguen cuando el procedimiento se realiza fuera del lugar donde está la contaminación: tratamiento por vía sólida y tratamiento por vía suspensión.

La biorrecuperación vía sólida se puede realizar por dos métodos: tratamiento en lechos y tratamiento por compostaje. La diferencia fundamental entre ambos es el sistema de aireación, mientras que en el primero sólo se pueden tratar las capas de suelo menos profundas, en el compostaje se requiere la formación de grandes apilamientos de material degradable.

El tratamiento en lechos (Landfarming) es una técnica empleada habitualmente en agricultura. Consiste en esparcir sobre un sustrato, que puede ser otro suelo, una capa fina de material contaminado y mezclarlo posteriormente con el suelo sustrato, para incorporar el material contaminante en la matriz de éste. El laboreo posterior consigue mejorar el transporte de masa e intensificar la actividad microbiológica aerobia, para ello es necesario tener un seguimiento regular de las condiciones del nuevo suelo formado, controlando los niveles de nutrientes, grado de humedad, contenido en materia orgánica y pH.

Esta técnica se puede realizar en un suelo natural al que se le añade el suelo contaminado, con los riesgos que ello conlleva de contaminación secundaria a zonas limítrofes, o preparar recintos apropiados para este tratamiento. Actualmente es la segunda opción la más utilizada, para la cual se diseñan las llamadas unidades de tratamiento de lechos.

Hay seis componentes principales en la unidad de tratamiento en lechos: 1. Capa impermeable, que previene la infiltración de contaminantes a zonas no contaminadas. 2. Red de drenaje, para recoger los lixiviados generados por el riego o los generados por la infiltración del agua de lluvia. 3. Zona de tratamiento del suelo, necesaria en ocasiones para separar rocas o residuos grandes que interfieran con los equipos de volteo. 4. Construcción de terraplenes y desmontes que protejan de contaminaciones cruzadas entre unidades de tratamiento. Como los sistemas de tratamiento en lechos están expuestos a las precipitaciones, los contaminantes pueden movilizarse durante los periodos de lluvia, y los terraplenes y desmontes impiden la contaminación por vertidos incontrolados. 5. Balsas de almacenamiento, necesarias como sumidero para recoger y retener los lixiviados. 6. Sistema de control, que asegure el buen funcionamiento del procedimiento y nos permita medir las emisiones al aire y la contaminación subterránea.

Con este tipo de tratamiento se han conseguido éxitos notables con algunos contaminantes. Mueller *et al.* (43) estudiaron la contaminación por creosota (líquido procedente de la destilación del alquitrán de hulla que contiene compuestos fenólicos) en suelo, y obtuvieron descensos notables en la concentración. Suelos con cantidades que oscilaban entre 6.200 y 3.000 ppm, después de 30 días de aplicación, descendieron a 800 y 100 ppm, respectivamente. Se han obtenido, asimismo, buenos resultados en la reducción del ácido diclorofenoxiacético, que pasó de 42 a 4 ppm en 77 días; reducciones del 73% en las concentraciones de benceno, tolueno y xileno (BTX), o reducciones del 36% en aceite y grasa (44).

El segundo de los tratamientos por vía sólida es el compostaje, proceso biológico aerobio en el que los sólidos orgánicos húmedos son oxidados a formas biológicas estables como el humus. Este principio es en el que se basa el compostaje de residuos peligrosos, por el cual, se añade materia orgánica al suelo contaminado en suficiente cantidad que permita mantener el rango de temperatura adecuada para que se produzca la eliminación de organismos patógenos y la degradación de compuestos peligrosos.

La retención del calor, o autocalentamiento, es la característica diferencial más importante entre el tratamiento en lechos y el compostaje, mientras que en el primero los residuos se distribuyen en finas capas, en el segundo se apilan en montones o se introducen en reactores.

El contostaje es, generalmente, un proceso aerobio, aunque en muchas ocasiones se producen condiciones anaerobias a escala microscópica. Consiste el proceso en mezclar el suelo contaminado con altas concentraciones de materia orgánica que sea rápidamente degradable, para generar el calor preciso y alcanzar la temperatura de la pila. Las pilas de compost necesitan la mayor parte de las veces un agente esponjante para mejorar la estructura del suelo, incrementando la porosidad y permitiendo una mayor permeabilidad al aire. La adición de estos agentes esponjantes es particularmente importante en suelos con altos

contenidos en arcillas, o suelos muy compactos. Los agentes esponjantes más frecuentes son: paja, heno (hierba seca), cascarillas de arroz y otros vegetales fibrosos, virutas de material sintético, y en ocasiones también se emplean fragmentos de caucho o productos del propio compost una vez ha terminado.

Otra de las características del compostaje es la fuente de calor, no siempre la concentración de contaminante es lo suficientemente grande como para generar el calor necesario en la pila de compost. Por ello, es necesario añadir una fuente de calor, generalmente materia orgánica fácilmente biodegradable como, por ejemplo, estiércol de ganado o melazas (residuos procedentes de alimentos). La biodegradación de este material produce el calor necesario para favorecer el crecimiento de altas concentraciones de microorganismos que, generalmente, son los responsables de la degradación de los contaminantes existentes en el suelo. En algún caso, cuando la temperatura alcanzada es lo suficientemente alta, también se produce la muerte de patógenos, lo que favorece la recuperación.

Ahora bien, no siempre hay suficiente cantidad de microorganismos, o el tipo de microorganismo no es el adecuado para la degradación del contaminante, en esos casos se necesitará un inóculo especialmente desarrollado para que crezca en el laboratorio y se añada a la pila. No obstante, a menudo se añade fango de depuradora para proporcionar microorganismos adicionales y para reducir los tiempos de aclimatación. El residuo reciclado del compost completado es también un buen material para inocular en las pilas de compostaje (45).

Una vez las pilas están bien construidas y los microorganismos se encuentran en proporciones adecuadas, comienzan a biodegradar los residuos, el calor generado por la actividad metabólica se produce en una cantidad superior al que se disipa, la temperatura comienza a subir desde la fase de aclimatación de los microorganismos hasta que se alcanza el máximo. Si la temperatura entra en el rango termofílico (> 45º C) se producen cambios sustanciales en la población microbiana. Los microorganismos que no toleran altas temperaturas mueren o forman esporas, mientras que las bacterias termofílicas se ven favorecidas y predominan. Si las temperaturas llegan a 55º C ó 60º C, las bacterias termofílicas se ven afectadas y disminuyen su actividad. El compostaje funciona tanto en el rango mesofílico (30º C a 40º C), como en el rango termofílico (50º C a 60º C), la elección del rango depende del tipo de contaminante y del material disponible como fuente de calor.

El tratamiento vía suspensión se emplea para la biorrecuperación de suelos contaminados, para lo cual se excava el material contaminado y se traslada a un reactor. La característica de este método es la suspensión en un medio acuoso del suelo contaminado, es decir, el tratamiento se lleva a cabo bajo condiciones de saturación de agua.

El procedimiento consiste en introducir el suelo contaminado en un reactor y añadir nutrientes, agua, y los cultivos microbianos. Se mezcla bien y se airea la suspensión hasta que las transformaciones de los compuestos seleccionados

para su eliminación alcanzan el nivel deseado. A continuación se detienen el mezclado y la aireación, y se deja a los sólidos separarse de los fluidos por sedimentación. El sedimento es retirado y, si la transformación ha tenido éxito, el suelo se devuelve a su lugar de origen, mientras que los líquidos se tratan como aguas residuales. Un procedimiento similar es el que se hace a flujo discontinuo secuencial, cuya diferencia más notable con el método anterior es que la adición de agua y la decantación de los sólidos se hace en reactores separados.

El suministro de oxígeno puede realizarse mediante aireación difusa, turbina difusora y aireación superficial (46). La tasa de transferencia de oxígeno necesaria es función de la tasa de degradación de los compuestos orgánicos y de la tasa de crecimiento microbiano. Su determinación no es fácil de hacer, sin embargo, las tasas de transferencia disminuyen al aumentar la concentración de sólidos suspendidos. Se pueden esperar tasas de transferencia de oxígeno muy por debajo de 1 kg O_2.kW.h, cuando las concentraciones de sólidos alcanzan el 10%, mientras que en soluciones muy diluidas las tasas de transferencia están entre 1,2 y 2,5 kg O_2.kW.h.

El mezclado y el suministro de nutrientes también son fundamentales, ya que por el primero se incrementa el contacto entre los microorganismos y los componentes contaminantes, dando como resultado un incremento de las velocidades de transferencia de masa y de reacción. Los nutrientes normalmente optimizan la biorrecuperación por favorecer el crecimiento de los microorganismos. Por otro lado, el mezclado y la aireación ayudan a romper los flóculos de tierra y a disolver los contaminantes.

En comparación con otros procesos de tratamiento, los reactores vía suspensión proporcionan el mayor contacto entre los contaminantes, los microorganismos, el oxígeno, el agua y los nutrientes. Debido a estas características, el tratamiento vía suspensión puede aplicarse en particular a los suelos contaminados con residuos oleosos y de consistencia alquitranada (47).

5. FITORREMEDIACIÓN

El término genérico «fitorremediación» está constituido por un prefijo griego *phyto,* que significa planta, y un subfijo latino *remedium,* que significa eliminar algo pernicioso.

La fitorremediación constituye una variación de las técnicas de biorremediación, pero se concreta en el *«uso de plantas verdes y los microorganismos asociados a ellas, así como las enmiendas del suelo y técnicas agronómicas dirigidas a liberar, contener, o transformar en compuestos inocuos a los contaminantes del suelo»* (48).

Inicialmente, el término de fitorremediación se asoció al uso potencial de especies hiperacumuladoras, plantas capaces de bioconcentrar niveles inusuales de

metales en sus tejidos. La mayor parte de ellas están constituidas por pequeñas plantas herbáceas que se desarrollan en zonas metalúrgicas naturales o en depósitos mineros antiguos (49).

En la actualidad, las investigaciones en fitorremediación se encaminan no sólo al tratamiento de contaminantes inorgánicos (metales, metaloides, haluros y radionucleidos), sino también al tratamiento de contaminantes orgánicos (50).

La fitorremediación comprende tanto los procesos dirigidos a liberar el contaminante de la matriz del suelo (descontaminación), como los encargados de secuestrarlos en dicha matriz (estabilización).

La fitodescontaminación es el proceso por el cual la concentración de contaminantes del suelo se reduce a niveles tolerables a través de la acción de las plantas, su microflora asociada y de las técnicas agronómicas apropiadas. A su vez, comprende los siguientes procesos:

— Fitoextracción. Proceso por el cual, tanto los contaminantes metálicos, como los contaminantes orgánicos del suelo, son absorbidos directamente por las plantas e incorporados a su biomasa, que con posterioridad será recolectada para su destrucción.

— Fitovolatilización. Proceso por el cual las plantas y la actividad microbiana asociada, a través de enzimas especializados, pueden transformar, degradar y finalmente volatilizar los contaminantes desde el suelo. La volatilización puede producirse tanto desde el sistema radicular como desde la parte superficial del suelo.

— Fitodegradación. Proceso por el cual las plantas toman el contaminante y lo metabolizan transformándolo en un material sin riesgos para el medio natural.

— Rizodegradación. Proceso por el cual las raíces de las plantas, su microflora asociada y/o los productos excretados destruyen el contaminante en la zona radicular.

El segundo proceso es el de la fitoestabilización, técnica encaminada al secuestro y estabilización de los contaminantes en los suelos. Se utilizan plantas tolerantes al contaminante, capaces de estabilizarlo mecánicamente, y por tanto impiden su transporte a otros medios, incluyendo el agua subterránea.

Hay autores que dentro del proceso de fitoestabilización separan el proceso de fitoinmovilización por ser más descriptivo que el proceso genérico de estabilización. Entendiéndose por fitoinmovilización, el proceso que previene el movimiento y transporte de contaminantes en disolución mediante el empleo de plantas específicas que reducen la movilidad del contaminante (51).

5.1. Tolerancia de las plantas a los contaminantes

Una característica esencial en cualquier tecnología de fitorremediación es la tolerancia de las plantas a los contaminantes, que se define como la capacidad para resistir la acumulación en sus tejidos de elevados niveles de compuestos tóxicos. Para comprender el desarrollo de las plantas hipertolerantes es necesario conocer las estrategias moleculares que adoptan para resistir los efectos tóxicos de los contaminantes inorgánicos y orgánicos.

5.1.1. *Tolerancia a los metales pesados*

La tolerancia a los metales pesados por las plantas está limitado tanto por la admisión celular, como por la resistencia de los metales una vez que han penetrado en las células.

Las estrategias empleadas por las plantas, para resistir los efectos tóxicos causados por los metales pesados, se relacionan con los siguientes mecanismos:

— Establecimiento de enlaces entre los metales y la pared celular.

— Nivel de tolerancia por la membrana celular hacia los metales.

— Reducción del transporte por la membrana celular.

— Flujo activo de metales desde las células hacia el exterior.

— Nivel de tolerancia de los enzimas vegetales hacia los metales.

— Compartimentación o acumulación del exceso de metales en órganos subcelulares como son las vacuolas.

— Quelación del metal por ligandos orgánicos y/o inorgánicos (fitoquelatos).

— Precipitación del metal al formar compuestos de baja solubilidad.

Ejemplos de todos estos mecanismos son muy conocidos. La acumulación de Zn en las vacuolas está asociada a la quelación por ácidos orgánicos y su precipitación está ligada a formas de fitato de cinc (52). Mientras que la precipitación de Cd (53) y posiblemente de Cu y Pb (54) están unidas a péptidos ricos en tiol como son los PCs.

5.2.2. *Tolerancia a los contaminantes orgánicos*

Es bien conocido que las plantas muestran una variación considerable de su tolerancia hacia los contaminantes orgánicos. Estas diferencias se han puesto de manifiesto por el amplio desarrollo de herbicidas selectivos en los últimos años,

que ha hecho se multipliquen el número de tratamientos aplicados a distintos cultivos. Recientes estudios también han mostrado la distinta respuesta de los vegetales a pesticidas y otros compuestos químicos industriales como el tricloroetileno (TCE), trinitrotolueno (TNT), policlorinatos de bifenilo (PCBs) y los hidrocarburos poliaromáticos (PAHs) (55).

Dos son los mecanismos por los que las plantas pueden incrementar su resistencia a los contaminantes orgánicos. El primero de ellos consiste en la transformación de los elementos tóxicos en la rizosfera, para ello la planta libera más del 20% de su fotosintato dentro del suelo en forma de exudado radicular. El fotosintato liberado está constituido por una mezcla de azúcares, alcoholes, fenoles, ácidos orgánicos y proteínas que rápidamente son utilizados por las comunidades microbianas existentes en la rizosfera. Estas poblaciones pueden ser, de 100 a 10.000 veces mayores que las poblaciones presentes en la matriz del suelo, y se caracterizan por presentar enzimas específicos capaces de metabolizar los contaminantes orgánicos hacia formas menos tóxicas. Un ejemplo lo constituyen las biotransformaciones de pesticidas como: Atrazina, Propachlor o Paracuat, vía conjugación con Glutatión mediante los enzimas glutatión-S-transferasa (56).

El segundo mecanismo se produce una vez que los contaminantes han atravesado el sistema radicular. En este caso, los elementos tóxicos pueden seguir dos vías de transformación, por un lado se trasladan hacia brotes y hojas para, posteriormente, volatilizarse, y por otro pueden sufrir procesos de metabolización hacia nuevas formas. Estos nuevos compuestos pueden mineralizarse o pueden acumularse, bien como nutrientes, bien como nuevos contaminantes. La inclusión en órganos subcelulares y la formación de otros compuestos representan las principales vías para la desintoxicación de xenobióticos en plantas. Un ejemplo de este segundo proceso lo encontramos en la transformación del Pentaclorofenol (PCP), que inicialmente se hidroliza en las células vegetales y posteriormente se une a la lignina formando un residuo insoluble (57).

5.3. Futuro de la fitorremediación

La fitorremediación es una tecnología emergente en el tratamiento de la contaminación, su aplicación es cada vez mayor y sus resultados se están valorando como muy positivos. La utilización de técnicas, en campo, con plantas herbáceas, gramíneas, vegetación arbórea y algunos mutantes transgénicos, pone de manifiesto que la fitorremediación empieza a ser una tecnología competitiva en la recuperación de suelos contaminados.

El, cada vez, mayor conocimiento de los procesos fisiológicos que tienen lugar en la planta, junto al conocimiento de los compuestos tóxicos, está haciendo que se puedan seleccionar plantas con mayores niveles de tolerancia hacia contaminantes específicos. Además, por técnicas genéticas se pueden incrementar la biomasa vegetal, su morfología, densidad radicular o penetración en profundidad,

así como favorecer la existencia de asociaciones específicas de microorganismos-raíces. Estos estudios abren extensos campos de investigación que profundizan en los procesos de fitorremediación.

Por otra parte, las condiciones del suelo, textura, estructura, pH, complejo de cambio, también pueden mejorar las especies fitorrecuperadoras, por ello el análisis de las condiciones edáficas es un aspecto importante en el desarrollo de esta tecnología.

La fitorremediación podría ser particularmente atractiva en medios con bajo riesgo, donde los contaminantes estén limitados a la zona radicular y donde no hubiera fuertes contrastes climáticos. En estas condiciones, la velocidad de la toma de contaminantes por especies fitoextractoras y la velocidad de fitodegradación por enzimas específicos podrían, probablemente, ser mayores que la velocidad de difusión de los contaminantes.

Sin embargo, la fitorremediación está limitada por las condiciones que impiden un crecimiento normal de las plantas como son: el clima (climas extremos), la topografía (escarpes y grandes pendientes), los procesos de erosión, y concentraciones de contaminante que exceda del nivel de tolerancia de las plantas. También limita la utilización de esta técnica el tiempo que haya para la descontaminación (la fiterremediación es lenta), y la distancia del contaminante a zonas sensibles: ríos, lagos, lagunas y aguas subterráneas.

De cualquier forma, las nuevas fronteras de la fitorremediación demuestran la necesidad de abordar esta técnica desde la multidisciplinaridad. Es necesario incluir expertos en botánica, bioquímica, fisiología vegetal, genética, microbiología, edafología, geoquímica, y expertos relacionados con las consecuencias de la contaminación para la salud de los ecosistemas y de sus habitantes.

BIBLIOGRAFÍA

(1) WORLD HEALTH ORGANISATION REGIONAL OFFICE FOR EUROPE (1991): Targets for Health for All. Summary of the updated edition. Copenhagen. WHO.
(2) AGENCIA EUROPEA DE MEDIO AMBIENTE (2001): *Señales ambientales 2000.* Informe de la Agencia Europea de Medio Ambiente basado en indicadores. Ed. Secretaría General Técnica. Ministerio de Medioambiente, 109 pp.
(3) JENY, H. (1941): Factors of Soil Formation. McGraw-Hill, New York, 281 pp.
(4) SMECK, N. E., RUNGE, E. C. A. and MCINTOSH, E. E. (1983): Dynamic and genetic modelling of soil system, pp. 51-81. In: Wilding, L. P.; Smeck, N. E. and Hall, G. F. (Ed). Pedogenesis and soil Taxonomy. I. Concepts and Interactions. *Elservier Sci. Pub.,* Amsterdan, 303 pp.
(5) IBÁÑEZ, J. J.; JIMÉNEZ, R. y GARCÍA ÁLVAREZ, A. (1990): Sistemología y termodinámica en edafología I. Los suelos y el estado de equilibrio termodinámico. *Rev. Ecol. Biol. Sol.*
(6) IBÁÑEZ, J. J.; JIMÉNEZ, R. y GARCÍA ÁLVAREZ, A. (1990): Sistemología y termodinámica en edafología II. Suelos, estructuras disipativas y teoría de catástrofes. *Rev. Ecol. Biol. Sol.*

(7) SINGER, M. J. and MUÑIZ, D. N. (2000): Soils. An introduction. 5ed. Pretince Hall. New Jersey, 429 pp.
(8) DENNEMAN, C. A. J. and ROBBERSE (1990): Ecotoxicogical risk assessment as a base for development of soil quality criteria, pp. 157-164. In: F. Arendt, M. Hinsenveld and W. J. van den Brink (Ed.) Contaminated soil'90. Proc. Intl. KFK/TNO Conf. On Contaminated soil, Karlsruhe, Germany, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.
(9) CAIRNS, J. JR. (1991): Restoration ecology; a major opportunity for ecotoxecologists. *Environ. Toxicol. Chem.* **10:** 429-432.
(10) SHEPPARD, S. C.; GAUDET, C.; SHEPPARD, M. I.; CURETON, P. N. and WONG, M. P. (1992): The development of assessment and remediation guidelines for contaminated soils, a review of the science. *Can. J. Soil Sci.* **72:** 359-394.
(11) LARSON, W. E. and PIERCE, F. J. (1991): Conservation and enhancement of soil quality., pp. 175-203. In: Evaluation for sustainable land management in the developing word. *Int. Board Soil Res. and Management,* Bangkok, Thailand.
(12) ARSHAD, M. A. and COEN, G. M. (1992): Characterization of soil quality: Physical and chemical criteria. *Am. J. Altrn. Agr.* **7:** 25-31.
(13) DORAN, J. W. and PARKIN, T. B. (1994): Defining soil quality for a sustainable environment. In: J. W. Doran, D. C. Coleman, D. F. Bezdicek, and B. A. Stewart (ed). Soil Sci. Soc. Am. Spec. Pub. 35, Soil Science Society of America, Madison, WI.
(14) SOIL SCIENCE SOCIETY OF AMERICA (1996): Glossary of Soil Science Terms. Soil Science Society of America, Madison, WI.
(15) KARLEN, D. L.; MAUSBACH, M. J.; DORAN, J. W.; CLINE, R. G.; HARRIS, R. F and SCHUMAN, G. E. (1997): Soil quality: A concept, definition and framework for evaluation. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **61:** 4-10.
(16) FEIKE, J. L. AND VAN GENUCHTEN, M. TH. (2000): Solute transport, pp. A183-A227. In: Handbook of Soil Science. CRC Press. Boca Raton, FL.
(17) STUMM, W. and MORGAN, J. J. (1996): Aquatic chemistry. Chemical equilibria and rates in natural waters. Wiley Interscience, New York, NY.
(18) CHENG, H. H. and MULLA, D. J. (1999): The soil Environment, pp. 1-13. In: Bioremediation of contaminated soils. American Society of Agronomy, Inc. Madison, Wisconsin, USA.
(19) ALEXANDER, M. (1994): Biodegradation and bioremediation. *Academic Press,* San Diego.
(20) PLASSARD, F.; WINIARSKI, T., PETIT-RAMEL, M. (2000): Retention and distribution of three heavy metals in a carbonated soil: comparison between batch and unsaturated column studies. *Journal of Contaminant Hydrology* **42,** 99-111.
(21) SUMNER, M. E. (2000): Handbook of Soil Science. CRC Press. Boca Raton, FL.
(22) APPELLO, C. A. J. and D. POSTMA (1994): *Geochemistry, Groundwater and Pollution*, A.A.N. Balkema, Ed.: Rotterdam, 536.
(23) TATE, R. L. (1987): Soil Organic Matter. Biological and Ecological Effects. John Wiley and Sons, p. 291. New York.
(24) Ley 10/1998, de 21 de abril. Ley Básica de Residuos Tóxicos. *BOE* de 22 de abril de 1998.
(25) EWEIS, J. B.; ERGAS, S. J.; CHANG, D. P. Y. and SCHROEDER, E. D. (1999): Principios de Biorrecuperación. McGraw Hill, New York, p. 327.
(26) DOMÈNECH, X. (1995): *Química del suelo. El impacto de los contaminantes.* Miraguano (Ed). Madrid, p. 490.
(27) RYAN, J. R.; LOEHR, R. C. and RUCKER, E. (1991): Biorremediation of organic contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials,* **28:** 159-169.
(28) SKLADANY, G. J. (1992): Overview of Biorremediation. In: Principios de Biorrecuperación. McGraw Hill, New York, p. 327.

(29) MCCARTY, P. L. (1991): *Engineering Concepts for in situ Bioremediation Journal of Hazardous Materials,* **28,** 1-11.
(30) EUROPEAN ECONOMIC COMMUNITY (1986): Directiva relativa a la protección del medio ambiente y, en particular, de los suelos, en la utilización de lodos de depuradora en agricultura, 86/278/EEC, EEC, Bruselas.
(31) SIMS, R. C. (1993): Site characterization requeriments pp. 3.1-3.8. In: Bioremediation of hazardous waste sites: Practical approaches to implementation. U.S. Environmental Protection Agency. Washington, D.C.
(32) AUSR, S.; FERNANDO, T.; BROCK, B.; TUISEL, H. and BUMPUS, J. (1988): Biological Treatment of Hazardous Wastes by *Phanerochaete Chrysosporium*. G. Lewandowski *et al.* (Eds.), Engineering Foundation, New York.
(33) BONNEAU, M. et SOUCHIER, B. (1987): *Edafología 2. Constituyentes y propiedades del suelo.* Masson, S. A. (Ed). Barcelona, p. 461.
(34) PAUL, E. A. and CLARK, F. E. (1989): Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, Londres.
(35) SINCLAIR, J. L. and GHIORSE, W. C. (1989): Distribution of Aerobic Bacteria, Protozoa, Algae and Fungi in Deep Subsurface Sediment. *Geomicrobiology Journal,* **7,** 15-31.
(36) WOLFAARDT, G. M.; LAWRENCE, J. R.; HEADLY, J. B.; ROBARTS, R. D. and CALDWELL, D. E. (1994): Microbial Exopolymers Provide a Mechanism for Bioaccumulation of Contaminants. *Microbial Ecology,* **27,** 279-291.
(37) SALANITRO, J. P.; DÍAZ, L. A.; WILLAMS, M. P. and WISNIEWSKI, H. L. (1994): Isolation of a bacterial culture that degrades methyl t-butyl-ether. *Applied and Environmental Microbiology.* **60,** 2592-2596.
(38) BROCK, T. D. and MADIGAN, M. T. (1991): Biology of Microorganisms. 6.ª Ed. Pretince-Hall, Englewood Cliffs, NJ.
(39) CERNIGLIA, C. E. (1984): Microbial Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Advances in Applied Microbiology.* **30,** 31-69.
(40) SMITH, R. R. (1996): Mobility of PTEs in soil and impacts on water quality. Agricultural Recycling of the Sewage Sludge and the Environment. CBA International, 111-117.
(41) LEDIN, M. (2000): Accumulation of metals by microorganisms- processes and importance for soil systems. *Earth-Science Reviews* **51,** 1-31.
(42) RITTMAN, B. E.; SEAGREN, E.; WRENN, B. A.; VALOCCHI, A. J.; RAY, C. and RASKIN, L. (1994): *In situ* bioremediation. 2.ª Ed., Noyes Publication, Park Ridge, NJ.
(43) MUELLER, J. G.; LANTZ, S. E.; BLATTMANN, D. O. and CHAPMAN, P. J. (1991): Processes for the remediation of pentachlorophnol and creosote contaminated materials. *Envi. Sci. and Tech.* **25,** 1055-1061.
(44) BOGART, J. D. and LEAGUE, J. R. (1988): Biological remediation of underground storage facilities. Air Pollution Control Association, 88-7.2.
(45) COOKSON, J. T. (1995): Bioremediation engineering design and application. McGraw-Hill. (Ed). New York.
(46) METCALF, J. and EDDY, M. (1991): Wastewater engineering. 3.ª Ed. McGraw-Hill, New York.
(47) LEWIS, R. F. (1992): Site demonstration of slurry-phase biodegradation of PAH contaminated soil. Air and Waste Management Association, Missouri.
(48) CUNNINGHAM, S. D.; ANDERSON, T. A.; SCHWAB, A. P. and HSU, F. C. (1996): Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutans. *Adv. Agron.* **56:** 55-114.
(49) BAKER, A. J. M.; MCGRATH, S. P.; REEVES, R. D. and SMITH, J. A. C. (1998): Metals hyperaccumulator plants: A review of the biological resource for possible exploitation in the phytoremediation of metal-polluted soils. In: N. Terry *et al.* (Ed). Phytoremediation. Ann. Arbor, MI.

(50) Entry, J. A.; Vance, N. C.; Hamilton, M. A.; Zabowski, D.; Watrud, L. S. and Adriano, D. C. (1996): Phytoremediation of soil contaminated with low concentrations of radionuclides. *Water Air Soil Pollution,* **88:** 167-176.
(51) Raskin, I.; Kumar, N.; Douhenkow, S. and Salt, D. E. (1994): Bioconcentration of heavy metals by plans. *Curr. Opim. Biotechnol.* **5:** 285-290.
(52) Davies, K. L.; Davies, M. S. and Francies, D. (1991): Zinc-induced vacuolation in root meritematic cells of *Festuca rubra* L. *Plant Cell Environ.* **14:** 399-406.
(53) Rauser, W. E. (1990): *Phytochelatins. Annu. Rev. Biochem.* **59:** 61-86.
(54) Salt, D. E.; Pickering, I. J.; Prince, R. C.; Bleba, D.; Dushenkov, S., Smith, R. D. and Raskin, I. (1997): Metal accumulation by aquacultured seedlings of Indian mustard. Environ. *Sci. Technol.* **31:** 1636-1644.
(55) Schnoor, J. L.; Licht, L. A.; McCutcheon, S. C.; Wolfe, N. L. and Carreira, L. H. (1995): Phytoremediation of organic and nutrient contaminants. *Environ. Sci. Technol.* **29:** 318-323.
(56) Field, J. A. and Thurman, E. M. (1996): Glutathione conjugation and contaminant transformation. *Environ. Sci. Technol.* **30:** 1413-1418.
(57) Trapp, S. and MacFarlane, J. C. (1995): Plant contamination: Modeling and simulation organic chemical process. Lewis Publ., Boca Raton.

III. Biotecnologías limpias en agricultura: Fijación biológica de nitrógeno. Estructura-función de la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa

M. ROSARIO DE FELIPE ANTÓN



Es Doctora en Farmacia. Profesora de Investigación del CSIC. Directora del Centro de Ciencias Medioambientales del CSIC. Académica Correspondiente de la Real Academia Nacional de Farmacia. Fue contratada por la Universidad de California (Berkeley). Presidenta de la Sociedad Española de Fisiología Vegetal. Es especialista en Histoquímica Vegetal y Microscopía Electrónica.
Este trabajo está realizado en colaboración con: M. Fernández-Pascual, E. Fedorova, M. P. Golvano Herrero, A. González Sama, L. Guasch Pereira, M. J. Hernández Jiménez, C. de Lorenzo Carretero, M. M. Lucas Sánchez, N. de María de la Heras, J. M. Pozuelo Guanche, J. J. Pueyo Dabad, A. Vivo Rodríguez. *Centro de Ciencias Medioambientales del C.S.I.C.* (Madrid).

El conocimiento de los procesos que tienen lugar en las plantas, objetivo principal de fisiólogos vegetales, bioquímicos, biólogos celulares y moleculares, es a veces difícil de llevar a cabo, debido a la complicada organización de la célula vegetal y a los complejos procesos del metabolismo celular a lo largo del desarrollo. Se necesita la integración de abordajes multidisciplinares, estructurales, bioquímicos y moleculares para llegar a una interpretación real de los objetivos propuestos.

La Microscopía Electrónica, creada para observar la estructura morfológica de un tejido a nivel de orgánulos subcelulares, hace necesario extremar las precauciones para la preparación de las muestras que van a ser estudiadas, evitando los artefactos que podrían conducirnos a interpretaciones falsas. Conocer la estructura real de una célula conlleva métodos de preparación adecuados para su preservación en estado nativo.

Los métodos convencionales basados en fijación química con aldehídos u otros fijadores como permanganato potásico, formol, alcohol, etc., muy usados en microscopía óptica, han sido desplazados poco a poco por el uso de criotécnicas, por las cuales los tejidos sufren menos manipulaciones, acercándose más

al estado real. «Freeze etching», «Freeze-substitution» y «Freeze drying» fueron las primeras criotécnicas utilizadas para la preservación de la estructura y la de los componentes celulares.

La evolución que han experimentado las criotécnicas ha sido considerable, y actualmente la llamada técnica de «High-Pressure Freezing», diseñada por el Technological Institute de Zurich, que hemos utilizado en la Universidad de París «Pierre et Marie Curie» (para el estudio del transporte de O_2 en nódulos de leguminosas), conduce a la observación de las células en estado nativo, preservando la estructura hasta 1mm de profundidad.

Paralelamente a la evolución de los métodos de preparación de los tejidos para llegar al conocimiento real de las estructuras celulares, la optimización de la localización de componentes químicos también ha tenido un considerable avance.

La Histoquímica Vegetal aporta la información precisa de la localización y distribución de los componentes químicos, su observación *in situ,* con el fin de lograr una mejor interpretación de su función fisiológica y del papel que desempeñan en la célula vegetal. De este modo se evita la destrucción de los tejidos como ocurre por técnicas bioquímicas. Para ello es necesario primero tener un buen conocimiento de la estructura sobre la cual se asientan y estar familiarizado con la morfología celular, antes de realizar las localizaciones histoquímicas.

La localización de los componentes químicos *in situ* es esencial para conocer la función que desempeñan. Las técnicas de Inmunofluorescencia y de Inmunocitoquímica, consideradas actualmente las más avanzadas de la Histoquímica, han contribuido poderosamente al conocimiento de la estructura-función a nivel de microscopía óptica y electrónica respectivamente. Estas técnicas, junto con las de Hibridación *in situ,* mediante las cuales podemos observar en los tejidos la expresión de genes *in situ,* constituyen hoy poderosas herramientas que han repercutido poderosamente en los avances de la Biología Molecular de Plantas y han hermanado a biólogos celulares, bioquímicos y biólogos moleculares.

Las técnicas cuantitativas, para cuantificar alteraciones celulares a nivel morfológico o histoquímico (Análisis de imagen) son también de gran interés. Entre estas técnicas cuantitativas merece destacar el Microanálisis de Rayos X (Microscopía Electrónica Analítica), mediante la cual se pueden cuantificar los nutrientes inorgánicos en las células, al mismo tiempo que su localización.

El conocimiento de la relación Estructura-Función de cualquier proceso biológico dependerá de la buena integración de las técnicas arriba citadas junto a técnicas bioquímicas y moleculares. Es recomendable el trabajo conjunto de equipos de investigación formados por especialistas de diferentes disciplinas.

1. ESTRUCTURA-FUNCIÓN DE LA SIMBIOSIS *RHIZOBIUM*-LEGUMINOSA

La agricultura intensiva ha llevado a la contaminación de suelos y aguas, debido al abuso de fertilizantes y fitosanitarios para obtener grandes producciones. Como alternativas a la agricultura intensiva, las biotecnologías limpias, basadas en el uso de los microorganismos del suelo como activadores del crecimiento, están adquiriendo especial relieve por ser respetuosas con el Medio Ambiente.

Desde 1985 nuestro grupo de investigación viene trabajando en Fijación biológica de nitrógeno con plantas leguminosas, que tienen gran importancia agronómica, son base de la dieta mediterránea y tienen características propias y exclusivas, como fijar nitrógeno en sus raíces. Esta propiedad, unido a que además sus raíces ayudan a la reconstrucción de suelos degradados por diferentes estreses, hace que las leguminosas puedan ser utilizadas para mejorar las características físico-químicas y nutricionales de zonas áridas y semiáridas.

Las leguminosas fijan nitrógeno del aire mediante simbiosis con bacterias del suelo de las familias *Rhizobiaceae, Phyllobacteriaceae, Hyphomicrobiaceae* y *Bradyrhizobiaceae* (géneros *Rhizobium, Sinorhizobium, Mesorhizobium, Azorhizobium, Bradyrhizobium*) en unas estructuras llamadas nódulos. Ello es posible por la existencia del enzima nitrogenasa en el citoplasma de estas bacterias. El proceso de fijación de N_2 por la nitrogenasa es extremadamente caro en términos de la energía requerida para el funcionamiento del enzima:

$$\mathbf{N_2 + 8H^+ + 16\ ATP \Rightarrow 2NH_3 + H_2 + 16ADP + 16\ Pi}$$

Como todos los organismos aeróbicos, los nódulos requieren oxígeno para la producción de ATP, pero al mismo tiempo la nitrogenasa ha de estar protegida, pues es inactivada por concentraciones altas de oxígeno.

La simbiosis beneficia a la planta suministrándole compuestos nitrogenados, amidas o ureidos, metabolizados a partir del amoniaco. Las bacterias, en reciprocidad, reciben de la planta energía y los esqueletos carbonados para que puedan ejecutar el proceso de fijar nitrógeno.

En los estadios previos al reconocimiento recíproco, ambos simbiontes emiten señales químicas características. Las raíces excretan sustancias de tipo flavonoide específicas, que inducen la expresión de genes *nod* en los rizobios. Los productos de los genes *nod* son responsables de la curvatura del pelo radicular y de la inducción de la división de las células corticales que darán lugar al primordio nodular. Las bacterias aprovechan esta curvatura del pelo radicular para entrar en la planta. Como reacción a la entrada de la bacteria, la planta forma el canal de infección. La entrada a través del canal de infección es el patrón general utilizado por los rizobios en las leguminosas.

1.1. Simbiosis *Bradyrhizobium-Lupinus*

Lupinus albus cv Multolupa, altramuz dulce, cultivar obtenido por un investigador chileno, el Doctor Van Bauer, puede ser consumido por el hombre y el ganado, pues está privado de los alcaloides típicos de este género (Figura 1). Pertenece a la Subfamilia *Papilionoideae*, Tribu *Genisteae,* Subtribu *Lupininae,* de la que es el único representante. Las semillas de lupino tienen un alto contenido de proteínas (30-40%) al igual que las de soja, siendo muy apreciadas en los países hispano-americanos para obtener harina de pan, galletas, fibra vegetal, e incluso son usadas para controlar los niveles de glucosa en la diabetes tipo 2.



Figura 1. *Planta de* Lupinus albus *cv. Multolupa en floración. Finca La Higueruela, Santa Olalla (Toledo).*

El lupino es una de las leguminosas que mayor cantidad de N fija en el suelo, repercutiendo positivamente sobre el Medio Ambiente y la Agricultura. Posee una serie de características, tales como la capacidad para solubilizar y absorber elementos del suelo, gracias a su sistema radical extensivo (raíces proteoides), y la supervivencia en suelos con escasez de agua y nutrientes y acidez alta. *Lupinus* es una de las pocas leguminosas que no posee micorrizas, y la absorción del fósforo del suelo se produce gracias a sus raíces proteoides. Además puede considerarse una de las leguminosas con mayor tolerancia a diferentes estreses abióticos, como nitrato (de Lorenzo y col., 1993; Lang, 1990; Lang y col., 1993), salinidad (Fernández-Pascual y col., 1996), herbicidas (De María, 2004; De María y col., 2006), sequía, etc. También puede acumular en

sus raíces metales pesados como Cd (Zornoza y col., 2002; Carpena y col., 2003), Hg, Pb, Zn (Pastor y col., 2003) y Cr, lo que le hace ser un potencial fitorremediador de sistemas contaminados.

Las especies del género *Lupinus* establecen simbiosis con bacterias del género *Bradyrhizobium,* en el cual sólo hay una especie definida: *Bradyrhizobium japonicum*. El resto de las especies se nombran con el nombre del género seguido de la especie de leguminosa que nodulan. En el caso de *Lupinus: Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*). Actualmente está considerada como una de las simbiosis más efectivas.

La simbiosis *Bradyrhizobium-Lupinus* no sigue el patrón general de infección a través de los pelos radiculares como lo hacen la mayoría de las leguminosas. El nódulo de lupino, aunque de carácter indeterminado, presenta características propias, constituyendo el tipo denominado lupinoide (Figura 2). Sus características estructurales han sido ampliamente estudiadas por nuestro grupo de investigación (de Lorenzo, 1992).

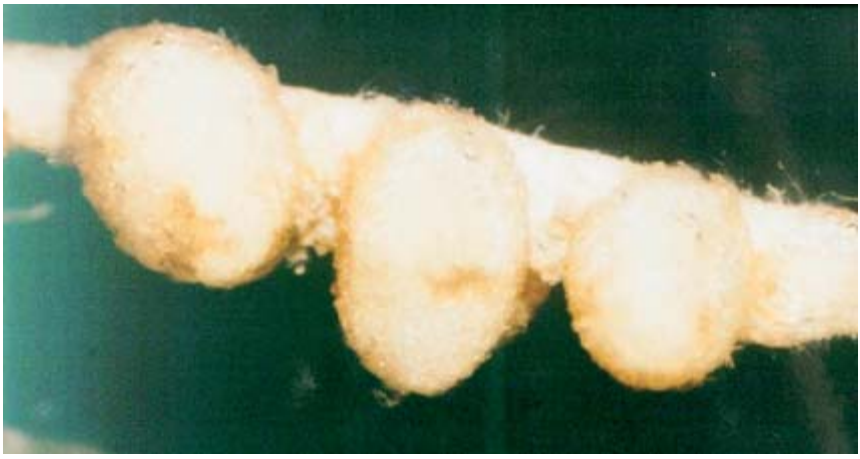


Figura 2. *Nódulos de* Lupinus albus *crecidos en raíces secundarias.*

1.1.1. *Estructura de los nódulos*

La Figura 3 muestra un nódulo de lupino al microscopio óptico. Está formado por una corteza externa de células alargadas más o menos isodiamétricas, una corteza media de células irregulares de mayor tamaño y de paredes engrosadas, una corteza interna y una zona central que corresponde a la zona infectada. Los haces vasculares por los que se comunica el nódulo con la raíz se sitúan en la corteza interna. Al contrario que la mayoría de las leguminosas, la zona infectada del nódulo de lupino está formada por células infectadas única-

mente, no existiendo células no infectadas, lo que constituye otra característica de esta planta. En las células infectadas, las bacterias se transforman en bacteroides, rodeándose de una membrana de origen vegetal que es la llamada «membrana peribacteroidal». La unidad fijadora de nitrógeno o «simbiosoma» está constituida por uno o más bacteroides rodeados de la membrana peribacteroidal, que les separa del citosol de las células infectadas (Cabezas de Herrera y Fernández-Pascual 1982; Fernández-Pascual, 1984).

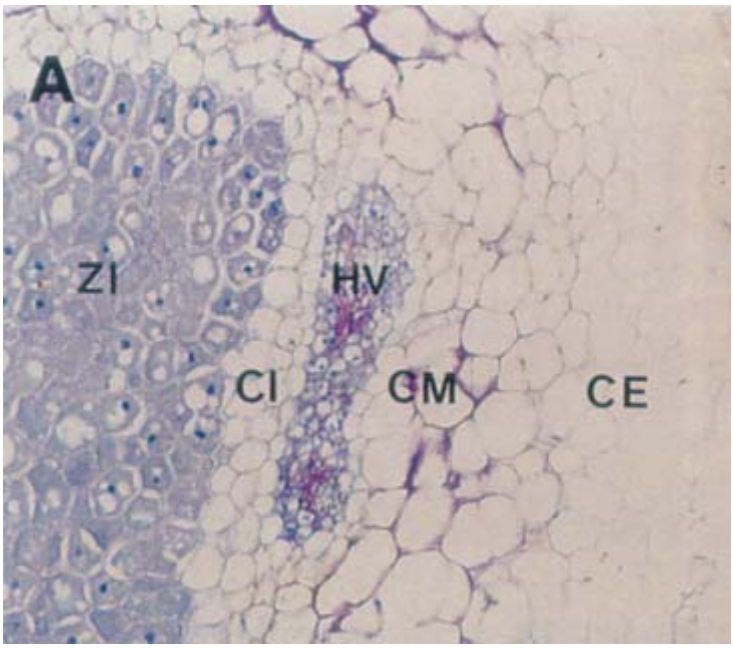


Figura 3. *Nódulo de* Lupinus albus *incluido en Paraplast y teñido con toluidina. ZI, zona infectada; HV, haces vasculares; CI, corteza interna; CM, corteza media; CE, corteza externa.*

Los bacteroides de *Bradyrhizobium* ocupan la mayor parte de la zona infectada. Junto a ellos se encuentran orgánulos subcelulares como amiloplastos, mitocondrias y peroxisomas. A su vez, los bacteroides observados al microscopio electrónico son de tipo multiforme, contienen reservas de polihidroxybutirato y polifosfato (Figura 4). Pero su principal característica es su capacidad para fijar nitrógeno, gracias a que, como se ha mencionado anteriormente, poseen el enzima *nitrogenasa,* que transforma el nitrógeno atmosférico en amoníaco y posteriormente por acción de otros enzimas del metabolismo del nitrógeno, glutamina sintetasa (GS), glutamato sintasa (GOGAT) y glutamato deshidrogenasa (GDH), el amoníaco se transforma en aminoácidos y éstos en amidas que son transportadas a la parte aérea de la planta.

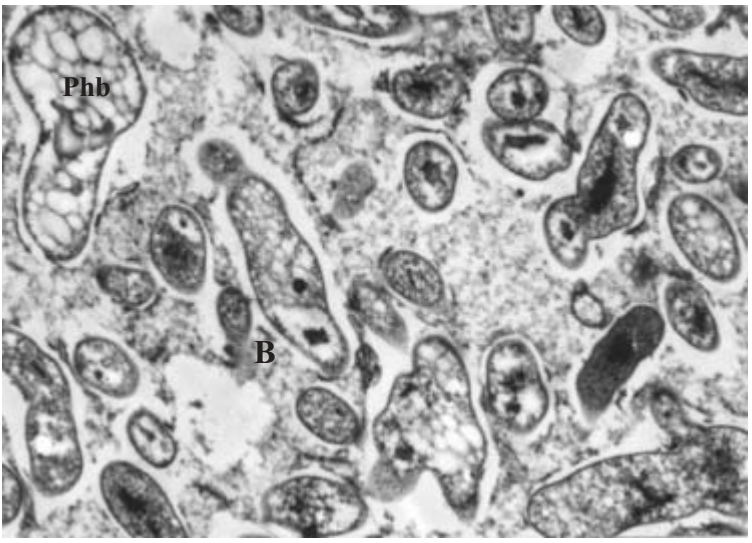


Figura 4. *Bacteroides de* Bradyrhizobium *sp.* (Lupinus) *de nódulos procesados para su observación por Microscopía Electrónica de Transmisión. B, Bacteroides. Phb, polihidroxibutirato.*

1.1.2. *Infección en la simbiosis* Bradyrhizobium-Lupinus

Como hemos mencionado anteriormente, la infección de las raíces de *Lupinus* por *Bradyrhizobium* no obedece al patrón general de las leguminosas a través de los pelos radiculares, sino que posee características propias (González-Sama, 2003). Aplicando diferentes tipos de microscopía (óptica, láser-confocal y electrónica en todas sus variantes), técnicas de inmunomarcado, y especialmente usando como marcador la Green Fluorescens Protein (GFP), hemos podido realizar el estudio de esta «peculiar simbiosis».

a) Colonización de la superficie de la raíz e infección de las células corticales

El reconocimiento de ambos simbiontes se inicia mediante la excreción de los exudados de la raíz, adhiriéndose las bacterias a la superficie de los pelos radiculares. Cuatro días después se observan las bacterias inmersas en excreciones mucilaginosas (Figura 5 A, B) que han sido identificadas como glicoproteínas por el anticuerpo monoclonal MAC 265. La entrada en la corteza de la raíz se realiza por vía intercelular (Figura 5 C) y la infección se produce en una única célula situada bajo el pelo radical (Figura 5 D). Las bacterias se liberan en esta primera célula infectada mediante estructuras alteradas de la pared celular (Figura 6 A, B). Como se ha mencionado, no se observan canales de infección (González-Sama y col., 2004).

b) Formación del primordio nodular

La célula cortical infectada se divide, durante varios ciclos, dando lugar a células hijas infectadas (Figura 6 A, 7 A). Las células de alrededor no infectadas, se dividen simultáneamente, dando lugar al primordio nodular que presenta dos zonas diferentes: zona central, origen de la zona infectada del nódulo (Figura 7) y zona cortical, que presenta células no infectadas en división, origen de la corteza nodular. La división de las células infectadas y el reparto de bacterias antes de la citocinesis (Figura 7 C-D) es una característica del nódulo de altramuz, que no poseen la mayoría de los nódulos de leguminosas estudiados hasta ahora (González-Sama y col., 2004).

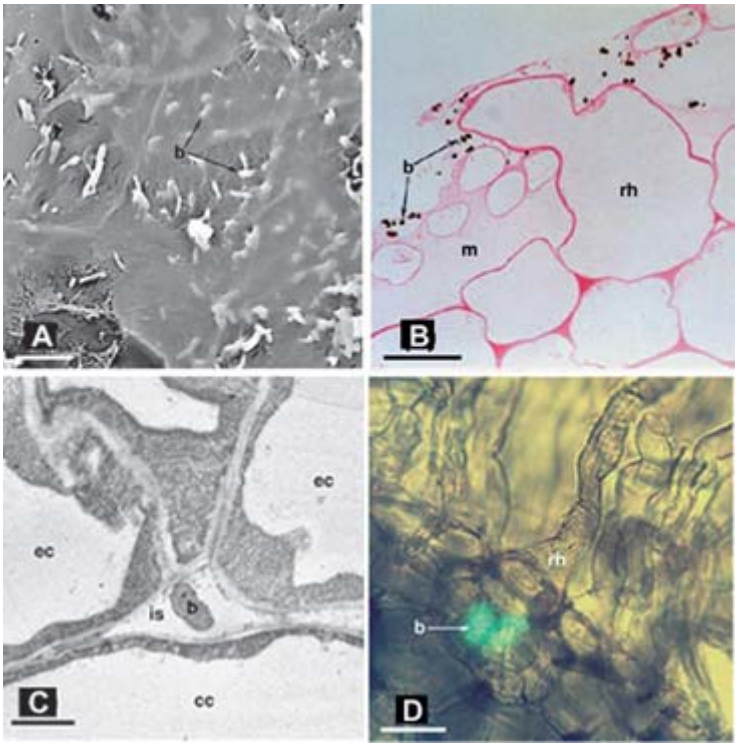


Figura 5. *Colonización bacteriana e infección de las raíces de* Lupinus albus. **A,** *Imagen de microscopía de barrido a baja temperatura mostrando bacterias de* Bradyrhizobium *sp.* (Lupinus) *cepa ISLU 16, embebidas en un mucigel, cuatro días después de la inoculación. Barra: 10 μm.* **B,** *Microfotografías de campo claro mostrando células de ISLU 16 inmunomarcadas en secciones de raíz teñidas con fuchsina básica. Barra: 20 μm.* **C,** *Microfotografía electrónica de transmisión de una célula de* Bradyrhizobium *localizada en un espacio intercelular de células epidérmicas, cinco-seis días después de la inoculación. Barra: 2 μm.* **D,** *Microfotografía de fluorescencia de una raíz inoculada con* Mesorhizobium loti *marcada con GFP, mostrando el foco de infección debajo del pelo radical. Barra: 50 μm. B, bacteria; ec, célula epidérmica; cc, célula cortical; is, espacio intercelular; m, mucigel; rh, pelo radical.*

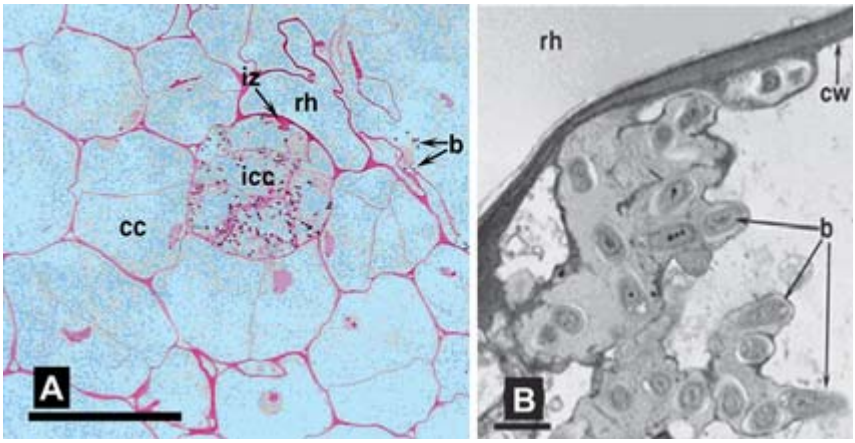


Figura 6. *Invasión celular de* Bradyrhizobium *sp.* (Lupinus) *cepa ISLU 16, seis días después de la inoculación.* **A,** *Microfotografía de campo claro mostrando la zona de infección a través de la pared de la célula cortical, y células infectadas y no infectadas en división. Barra: 50 μm.* **B,** *microfotografía electrónica de la zona de infección con bacterias inmersas en la matriz de infección. Barra: 2 μm. b, bacteria; cc, célula cortical; cw, pared celular; icc, células corticales infectadas; iz, zona de infección; rh, pelo radical.*

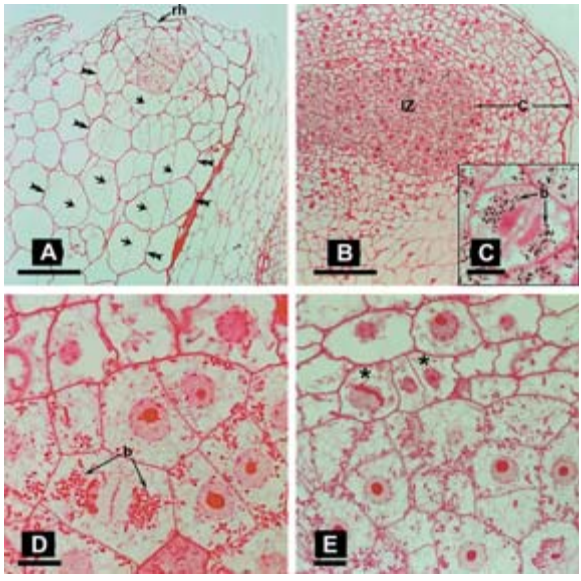


Figura 7. *Desarrollo del nódulo de* Lupinus albus. **A,** *Microfotografía de un primordio nodular, nueve días después de la inoculación, teñido con fuchsina básica, en el que se aprecian la zona de células corticales en división (doble punta de flechas) y paredes de células recién divididas (punta de flecha). Barra: 100 μm.* **B,** *Primordio nodular, once días después de inocular, mostrando células en división en la zona infectada y la corteza. Barra: 100 μm.* **C,** *Detalle de una célula infectada en división. Bacterias de ISLU 16 inmunomarcadas. Barra: 10 μm.* **D, E,** *Detalle de células en la zona infectada y la corteza mostrando diferentes estados de división (*). Barra: 10 μm. b, bacteria; c, corteza; iz, zona infectada, rh, pelo radicular.*

1.1.3. *Factores que regulan la concentración de oxígeno en la simbiosis* Bradyrhizobium-Lupinus

El enzima nitrogenasa es inactivada por el oxígeno. Por ello, la concentración de oxígeno está limitada en el interior del nódulo, para lo cual la planta cuenta con varios mecanismos de regulación:

1.1.3.1. Leghemoglobina (hemoglobina de las plantas)

La leghemoglobina (Lh) es la proteína mayoritaria del nódulo, cuya función es transportar oxígeno a los bacteroides, transformada en oxileghemoglobina. Se cree que a su síntesis contribuyen ambos simbiontes, bacteria y planta, y aparece cuando el nódulo está formado morfológicamente. La primera definición de nodulina incluía a toda proteína de la planta que se encontraba exclusivamente en el nódulo. La leghemoglobina es la más característica del nódulo por ser la más abundante. Se la denomina «nodulina tardía» por expresarse después del desarrollo morfológico del nódulo. Su presencia es imprescindible para que la fijación de nitrógeno pueda realizarse. Para cumplir esta función el Fe del grupo hemo debe estar en forma reducida (Fe^{2+}), existiendo reductasas en el nódulo para controlar la oxidación.

Por el importante papel que juega esta proteína, su localización fue motivo de estudio por laboratorios de diversos países, siendo los resultados muy contradictorios. Las técnicas bioquímicas utilizadas de separación por ultracentrifugación de los constituyentes del nódulo no son recomendables para conocer con exactitud y específicamente la localización celular de un componente nodular determinado, ya que durante la separación de los orgánulos se producen contaminaciones que conducen a la obtención de artefactos.

a) *Localización de la Lh por técnicas inmunocitoquímicas*

El uso de estas técnicas es de gran valor en los estudios de Biología Vegetal, pues permiten la localización específica y exacta de los componentes químicos en los tejidos. Cualquier componente con capacidad de poder ser extraído de la célula, purificado y obtenido su anticuerpo, puede ser localizado específicamente por técnicas inmunocitoquímicas. Pueden ser aplicadas en microscopía electrónica, con anticuerpos unidos a oro coloidal, y en microscopía óptica, en cuyo caso se necesita intensificar las partículas de oro coloidal con plata, por la técnica del «silver enhancement». El primer componente nodular localizado por estas técnicas fue la «uricasa», que por mucho tiempo se creyó que estaba en las células infectadas de nódulos determinados de soja, comprobándose por inmunocitoquímica que estaba en los peroxisomas de las células no infectadas (VandenBosch and Newcomb, 1986). Este estudio constituyó uno de los primeros trabajos relacionando inducción de nodulinas con el desarrollo y función de los nódulos.

La localización de la leghemoglobina constituyó un tema de debate durante largos años, pues los resultados eran contradictorios. Por técnicas bioquímicas, la localización se encontró bien en el espacio peribacteroidal o en la membrana del bacteroide, por lo que creímos necesario realizar la localización por técnicas inmunocitoquímicas para conocer la localización real de la Lh en el nódulo de lupino.

A pesar de disponer del anticuerpo anti-leghemoglobina de soja, éste no fue reconocido por lupino, por lo que fue necesario extraer el antígeno Lh a partir de nódulos de lupino y una vez purificado obtener el anticuerpo policlonal, haciendo una caracterización posterior de las inmunoglobulinas. Se obtuvo un anticuerpo primario con un título muy alto de gran especificidad. La localización se realizó con un anticuerpo secundario cabra-anticonejo unido a oro coloidal (Vivo y col., 1989).

La Figura 8 muestra la localización de Lh en las células infectadas. En la Figura 8A se muestra la localización en el citosol y en la membrana peribacteroidal de los bacteroides de *Bradyrhizobium*. Estos resultados contradecían resultados anteriores sobre la localización de la Lh en el espacio peribacteroidal. En la Figura 8B se muestra la leghemoglobina en el núcleo de las células infectadas.

La localización de la Lh por técnicas inmunocitoquímicas representó un importante hallazgo en el campo de la fijación de nitrógeno, en lo concerniente a los mecanismos de regulación de oxígeno. El oxígeno transportado desde la superficie del nódulo a través de los espacios intercelulares de la corteza, llega a la zona infectada y en la interfase corteza-zona infectada es atrapado por la leghemoglobina que, transformada en oxileghemoglobina, libera el oxígeno de una manera paulatina a los bacteroides, desde la membrana peribacteroidal a la membrana bacteroidal, donde se encuentra la cadena respiratoria.

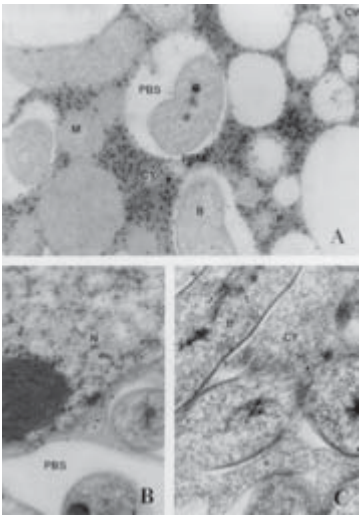


Figura 8. *Secciones ultrafinas de células infectadas.* **A,** *Sección inmunomarcada con anti-leghemoglobina de lupino x 32.000.* **B,** *Las mismas secciones que A, mostrando inmunolocalización en el núcleo x 65.000.* **C,** *Sección incubada con suero preinmune x 78.000. B, bacteroid; CW, pared celular; CY, citosol; M, mitocondria; N, núcleo; P peroxisoma; PBM, membrana peribacteroidal, PBS, espacio peribacteroidal.*

Nuestro anticuerpo anti-leghemoglobina de *Lupinus* ha sido utilizado por investigadores del Instituto Max Planck en el Departamento de Biología Molecular de Plantas para sus estudios de movilidad de proteínas.

b) *Estudio de la estructura real del simbiosoma. Técnica de High Pressure Freezing*

Conocida la localización espacial de la leghemoglobina por técnicas inmunocitoquímicas en el citosol del nódulo y en la membrana peribacteroidal, se abrió un nuevo interrogante acerca de cómo es transportado el oxígeno hasta los bacteroides.

El hecho de no existir leghemoglobina en el espacio peribacteroidal conducía a la hipótesis de la existencia de un «carrier» en el simbiosoma, un transportador de oxígeno desde la membrana peribacteroidal (PBM) a la bacteroidal (BM). Se llegó a especular sobre la posible existencia de transportadores enzimáticos de oxígeno situados en el espacio peribacteroidal, tipo ATPasas.

Sin embargo, al observar los espacios peribacteroidales vacíos al microscopio electrónico, la hipótesis de los transportadores enzimáticos no convenció a nuestro equipo de investigación y creímos conveniente profundizar en la relación entre la célula hospedadora y el microsimbionte (*Bradyrhizobium*), para lo cual se hacía necesario estudiar la estructura del nódulo por técnicas que pusieran de relieve su estructura real, pues la observación del espacio peribacteroidal por técnicas convencionales podría ser un artefacto.

La observación de la célula en estado nativo supone la crioinmovilización de los componentes morfológicos y químicos mediante velocidades muy altas de enfriamiento para evitar la formación de cristales de hielo que causan serios daños a los tejidos (Studer y col., 1992). Esto se logra congelando el agua de las células al estado amorfo (vitrificación). La técnica llamada «High Pressure Freezing» (HPF) cumple estos requisitos, y es el único método hasta la actualidad capaz de crioinmovilizar con seguridad hasta 500 μm de tamaño en su estado nativo (Moor, 1987).

En 1996 no existía ningún equipo en España de High Pressure-Freezing. El trabajo lo realizamos en la Universidad Pierre et Marie Curie en París, con un HPF 010 Bal-Tec (Liechtenstein). Nuestro objetivo fue comparar la estructura de nódulos de *Lupinus albus* y *Phaseolus vulgaris* observada por procesamiento convencional con la obtenida por HPF, poniendo especial atención a la constitución morfológica del simbiosoma.

Los resultados obtenidos mostraron claramente que la membrana peribacteroidal está en estrecho contacto con la membrana bacteroidal (Figuras 9 y 10) en ambos tipos de nódulo, dejando un espacio peribacteroidal muy reducido entre ambas membranas, al contrario de cómo se había observado por técnicas

anteriores. El estrecho espacio peribacteroidal aparecía como una matriz densa a los electrones, lo que corrobora la posible existencia de enzimas y proteínas en este espacio (Katinakis y col., 1988).

El estudio por HPF nos ha permitido conocer cómo se transporta el O_2 liberado por la leghemoglobina desde la membrana peribacteroidal directamente a la membrana bacteroidal y a los bacteroides. Un estrecho intercambio de nutrientes y metabolitos entre ambos simbiontes, planta y bacteria, puede tener lugar con normalidad entre ambas membranas.

Mediante la aplicación del HPF al estudio morfológico del nódulo se observó la relación espacial entre las cisternas de retículo endoplásmico y el aparato de Golgi con la membrana peribacteroidal, lo que indica que estas estructuras podrían estar relacionadas con la formación del simbiosoma (Figura 9 y 10). La técnica HPF permite una excelente preservación de los tejidos y constituye la técnica apropiada para estudiar aspectos funcionales en el desarrollo de los nódulos. Las técnicas convencionales con procesamientos largos de los tejidos, fijación, deshidratación, imbibición, inclusión en plásticos, etc., introducen problemas de osmolaridad, por lo que no son adecuadas si se desea una buena preservación de la estructura. La aplicación de HPF puede también ayudar a investigar en su estado nativo el proceso de formación del simbiosoma, y a profundizar desde su origen en la relación estructura-función de este orgánulo subcelular, existente únicamente en leguminosas (de Felipe y col., 1997).

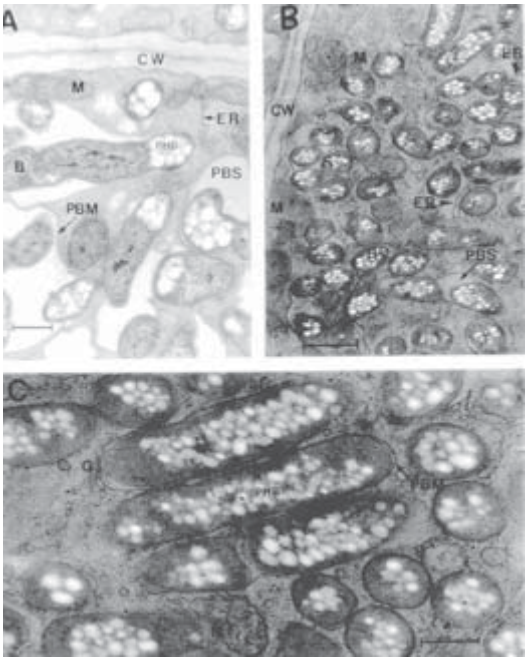


FIGURA 9. *Microfotografías electrónicas de nódulos de* Phaseolus vulgaris. **A,** *Nódulos fijados químicamente mostrando varios simbiosomas en células infectadas. Barra: 0,5 μm.* **B,** *Nódulos procesados mediante HPF, mostrando cisternas del retículo endoplásmico unidos a los simbiosomas. Barra: 1 μm.* **C)** *Bacteroides rodeados de la membrana peribacteroidal. Barra: 0,5 μm. B, bacteroids; CW, pared celular, ER, retículo endoplásmico; G, aparato de Golgi; M, mitocondria,; PBM, membrana peribacteroidal, PBS, espacio peribacteroidal; PHB polihidroxibutirato.*

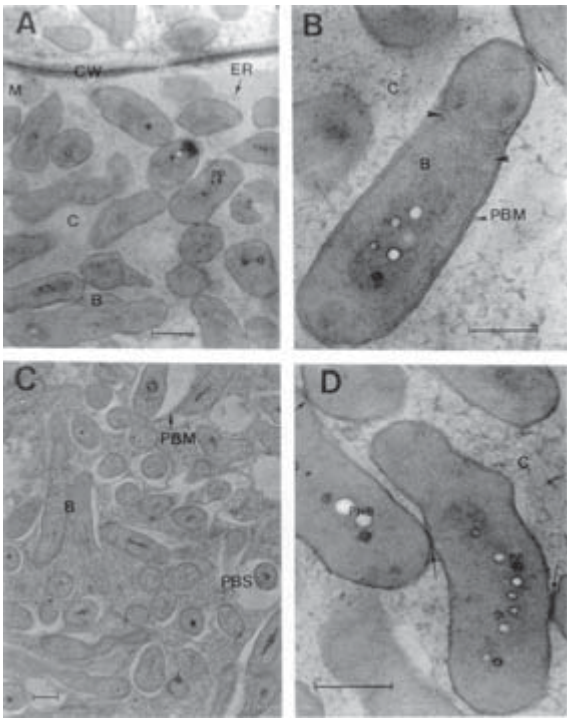


Figura 10. *Microfotografías obtenidas mediante microscopía electrónica de nódulos de Lupinus albus.* **A,** *Vista general de células infectadas de nódulos tratados con HPF.* **B,** *Detalle de bacteroides mostrando la membrana peribactorial estrechamente unida al bacteroide.* **C,** *Vista general de células infectadas de nódulos tratados mediante la técnica convencional. Las diferencias entre los espacios peribacteroidales de A y C son claramente visibles.* **D,** *Puntos de contacto entre bacteroides. B, bacteroids; C, citosol; CW, pared celular, ER, reticulo endoplasmico; G, aparato de Golgi; M, mitocondria, PBM, membrana peribacteroidal; PBS, espacio peribacteroidal; PHB, polihidroxibutirato; PP, polifosfato.*

1.1.3.2. Barrera de resistencia a la difusión de oxígeno

Constituye otro de los mecanismos de regulación de oxígeno en los nódulos de leguminosas (de Lorenzo, 1992). Como se ha mencionado, el oxígeno difunde desde la superficie externa al interior del nódulo a través de los espacios intercelulares hasta la zona infectada donde es atrapado por la Lh. El uso de un microelectrodo de oxígeno para seguir la concentración de O_2 desde la superficie al interior del nódulo, da como resultado una disminución drástica a partir de la corteza media, lo que parece indicar que esta estructura regula el acceso de O_2 a la zona central del nódulo donde se encuentran los bacteroides.

La corteza media de *Lupinus albus* (Figura 11), está formada por dos o tres capas de células de mayor tamaño que las de la corteza externa e interna con grandes espacios intercelulares y paredes engrosadas. La tinción con ácido periódico-base de Schiff, usada rutinariamente para la localización de hidratos de carbono, muestra una tinción intensa de las paredes celulares de la corteza media y de la matriz de los espacios intercelulares, lo que indica su constitución hidrocarbonada (Figura 12).

Con el fin de conocer exactamente la naturaleza hidrocarbonada de la matriz de los espacios intercelulares, aplicamos técnicas inmunocitoquímicas con anti-

cuerpos monoclonales obtenidos en el laboratorio del Doctor N. J. Brewin (John Innes Institute, Norwich, Inglaterra) contra componentes de nódulos de guisante. Los anticuerpos empleados, MAC 265 y MAC 236, habían localizado *in situ* una glicoproteína de guisante en los canales y gotas de infección (VandenBosch y col., 1989).

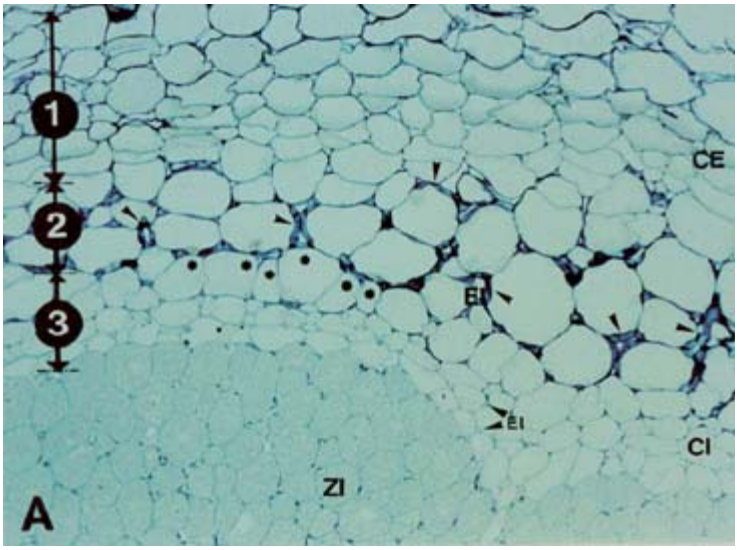


FIGURA 11. *Detalle de la corteza del nódulo de* Lupinus albus. *Sección radial. CE, corteza externa (1), Corteza media (2). X 300, Corteza interna (3). EI, espacio intercelular; ZI, zona infectada.*

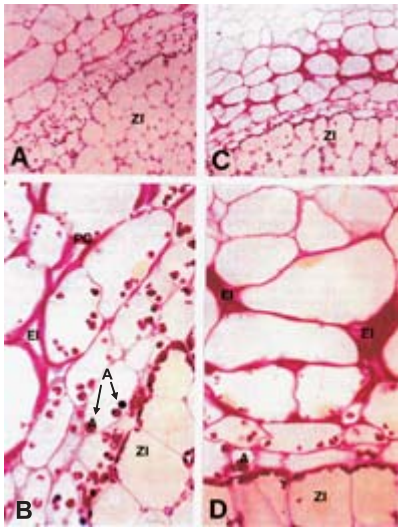


FIGURA 12. *Localización histoquímica de carbohidratos en el nódulo de altramuz.* **A,** *Nódulo control. X 200.* **B,** *Detalle de A. X 600.* **C,** *Nódulo tras cuatro días de exposición a 20 mM de nitrato potásico. X 200.* **D,** *Detalle de C. X 600. A, almidón; EI, espacio intercelular; PC, pared celular; ZI, zona infectada.*

También ambos anticuerpos habían reaccionado con una única banda de 95 kDa en extractos solubles de guisante mediante electroforesis desnaturalizante e immunoblotting obteniendo los mismos resultados en extractos de judía y soja (Vanden Bosch y col., 1989) y en especies de los géneros *Vicia* y *Lathyrus* (Pozuelo y col., 1993). Sin embargo, en extractos de *Lupinus albus* el anticuerpo MAC 236 reconoció una banda de 240 kDa, mientras que el MAC 265 reconoció una única banda de 135 kDa (de Lorenzo y col., 1993). Los resultados sugirieron que en lupino los dos epítopos pueden pertenecer a dos glicoproteínas estrechamente relacionadas, pero con funciones diferentes. Nuestro objetivo se centró en determinar estas funciones en la regulación de oxígeno y en su localización en la corteza media del nódulo.

La Figura 13 muestra la localización del antígeno MAC 236 en los espacios intercelulares de las células de la corteza media del nódulo de lupino mediante microscopía óptica y electrónica.

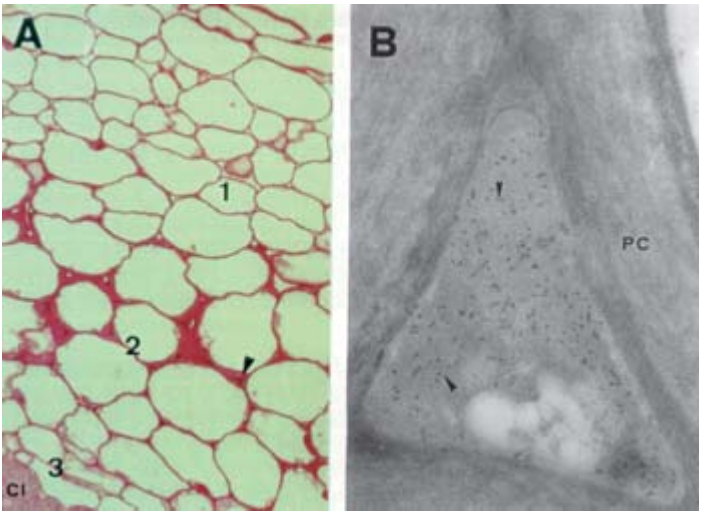


Figura 13. *Inmunolocalización de la glicoproteína reconocida por el anticuerpo monoclonal MAC 236 en nódulos de altramuz, al microscopio óptico (A) y electrónico (B).* **A,** *Corteza externa (1), corteza media (2) y corteza interna (3). x 200.* **B,** *Espacio intercelular de zona 2. x 43.900. CI, células infectadas; PC, pared celular.*

Para conocer el comportamiento de la corteza media como posible barrera de resistencia a la difusión de oxígeno, comparamos la localización inmunocitoquímica en plantas crecidas en condiciones normales y en presencia de nitrato, que como se ha mencionado tiene un efecto negativo sobre la fijación de N_2. El nitrato inhibe la fijación de nitrógeno, ya que la absorción de nitrato consume la energía que los bacteroides necesitan para fijar nitrógeno en las raíces. En la Figura 14 se observa la localización del MAC 236 en nódulos radicales de plantas control y crecidas con nitrato.

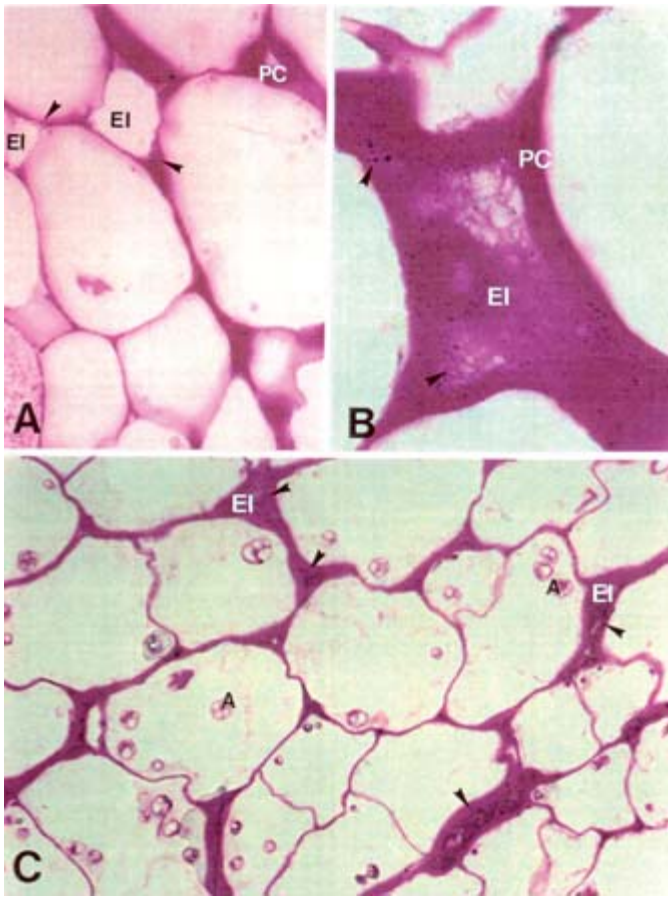


Figura 14. *Localización inmunocitoquímica de glicoproteína con MAC 236 al microscopio óptico.* **A,** *Nódulos control. Espacio intercelular libre. x 380.* **B,** *Espacio intercelular ocluido parcialmente por una matriz inmunomarcada. x 950.* **C,** *Espacios intercelulares totalmente ocluidos en un nódulo tratado con nitrato potásico 20 mM durante cuatro días. x 380. A, almidón; EI espacio intercelular; PC, pared celular.*

La localización inmunocitoquímica fue mayor en el último caso, lo que parece indicar que la glicoproteína de los espacios intercelulares está relacionada íntimamente con la operación de la barrera, aumentando o disminuyendo su contenido y en consecuencia abriendo o cerrando el flujo de oxígeno a la zona infectada.

En condiciones de estrés (nitrato, oscuridad, salinidad, etc.) las glicoproteínas aumentan en los espacios intercelulares, cerrando la posibilidad al oxígeno de difundir a la zona infectada (Fernández Pascual y col., 1996). De este modo, la barrera es capaz de ajustar la resistencia a la difusión de O_2 de acuerdo a las condiciones ambientales de crecimiento de las plantas.

Los trabajos que nuestro grupo ha llevado a cabo para el estudio de la identificación y operación de la barrera de resistencia a la difusión de O_2 han sido realizados en colaboración con el Doctor Frank Minchin (Aberystwyth, País de Gales, U.K.). De los dos epitopos estudiados, MAC 236 y MAC 265, el primero parece estar relacionado con el desarrollo del nódulo y situaciones de estrés de la planta, de ahí su papel en el funcionamiento de la barrera de difusión de oxígeno, regulando su concentración en la zona infectada. Por el contrario, el epitopo MAC 265 apenas se encuentra localizado en la matriz intercelular y creemos que está principalmente asociado a los primeros estadios de la infección del *Bradyrhizobium* (de Lorenzo y col., 1998) y su concentración no cambia con la edad de la planta, como se observa en la Figura 15B.

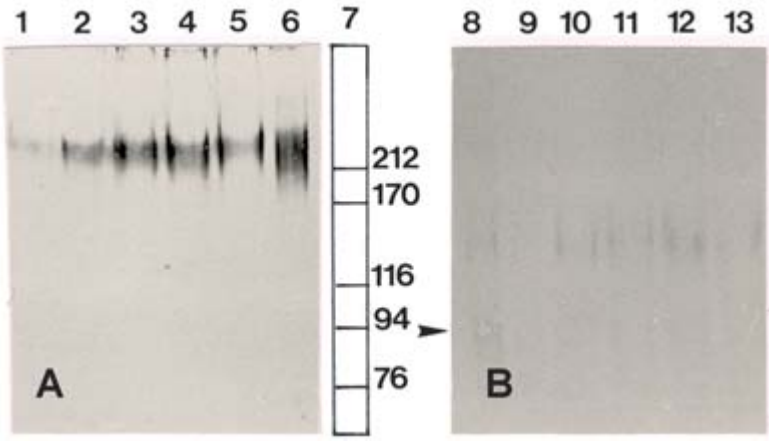


Figura 15. *Inmunodetección de antígenos MAC 236 y MAC 265 en extractos de nódulo de altramuz después de SDS-PAGE y Western blot.* **A,** *Detección de MAC 236. 1-7 fracción soluble de nódulos de 13, 18, 22, 26, 29, 35 y 42 días después de la inoculación. 7, marcadores de peso molecular.* **B,** *Detección de MAC 265. Líneas de 8 a 13 como en* ***A.***

Así pues, en esta simbiosis las glicoproteínas parecen también tener un papel relevante en las primeras etapas de interacción entre los dos simbiontes, tal vez en la fase de reconocimiento junto a sustancias flavonoides específicas.

La aplicación de técnicas inmunocitoquímicas nos ha ayudado de modo eficaz a conocer la función de las glicoproteínas en los mecanismos de operación de la barrera de resistencia a la difusión de O_2 en condiciones normales y frente a estreses ambientales (de Lorenzo y col., 1993; Iannetta y col., 1993, Fernández-Pascual y col., 1996). Además nos ha permitido conocer la existencia de estructuras nodulares no descritas con anterioridad (de Lorenzo y col., 1993), que se encuentran adheridas a las paredes celulares que rodean los espacios intercelulares de la barrera morfológica, conteniendo también glicoproteínas y que pudieran actuar como reservorios de estas proteínas a lo largo del desarrollo del nódulo.

1.1.3.3. Expresión de genes implicados en la regulación de O_2

Siguiendo nuestros estudios sobre la identificación y operación de la barrera de resistencia a la difusión de oxígeno, nuestro objetivo se centró en constatar si la limitación de oxígeno en el nódulo es la causa principal de la inhibición de la fijación de nitrógeno, lo que realizamos mediante la aplicación de diferentes concentraciones de oxígeno por debajo y por encima de la presión atmosférica: 1% y 40% de oxígeno (Guasch, 1998 y Guasch y col., 2001). Este estudio estructural fue complementado con la expresión de los genes relacionados con la difusión de O_2: *enod 2*, *leghemoglobina* y *nifH,* dado el desconocimiento de las bases moleculares de la barrera a la difusión de oxígeno.

Trabajos realizados por el Profesor T. Bisseling del Departamento de Genética Molecular de la Universidad de Wageningen, señalaban la posibilidad de que el gen *enod 2* podría ser responsable de la constitución morfológica de la barrera de resistencia, debido a su localización en el parénquima nodular y a la secuencia codificante de dicho gen. Por ello, el trabajo genético lo llevamos a cabo en colaboración con el Profesor Bisseling para conocer la expresión del gen *enod 2* en nódulos de lupino. La aplicación de técnicas de Northern Blot e Hibridación *in situ* con la sonda de un fragmento de *lenod 2* de *Lupinus luteus,* cedida por el Doctor Legocki de la Universidad de Poznan (Polonia), sirvieron para demostrar la influencia del oxígeno en la expresión del gen (Guasch, 1998).

Para la hibridación *in situ* los tejidos fueron previamente fijados en paraformaldehído-glutaraldehído e incluidos en Paraplast. Se obtuvieron secciones de 10 μm de grosor. Para la hibridación, la sonda fue marcada con digoxigenina y para la detección se aplicaron anticuerpos antidigoxigenina unidos a fosfatasa alcalina o bien sonda marcada radioctivamente.

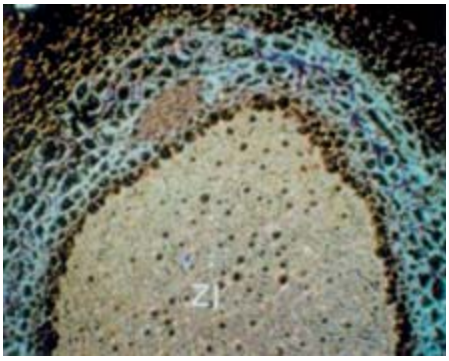


Figura 16. *Hibridación* in situ *(RNA-RNA) con sonda de lenod 2 marcada con S^{35} y revelada con emulsión fotográfica. Nódulos incluidos en Paraplast. ZI, zona infectada.*

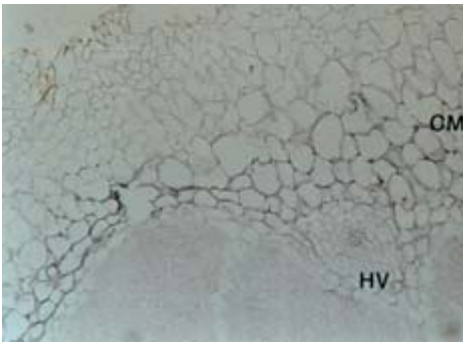


Figura 17. *Hibridación* in situ *(RNA-RNA) con sonda de lenod 2 marcada con digoxigenina y revelada con anticuerpos unidos a fosfatasa alcalina. Nódulos incluidos en Paraplast. CM, corteza media. HV, haz vascular.*

Las Figuras 16 y 17 muestran la localización del gen *lenod* 2 usando sonda radioactiva y digoxigenina respectivamente en una sección longitudinal del nódulo de lupino. Como puede observarse, la localización coincide con el parénquima o corteza media donde se sitúa la barrera de resistencia al O_2. La localización es muy específica, no encontrándose en otras estructuras del nódulo y varía con la concentración de oxígeno aplicada. Estos resultados apuntan a que el gen *lenod* 2 podría estar implicado en la formación de la barrera morfológica de resistencia a la difusión de O_2 (Guasch, 1998).

La expresión de *lenod 2* comienza a detectarse 13 días después de la inoculación, antes de la aparición de la nitrogenasa, por lo que puede considerarse como nodulina temprana. Con respecto a la expresión de genes implicados en la regulación de la difusión de O_2, el notable incremento del contenido del mensajero del gen *enod 2* con la aplicación de 40% O_2 al sistema radicular durante tres días coincide con el aumento de la resistencia mínima, lo que parece confirmar su papel en la difusión de oxígeno a medio plazo, mientras que a más largo plazo los cambios bioquímicos y genéticos ceden el protagonismo a los estructurales. El mensajero de leghemoglobina desciende de forma apreciable a partir del tercer día lo que está en concordancia con el papel regulador de la misma en el bloqueo de la difusión facilitada. Mientras que la expresión de *nifH,* perteneciente al simbionte, no se ve alterada por los tratamientos aplicados. Esto demuestra la capacidad de adaptación de los nódulos de lupino a altas concentraciones de O_2 debido a la sucesión de modificaciones fisiológicas, bioquímicas y estructurales producidas en los mecanismos de difusión de O_2 dentro del nódulo.

1.1.4. *Localización de glicoproteínas durante el desarrollo del nódulo*

Las diferencias electroforéticas encontradas entre los epítopos MAC 236 y MAC 265 en nódulos de lupino (apartado 1.1.3.2.), motivó un estudio detallado para conocer el papel de cada uno de ellos en la simbiosis. Su diferente comportamiento en los análisis electroforéticos y «Western blot» nos sugirió la posibilidad de su localización en diferentes compartimientos subcelulares. Podría incluso tratarse de una misma glicoproteína con diferente grado de glicosilación y con diferente función durante el desarrollo del nódulo.

Para ello continuamos el estudio de la distribución subcelular y variaciones cuantitativas de los epítopos MAC 236 y MAC 265 durante el desarrollo de *Lupinus albus* por medio de microscopía óptica y electrónica y por inmunocitoquímica (de Lorenzo y col., 1998).

Estos trabajos probaron que las técnicas inmunocitoquímicas son más sensibles que las técnicas de Western blot, detectando con mayor anticipación la aparición de ambos epitopos.

La inmunolocalización fue realizada en tres estadios diferentes del nódulo: *a)* primordio nodular, inducido en la raíz por la infección con *Bradyrhizobium*

(13 días después de la infección); *b)* nódulo muy joven (18-20 días después de la infección), al comienzo de la fijación de nitrógeno, y *c)* nódulo maduro (35 días después de la inoculación).

Ambos epítopos fueron localizados en el primordio nodular (Figura 18 A). El epítopo predominante fue el MAC 265, que también fue localizado en la rizosfera, en la proximidad de los pelos radiculares (Figura 18 C) y en los espacios intercelulares de las células corticales de la raíz (Figura 18 B), pero especialmente en las proximidades del primordio nodular (Figura 18 E y F). Estos resultados fueron confirmados al microscopio electrónico (Figura 19) observando abundantes vesículas (Figura 19 A-C) mostrando inmunolocalización en las proximidades del primordio nodular, y cisternas de aparato de Golgi inmunomarcadas. En estos componentes del Golgi se podría producir la glicosilación de las glicoproteínas en etapas muy preliminares (Figura 19 D-I).

En el nódulo maduro (Figura 20) ambos epítopos fueron localizados en la matriz de los espacios intercelulares de la corteza media, que constituye la barrera de resistencia a la difusión de O_2. La observación por microscopía electrónica permitió ver algunas diferencias entre ambos epitopos. Así el MAC 265 se encontró en vesículas intracelulares en el citoplasma (Figura 21 A, B), mientras que el MAC 236 se encuentra en unas estructuras lobulares anejas a la pared celular de los espacios intercelulares que pueden actuar como depósitos de glicoproteínas a lo largo del desarrollo del nódulo (Figura 21 D).

De los resultados obtenidos podemos concluir que ambos epitopos tienen diferentes funciones en el nódulo de lupino. El epítopo MAC 265 está asociado principalmente a los primeros estadios del establecimiento del nódulo en el reconocimiento entre la bacteria y la planta, siendo sintetizado en vesículas y transportado intracelularmente a través de las paredes celulares, antes de ser exportado a los espacios intercelulares. Por el contrario, el epitopo MAC 236 aumenta con el desarrollo del nódulo paralelamente a la fijación de nitrógeno. Se acumula principalmente en la matriz de los espacios intercelulares de la corteza media, regulando la operación de la barrera de resistencia y por ello la difusión de oxígeno a la zona infectada. Su presencia es esencial para el mantenimiento de la actividad fijadora de nitrógeno, protegiendo del oxígeno al enzima nitrogenasa. Las estructuras globulares con contenido en glicoproteínas, no descritas con anterioridad, pueden considerarse como reservorios de glicoproteínas que la planta utilizará durante su desarrollo o en condiciones de estreses bióticos o abióticos.

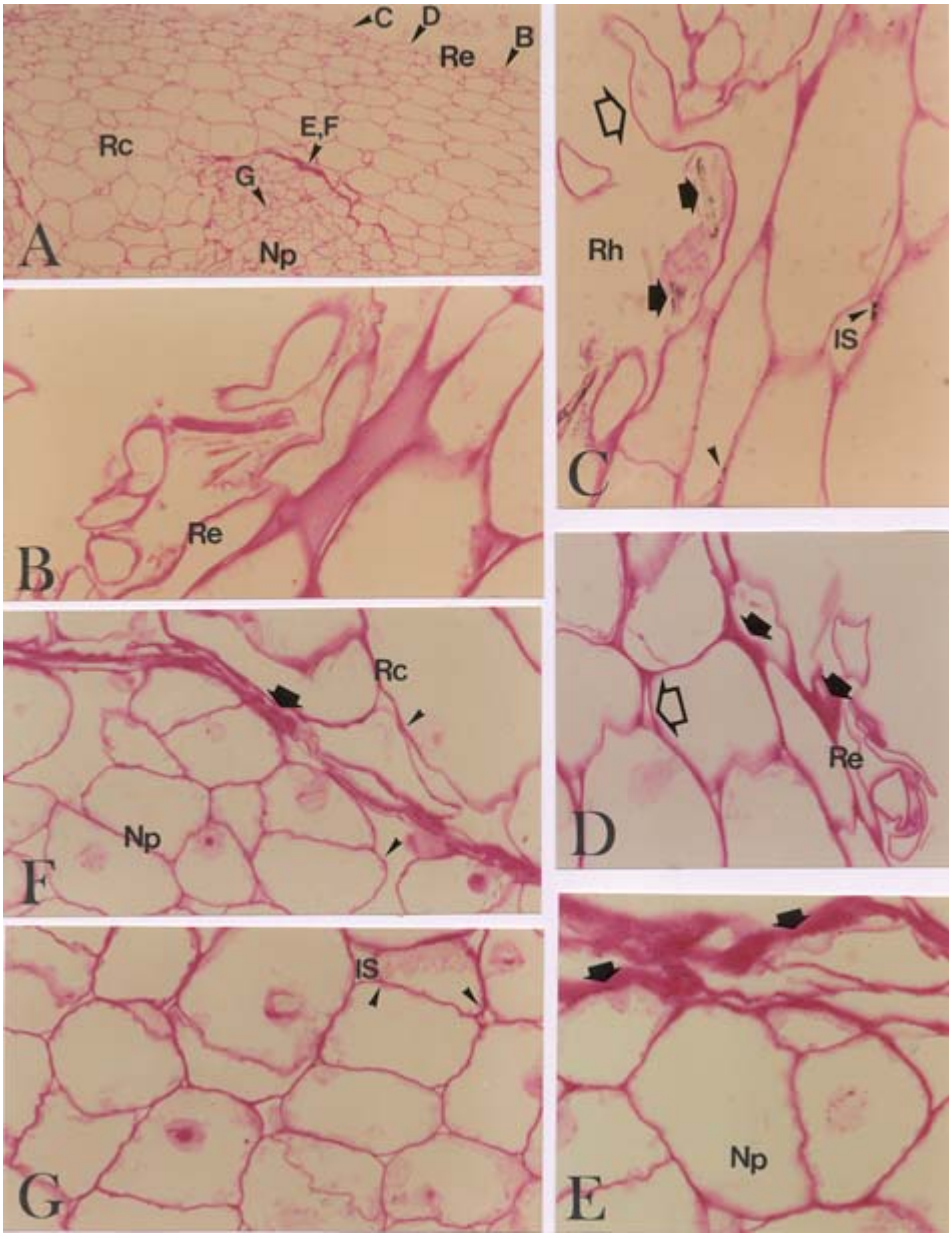


Figura 18. *Etapas iniciales en la formación del nódulo de* Lupinus *13 días después de la inoculación de las semillas, mostrando inmunolocalización y «silver enhancement» de las glicoproteínas MAC 236 y MAC 265 (flechas).* **A,** *x 75.* **B,** *x 750 y* **C,** *x 480.* **D,** *y* **E,** *x 750.* **F,** *x 480. IS, espacio intercelular; Np, primordio nodular; Rc, corteza radical; Re, epidermis radicular; Rh, rizosfera.*

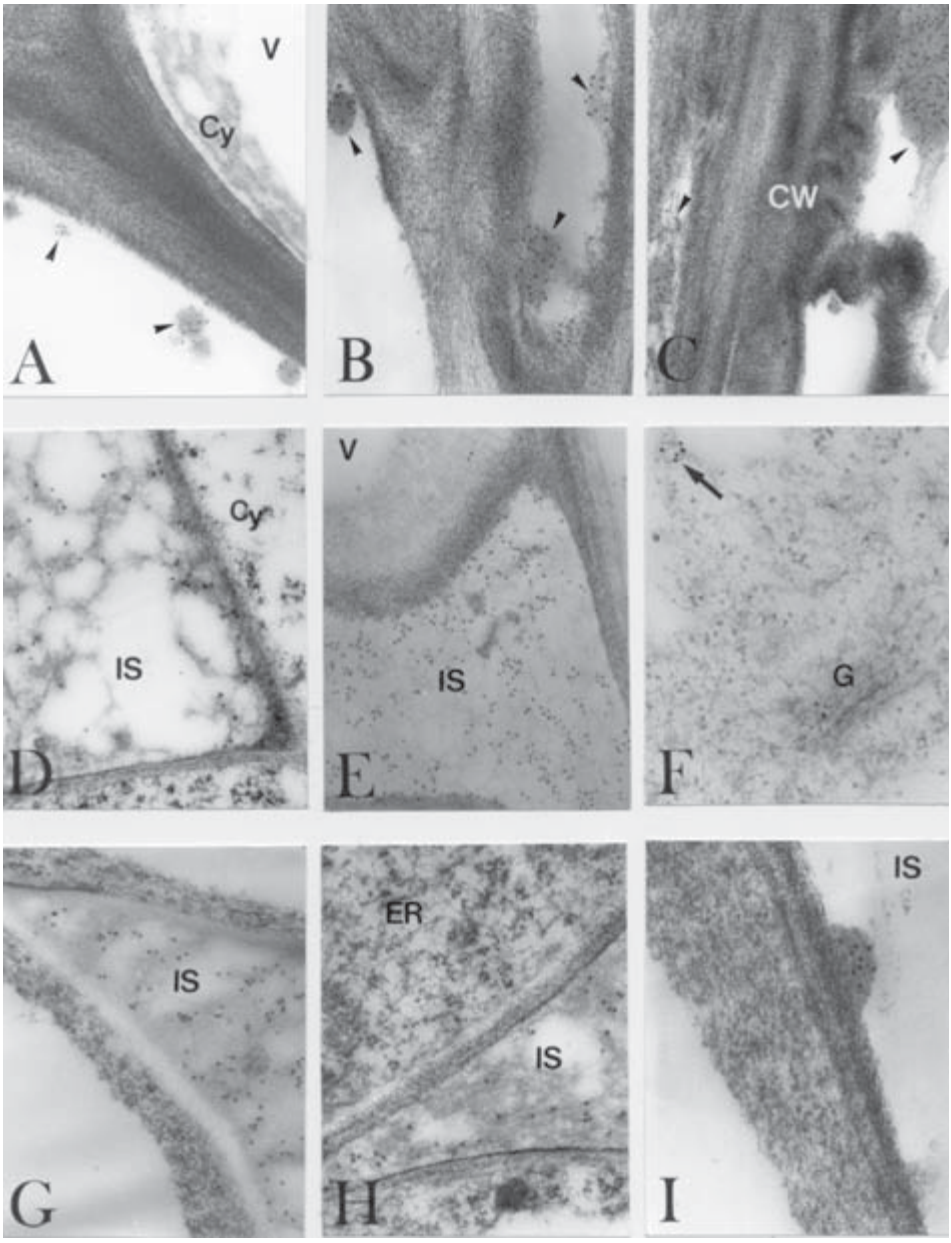


Figura 19. *Microfotografía electrónica mostrando inmunolocalización de MAC 236* **(D, E, G)** *y MAC 265* **(A-C, F, H, I)** *en raíces y primordios de Lupinus.* **A-F,** *Nódulos jóvenes (19 días después de la inoculación).* **G-I,** *Nódulos maduros. Cy, citoplasma; CW, pared celular; G, aparato de Golgi; IS, espacio intercelular; ER, retículo endoplásmico; V, vacuola.* **A, D** *x 41500;* **B,** *x 16800;* **C,** *x 32600;* **E, H,** *x 50700;* **F,** *x 76700;* **I,** *x 78500.*

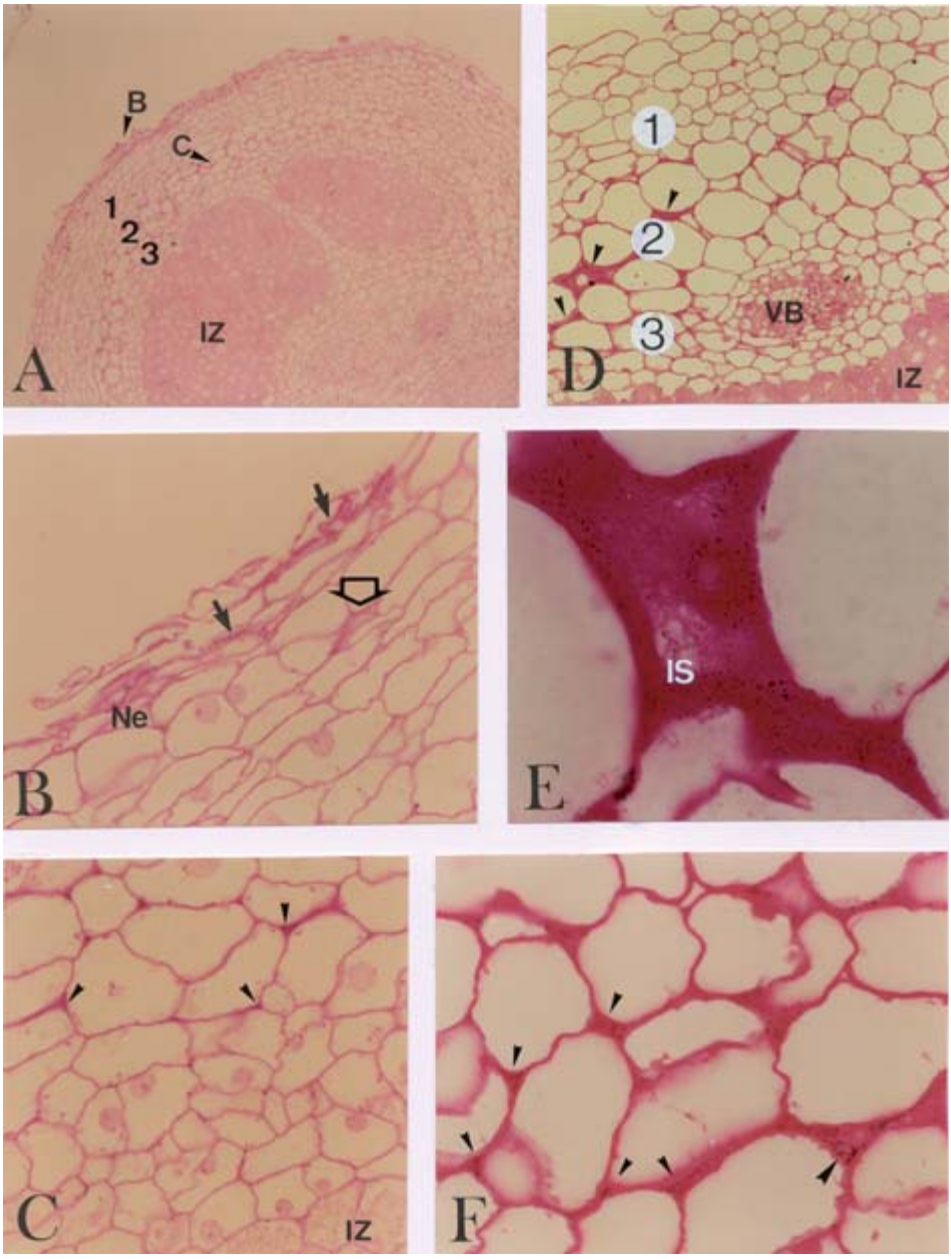


Figura 20. *Inmunolocalización de epitopos MAC 236 y MAC 265 en raíces de altramuz 18 días después de la inoculación* **(A-C)** *y nódulos maduros* **(D-F).** *IS, espacio intercelular; IZ, zona infectada; Ne, epidermis del nódulo; VB, haz vascular.* **A,** *x 75.* **B** *y* **C,** *x 750.* **D,** *x 480.* **E,** *x 1000;* **F,** *x 750.*

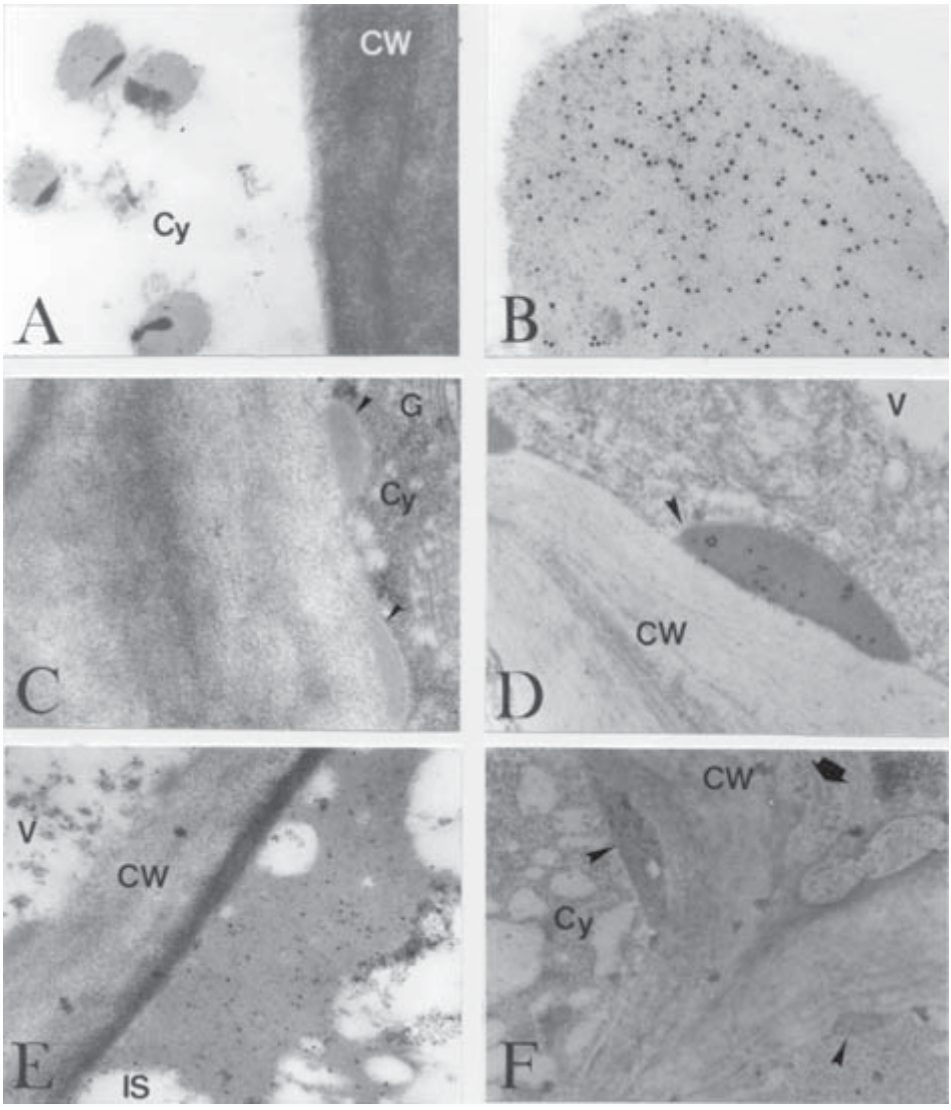


Figura 21. *Microfotografía electrónica mostrando inmunolocalización de MAC 236* **(D, F)** *y MAC 265* **(A-C, E)** *en nódulos maduros. Cy, citoplasma; CW, pared celular; G, aparato de Golgi; IS, espacio intercelular; V, vacuola.* **A, D, E,** *x 41500;* **B,** *x 66700;* **C,** *x 50700;* **F,** *x 8700.*

1.1.5. *Activación de MAPKs en la infección*

La cascada de las MAPKs *(mitogen-activated protein kinases),* tanto en mamíferos como en plantas, es una de las vías más importantes mediante la cual los estímulos extracelulares son transducidos en una respuesta intracelular. Las MAPKs están implicadas en la regulación del ciclo celular, en la acción hormonal y en la respuesta de la planta a diversos estreses y patógenos.

MAPKs pueden mediar en los procesos de infección por rizobios. La inoculación de *L. albus* con *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) activa transitoriamente SIMK (Salt stress-inducible MAPK) y SAMK (stress-activated MAPK). La inoculación de raíces con bacterias muertas de *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) o con *Sinorhizobium meliloti,* bacteria incapaz de nodular *Lupinus*, no tiene efecto en la activación de SIMK y SAMK (Fernández-Pascual y col., 2006).

Estos datos indican que la activación de estos enzimas es una respuesta específica de las células de la leguminosa a la bacteria potencialmente simbiótica, y por tanto puede conducir a una interacción simbiótica positiva. La utilización de inhibidores específicos de MAPKs produce un retraso en la nodulación, lo que sugiere que estas quinasas intervienen en procesos tempranos de la infección.

1.1.6. *Presencia de aldehído oxidasa y síntesis de AIA en el meristemo nodular*

Las fitohormonas, como auxinas, actúan en la organogénesis de los nódulos de leguminosas, aunque su papel no está totalmente determinado. En las etapas más tempranas de la nodulación, se han descrito elevadas concentraciones de auxina en las zonas de la raíz dónde se inicia la formación de los nódulos. Se ha propuesto la existencia de un bloqueo transitorio del transporte polar de auxina en estas zonas, y una restauración posterior del transporte de la hormona a la raíz y al nódulo formado. Sin embargo, recientemente hemos demostrado, por primera vez en nódulos la presencia de un enzima de la síntesis de AIA, (aldehído oxidasa). Por tanto los nódulos poseen la potencial capacidad de síntesis de esta hormona (Fedorova y col., 2005).

El enzima aldehído oxidasa (AO) cataliza la oxidación de aldehídos y compuestos heterocíclicos que contienen nitrógeno en animales y microorganismos. En plantas, interviene en la última etapa de la síntesis del ácido abcísico (ABA) y del ácido indol acético (AIA), vía indol-3-pirúvico.

Los nódulos de *L. albus*, inducidos por cepas de *Bradyrhizobium* sp. *(Lupinus),* poseen tres isoenzimas de AO. Sin embargo, los nódulos Fix$^-$, de crecimiento restringido y senescencia prematura, inducidos por una cepa de *Mesorhizobium loti,* no parecen poseer AOs activas. Mediante el inmunomarcado de los tejidos con anticuerpos anti-AOs de *Arabidopsis thaliana, pero* que reconocen AOs nodulares, se estudió la localización del enzima, por microscopia elec-

trónica de transmisión, de fluorescencia y microscopía láser confocal. La proteína que es citoplasmática, se localiza preferentemente en la zona meristemática lateral de los nódulos de altramuz, constituida por células no infectadas e infectadas en división (Figura 22 A-C). El análisis de expresión de AO mediante RT-PCR demostró que la expresión más alta se produce en el primordio nodular y la más baja en nódulos Fix$^-$. Los estudios de hibridación *in situ* mostraron un patrón de expresión altamente consistente con la distribución de la proteína. Un estudio paralelo en nódulos de *Medicago truncatula* confirmó la presencia del enzima (gen y proteína) en la zona meristemática nodular y de infección. Tanto en el nódulo de altamuz como en el de *M. truncatula*, AIA fue inmunolocalizado siguiendo un patrón semejante al encontrado para AO (Fedorova *et al.,* 2005). Por el contrario, el inmunomarcado de ABA en los nódulos reveló que los niveles de esta hormona eran bajos y homogéneos en todas las zonas del nódulo (Figura 22 D).

Estos resultados indican la capacidad de síntesis local de AIA en la zona meristemática de los nódulos de leguminosas, así como la posible implicación de AO en la organogénesis nodular y en la autorregulación del crecimiento y el desarrollo de los nódulos.

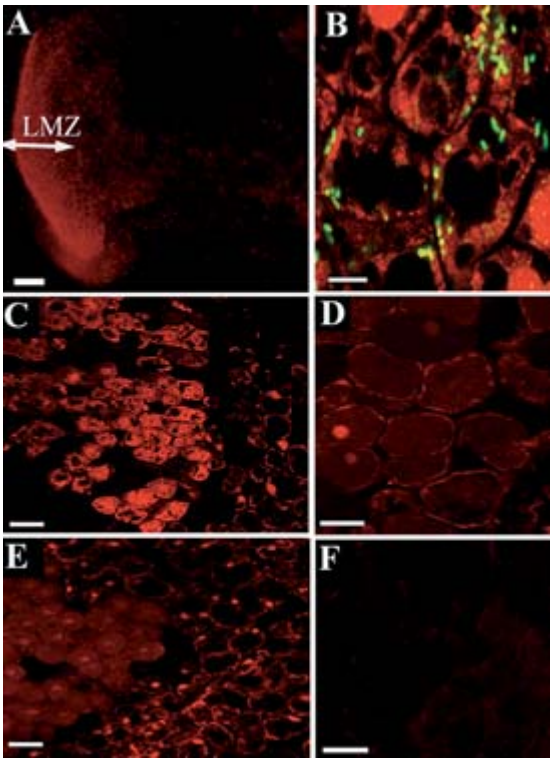


Figura 22. *Localización de aldehído oxidasa (AO) y ácido abcísico (ABA) en nódulos de* Lupinus albus. ***A,*** *microfotografía de fluorescencia mostrando localización de AO en la zona meristemática lateral (LMZ) de nódulos, 16 días después de la inoculación. Barra: 100 μm.* ***B,*** *microfotografía de láser confocal en que se aprecia fuerte localización de AO en el citoplasma de células infectadas de nódulo, 16 días después de la inoculación. Bacterias teñidas con Sytox, en verde. Barra: 10 μm.* ***C,*** *microfotografía de confocal mostrando AO en varias capas de células infectadas. Barra: 50 μm.* ***D,*** *inmunolocalización de (ABA) en nódulos, 16 días después de la inoculación. Barra: 16 μm.* ***E,*** *Escaso inmunomarcado de AO en nódulos de 30 días. Imagen láser confocal. Barra: 50 μm.* ***F,*** *Sección control, sin anticuerpo primario. Barra: 16 μm.*

1.1.7. *Senescencia nodular*

Como es sabido la senescencia vegetal y animal está íntimamente relacionada con el contenido de sustancias oxidantes en los tejidos, los llamados radicales libres. Entre ellos, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el radical superóxido (O_2^-) y el radical hidroxilo (OH) son los más tóxicos y pueden conducir a la muerte celular. Pero las células disponen también de sustancias antioxidantes para contrarrestar a los radicales libres de tipo enzimático: superóxido dismutasa, catalasa, peroxidasa y enzimas del ciclo ascorbato-glutamato, como la ascorbato peroxidasa y la glutamato reductasa. También las células contienen vitaminas antioxidantes, vitamina C y vitamina E que controlan la producción de radicales libres. El avance de la senescencia celular dependerá del balance entre sistemas oxidantes y antioxidantes en los tejidos.

Los nódulos de leguminosas constituyen un ambiente favorable para la producción de radicales libres, debido a la alta tasa de respiración de los bacteroides y mitocondrias, tendencia a la autooxidación de la leghemoglobina, abundancia de Fe catalítico libre, etc. Son escasos los estudios relacionando alteraciones estructurales y citoquímicas de los nódulos de leguminosas con el metabolismo oxidativo. En los nódulos, el hierro catalítico libre en el citosol de las células infectadas, puede desencadenar estados de senescencia prematura, ya que actúa en la formación del radical hidroxilo, causando la desintegración de los orgánulos subcelulares y bacteroides en las células infectadas. Aunque el hierro en su mayoría está en forma de leghemoglobina, procesos de oxidación pueden acarrear la presencia de hierro libre en el citosol del nódulo (Puppo y col., 2005).

Nuestro grupo de investigación viene realizando estudios de senescencia en nódulos de leguminosas a través de proyectos europeos, que coordina el Doctor Alain Puppo de la Universidad de Niza.

La influencia del metabolismo oxidativo en la senescencia nodular ha sido nuestro principal objetivo (Hernández-Jiménez, 1998). La senescencia fue inducida por oscuridad y se comparó la senescencia vegetal natural, como consecuencia de la edad de la planta, con la senescencia inducida. Nuestro objetivo se centró en conocer las alteraciones estructurales, observadas por microscopía óptica y electrónica durante el desarrollo del nódulo, comparándolas con las obtenidas sometiendo las plantas a oscuridad. El trabajo incluyó también estudios enzimáticos relacionados con el estrés oxidativo, como catalasa, superoxidodismutasa, isoenzimas de peroxidasas y enzimas del ciclo ascorbato-glutation. La determinación de hierro catalítico y el daño oxidativo a macromoléculas también fueron objeto de estudio.

A continuación mostramos las alteraciones estructurales asociadas al desarrollo de los nódulos durante el envejecimiento, la localización del enzima catalasa en peroxisomas y la localización de fitoferritina en plastidios:

1.1.7.1. Alteraciones estructurales en la senescencia del nódulo

Los resultados estructurales fueron similares en la senescencia natural (Figura 23) que en la inducida por oscuridad (Figura 24). En estadios tempranos de senescencia se observó la degradación de los bacteroides en el interior de los simbiosomas (Figura 23) y el aumento de densidad electrónica en el citosol, así como la presencia de grandes espacios intercelulares ocupados por bacterias (Figura 25). En estadios más avanzados de senescencia se apreciaron roturas de las membranas peribacteroidales y la degradación del citosol de la célula vegetal (Figura 24 C, D) (Hernández-Jiménez y col., 2002).

En senescencia natural (Lucas y col., 1998) y en senescencia inducida por oscuridad (Hernández-Jiménez y col., 2002) los plastidios fueron los últimos orgánulos destruidos (Figuras 23 y 24). Este hecho nos hizo proponer, por primera vez, que los plastidios juegan un papel importante en la senescencia, y se debería prestar más atención a su función en el desarrollo nodular (Lucas y col., 1998).

Además, se describió por primera vez que mientras que las células de la zona infectada muestran síntomas de avanzada senescencia, las células de la corteza no presentaban daños estructurales visibles, lo que apunta a la preservación estructural de la corteza especialmente durante la senescencia del nódulo (Lucas y col., 1998).

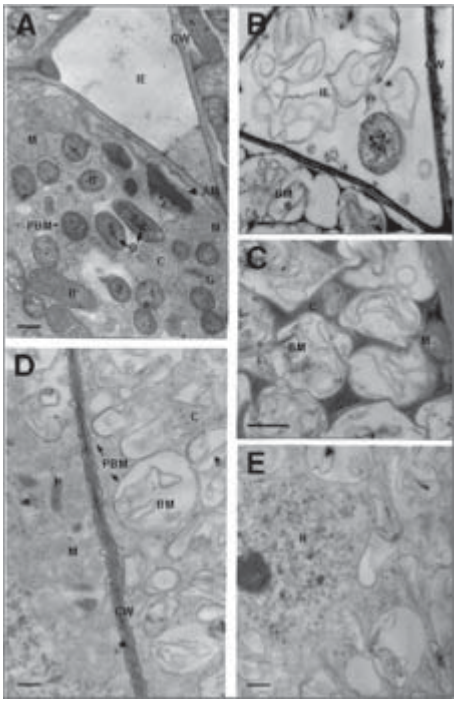


FIGURA 23. *Microfotografías electrónicas mostrando el efecto de la edad en las células infectadas del nódulo de altramuz.* ***A,*** *Nódulos de 5 semanas con simbiosomas y citosol normales.* ***B,*** *Bacterias no afectadas en los espacios intercelulares de nódulos de 9 semanas.* ***C,*** *Células infectadas en nódulos de 9 semanas mostrando simbiosomas deteriorados y citosol denso a los electrones.* ***D,*** *Membranas peribacteroidales y vesículas citosólicas en células infectadas de nódulos de 9 semanas.* ***E,*** *Nódulos de 12 semanas mostrando ruptura de orgánulos y citosol. Los amiloplastos son todavía visibles. Las flechas indican restos de las membranas celulares. AM, amiloplasto; B, bacteroide; BA, bacteria; BM, membrana del bacteroide; C, citoplasma; CW, pared celular; D, DNA; IE, espacio intercelular; M, mitocondria; PBM, membrana peribacteroidal. Barra: 0,5 μm.*

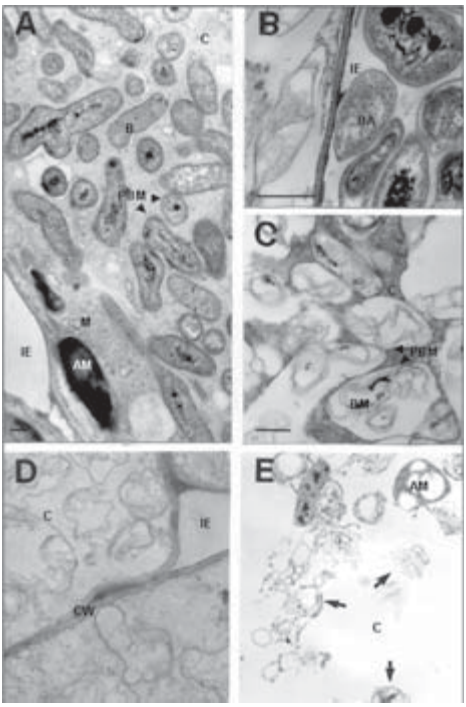


Figura 24. *Microfotografías electrónicas mostrando el efecto de la oscuridad en las células infectadas del nódulo de altramuz.* ***A,*** *Células infectadas control.* ***B,*** *Células infectadas mostrando simbiosomas alterados y bacterias no afectadas en los espacios intercelulares.* ***C,*** *Células infectadas mostrando simbiosomas y citoplasma alterados.* ***D,*** *Células infectadas muy deterioradas mostrando ruptura de los orgánulos celulares.* ***E,*** *Alteraciones en el núcleo de las células infectadas. AM, amiloplasto; B, bacteroide; BA, bacteria; BM, membrana del bacteroide; C, citoplasma; CW, pared celular; D, DNA; G, aparato de Golgi; IE, espacio intercelular; M, mitocondria; N, núcleo; P, plastidio; PBM, membrana peribacteroidal. Barra: 0,5 μm.*

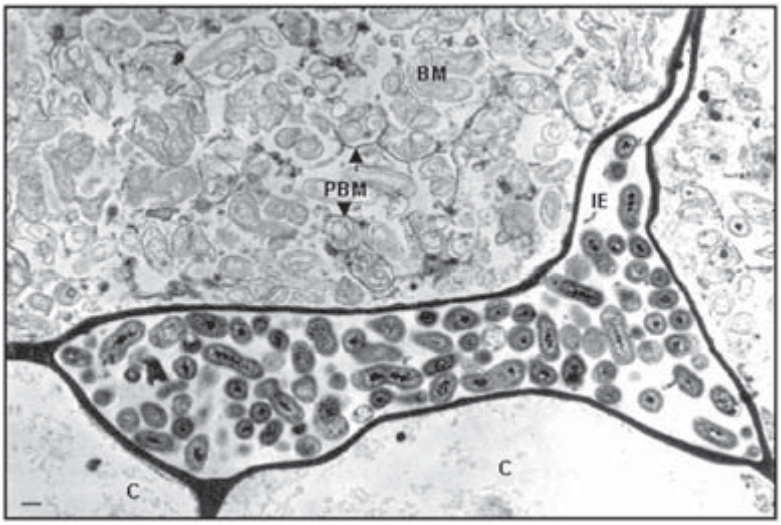


Figura 25. *Microfotografía electrónica mostrando el efecto de 7 días de oscuridad en la zona infectada. Los simbiosomas y citosol aparecen muy afectados. El espacio intercelular, sin embargo, muestra bacterias aparentemente no afectadas. BM, membrana del bacteroide; C, citoplasma; IE, espacio intercelular; PBM, membrana peribacteroidal. Barra: 0,5 μm.*

1.1.7.2. Ferritina: Localización *in situ*

La ferritina es una proteína que almacena hierro y ha sido localizada en los plastidios (Theil, 1987) aunque parece ser sintetizada en el citoplasma y mediante un péptido de tránsito transportada a los plastidios.

Debido a la síntesis de leghemoglobina en el citoplasma de las células infectadas del nódulo y la síntesis de citocromos y de la nitrogenasa (cofactor Fe Mo Co) en los bacteroides, la concentración de hierro en los nódulos tiene gran importancia, por sus implicaciones en procesos de oxidación. Aunque trabajos previos (Ko y col., 1985) relacionaban la leghemoglobina con la ferritina, observando una relación inversa entre ambas proteínas en nódulos de soja atacados por nemátodos, no existían referencias bibliográficas relacionando ferritina y senescencia nodular, y además la localización *in situ* de la ferritina en nódulos no había sido llevada a cabo por ningún grupo de investigación.

Realizamos la localización de ferritina, por técnicas inmunocitoquímicas, en plantas de lupino, soja y alfalfa durante el envejecimiento del nódulo (Lucas y col., 1998). La mayor localización fue encontrada en plastidios y amiloplastos de las células infectadas y no infectadas de las tres leguminosas estudiadas (Figuras 26 y 27). Se observó disminución de la localización en la zona infectada de nódulos senescentes de estas leguminosas (Figura 26).

En la corteza de los nódulos de lupino y soja, la ferritina aumentó durante el desarrollo y su localización se situó en los plastidios, principalmente sobre estructuras cristalinas (Figura 26). El hecho de que la inmunolocalización disminuya con la edad del nódulo en la zona infectada, sugiere una relación inversa entre el contenido de ferritina de las células infectadas y el envejecimiento del nódulo. En estos nódulos la capacidad de la ferritina de secuestrar el hierro libre disminuye, lo que puede originar la aparición de radicales libres durante la senescencia (Becana y Klucas, 1992).

La aplicación de las técnicas de inmunocitoquímica ha mostrado diferencias de localización de ferritina en nódulos senescentes, entre las células de la zona infectada y las de la corteza del nódulo, que no habrían podido ser observadas únicamente por técnicas bioquímicas.

Este trabajo evidencia, una vez más, la importancia de las técnicas inmunocitoquímicas para el estudio temporal y espacial de los componentes del nódulo a lo largo del desarrollo, en combinación con las técnicas de inmunoblotting. El contenido total de ferritina se incrementó considerablemente con la edad del nódulo de lupino de acuerdo a los resultados de inmunoblott (Figura 28), pero mediante inmunolocalización *in situ* pudimos comprobar que este aumento de ferritina correspondía exclusivamente a las células de la corteza ya que la proteína disminuía en la zona infectada del nódulo.

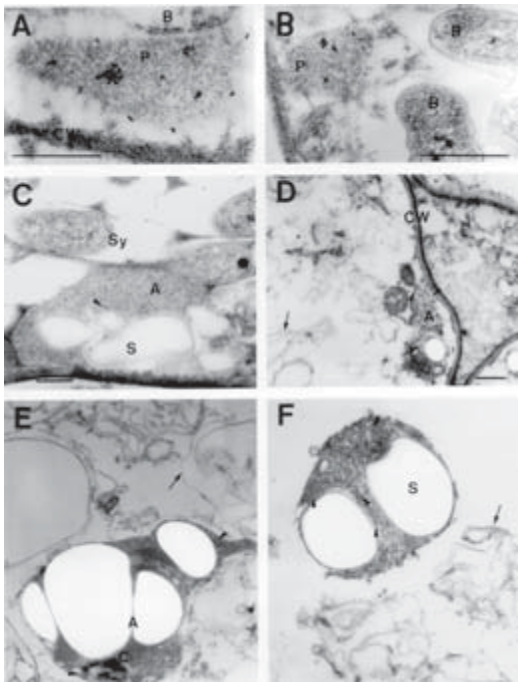


Figura 26. *Inmunolocalización con oro coloidal de ferritina en células infectadas de nódulos de altramuz.* ***A,*** *Plastidio de nódulo de 3 semanas mostrando abundantes partículas de oro coloidal.* ***B,*** *Inmunomarcado de ferritina en plastidios y bacteroides en nódulos jóvenes (3 semanas).* ***C,*** *Disminución de inmunomarcado en un amiloplasto de nódulo maduro (5 semanas).* ***D,*** *Células de un nódulo viejo (7 semanas) con síntomas de senescencia, mostrando inmunomarcaje en amiloplasto.* ***E*** *y* ***F,*** *Amiloplasto de nódulos senescentes (12 semanas) mostrando partículas de oro en estroma y cristales de ferritina. A, amiloplasto; B, bacteroide; C, estructuras cristalinas; CW, pared celular; P, plastidio; S, almidón; Sy, simbiosoma. Las flechas indican membranas de los simbiosomas destruidos y las puntas de flechas indican inmunomarcaje. Barra: 0,5 μm.*

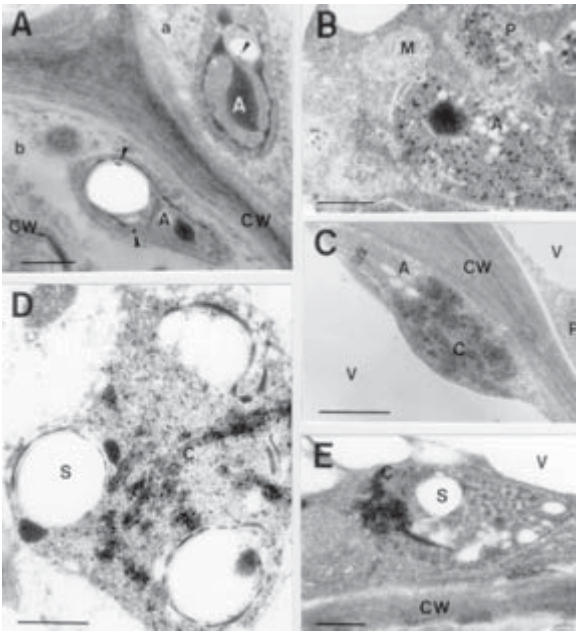


Figura 27. *Inmunolocalización con oro coloidal de ferritina en células de la corteza de nódulos de altramuz.* ***A,*** *Amiloplastos en las células de la zona 2 (a) y zona 3 (b) de nódulos de 3 semanas mostrando débil inmunomarcado.* ***B,*** *Célula de la zona 2 de un nódulo de 5 semanas. Se observan abundantes partículas de oro en los estromas de plastidios y amiloplastos.* ***C,*** *Amiloplasto de la zona 3 de un nódulo viejo (7 semanas) conteniendo estructuras cristalinas de ferritina inmunomarcadas.* ***D,*** *Amiloplasto en células de la zona 1 de un nódulo senescente (12 semanas) mostrando abundantes partículas de oro en el empaquetamiento cristalino de ferritina.* ***E,*** *Amiloplasto, con estructuras cristalinas claramente inmunomarcadas, procedente de la zona 3 de un nódulo senescente (12 semanas). A, amiloplasto; C, estructuras cristalinas; CW, pared celular; M, mitocondria; P, plastidio; S, almidón; V, vacuola. Barra: 0,5 μm.*

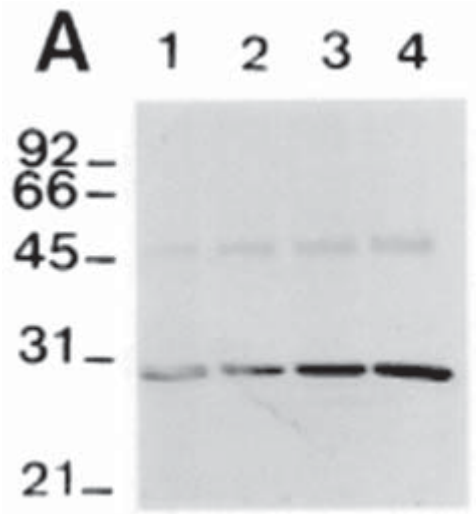


FIGURA 28. *Inmunodetección de ferritina en extractos de nódulos de altramuz después de SDS-PAGE y Western blot. 1-4: Extractos de nódulos de 3, 5, 9 y 12 semanas.*

1.1.7.3. Localización de catalasa en nódulos de lupino

La catalasa (EC.1.11.1.6) es un enzima que tiene un papel importante en el control de la senescencia por su influencia sobre el peróxido de hidrógeno. Este enzima hidroliza el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) procedente de la dismutación del radical superóxido (O_2^-) por la superóxido dismutasa. Su localización más común tiene lugar en microbodies especializados, llamados peroxisomas, siendo ampliamente distribuidos en el mesofilo de las hojas junto a otros orgánulos subcelulares cloroplastos, mitocondrias, etc. La senescencia en hojas conlleva una proliferación de peroxisomas (de Felipe y col., 1988).

Nuestro laboratorio ha estudiado la existencia de peroxisomas en nódulos de lupino para conocer su implicación en la senescencia del nódulo por el contenido de catalasa (enzima antioxidante) de estos organulos subcelulares. Su localización la llevamos a cabo por las técnicas de diamino bencidina (DAB) y tetróxido de osmio, que permiten estudiar la localización al microscopio óptico y electrónico (Müeller and Beckman, 1978).

La presencia de peroxisomas fue observada en las células infectadas de nódulos de lupino (Figura 29). Comparando la localización de catalasa en estos microbodies en plantas crecidas en condiciones normales y crecidas con nitrato, observamos alteración de los peroxisomas en estas últimas, como ruptura de la membrana simple de los peroxisomas y disminución del contenido de catalasa (Figura 30). En la senescencia natural, la actividad catalasa disminuye progresivamente, siendo del 80%, en nódulos de 9 semanas (de Lorenzo y col., 1990).

También la actividad catalasa disminuyó un 20% en nódulos sometidos a 7 días de oscuridad (Hernández-Jiménez, 1998).

La localización de catalasa, no sólo nos ha permitido la visualización morfológica de los perosixomas, difíciles de identificar en el citosol del nódulo de altramuz, sino también nos ha permitido conocer su funcionamiento por las variaciones del contenido enzimático de catalasa, en condiciones normales y estrés de la planta.

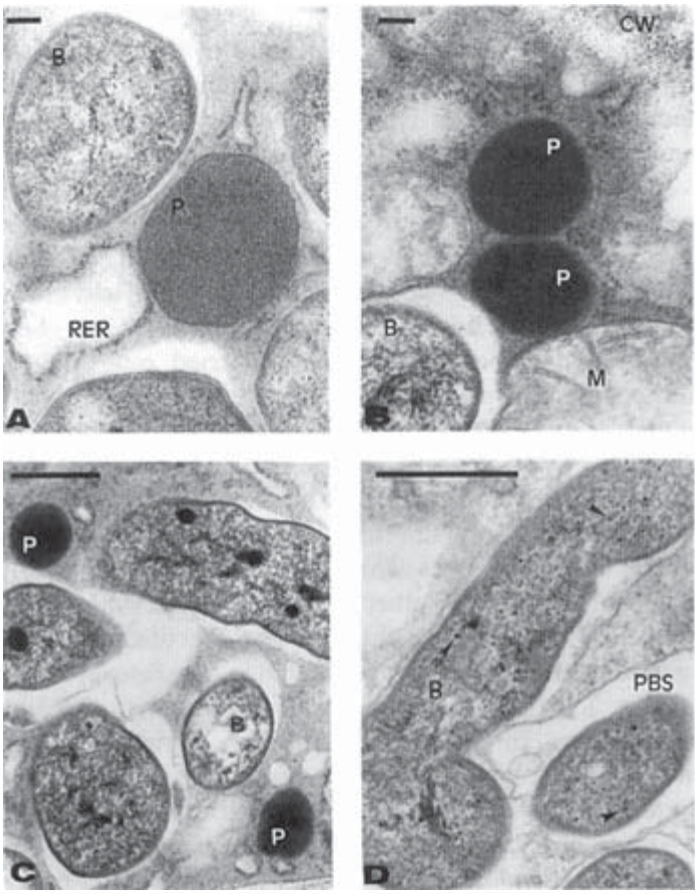


Figura 29. *Microfotografías electrónicas de nódulos de plantas de* Lupinus albus *crecidas sin nitrato (controles).* ***A,*** *Célula infectada de un nódulo de 45 días. La membrana del peroxisoma puede ser fácilmente observada. El retículo endoplásmico rugoso está estrechamente asociado al peroxisoma. Barra: 0,1 μm.* ***B,*** *Célula infectada de un nódulo de 50 días después de llevar a cabo al técnica DAB. Los peroxisomas muestran un intenso oscurecimiento. Barra: 0,1 μm.* ***C,*** *Célula infectada de un nódulo de 50 días mostrando marcaje DAB en peroxisomas y bacteroides. Barra: 0,5 μm.* ***D,*** *Célula infectada de un nódulo de 50 días. Los bacteroides muestran un pequeño precipitado osmiofílico (flechas) que podrían indicar actividad catalasa. Barra: 0,5 μm. B, bacteroide; CW, pared celular; M, mitocondria; P, peroxisoma; PBS, espacio peribacteroidal; RER, retículo endoplásmico rugoso.*

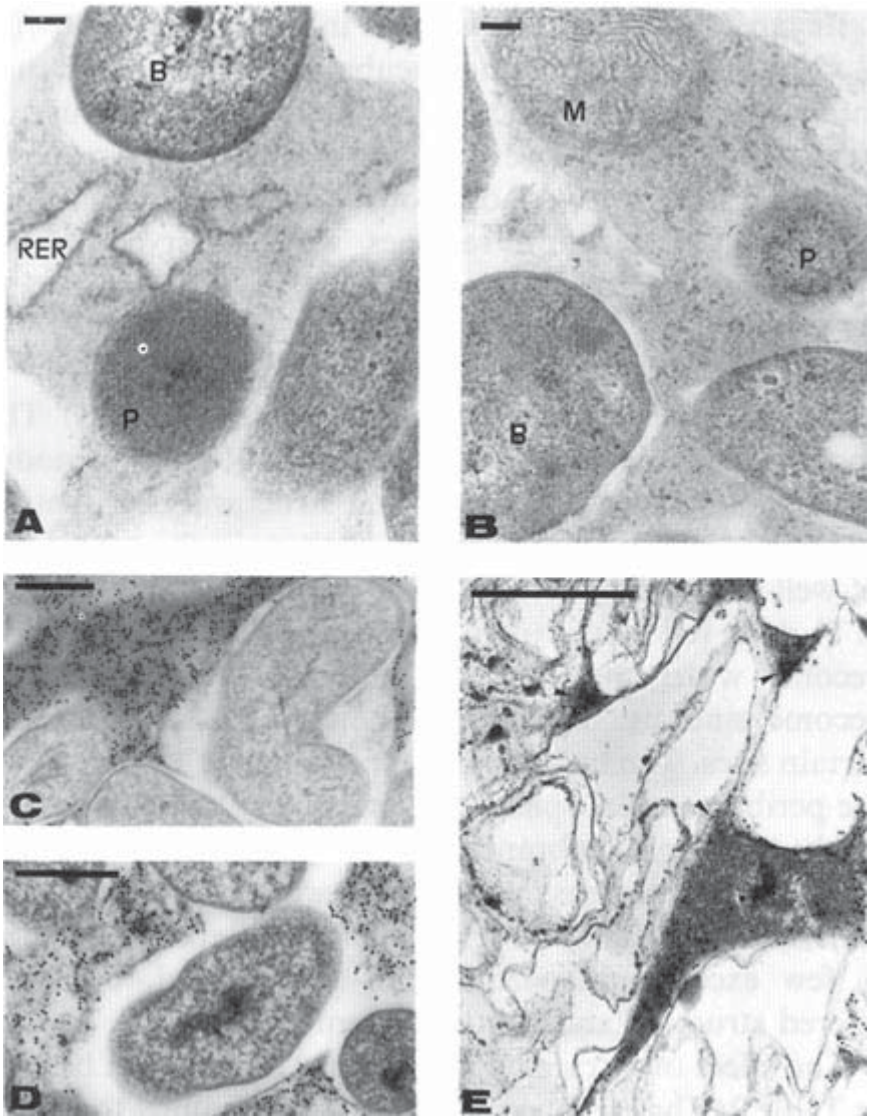


Figura 30. *Efecto del nitrato (20 mol m^{-3}) en la ultraestructura del peroxisoma, actividad catalasa, y localización de leghemoglobina en nódulos de* Lupinus albus. ***A,*** *Microfotografía electrónica de una célula infectada de nódulo de 45 días después de emplear la técnica DAB. La planta fue expuesta a nitrato durante 5 días. La membrana del peroxisomas aparece interrumpida pero la forma del orgánulo es regular. El oscurecimiento no es tan intenso como en las plantas control, y está situado en la zona central. Barra: 0,1 μm.* ***B,*** *Célula infectada de un nódulo de 50 días después de 10 días de tratamiento. La reacción en peroxisomas es muy ligera y la membrana de los peroxisomas no es visible. Barra: 0,1 μm.* ***C,*** *Localización inmunocitoquímica de leghemoglobina en nódulo de 50 días de plantas control. Barra: 0,5 μm.* ***D*** *y* ***E,*** *Localización inmunocitoquímica de leghemoglobina en nódulo de 50 días después de 10 días de tratamiento. Barra: 0,5 μm. B, bacteroide; M, mitocondria; P, peroxisoma; RER, retículo endoplásmico rugoso.*

1.1.8. *Presencia de una actividad óxido nítrico sintasa en raíces y nódulos de* Lupinus albus

El óxido nítrico, un gas que actúa como segundo mensajero, juega un papel controlador en biología, debido al efecto regulador que ejerce sobre la proliferación, diferenciación y muerte celular.

La óxido nítrico sintasa (NOS EC 1.14.23), enzima ampliamente estudiada en mamíferos, produce óxido nítrico y citrulina a partir del aminoácido L-arginina. El óxido nítrico (NO) juega un importante papel en la fisiología animal, actuando bien como regulador o como citotóxico, y ese papel depende del tipo y origen de óxido nítrico sintasa de las células. En mamíferos existen por los menos dos tipos de óxido nítrico sintasas, las constitutivas (cNOS), implicadas en los mecanismos de transducción de señales, y las inducidas (iNOS) por endotoxinas y lipopolisacaridos bacterianos que pueden actuar como agentes citostáticos o citotóxicos.

Entre los resultados obtenidos como consecuencia de la aplicación de nitratos a plantas noduladas de lupino se encontró una alteración en el contenido de aminoácidos del nódulo (Lang, Tesis Doctoral, 1990). Llamó nuestra atención la disminución de asparragina y el incremento progresivo de arginina por la aplicación de nitrato, preguntándonos si esa arginina podría ser el sustrato para la producción de NO mediante la óxido nítrico sintasa, por un mecanismo similar al descrito en mamíferos.



Figura 31. *Co-localización histoquímica de NOS y NADPH-Diaforasa en nódulos de lupino. Vista de un corte transversal mostrando tinción con NBT específica en zona infectada y haces vasculares. C, corteza; IZ, zona infectada; V, haces vasculares. Barra 250 μm.*

El hecho de que los lipopolisacáridos (LPs) de bacterias sean capaces de inducir actividad óxido nítrico sistasa en células animales (Moncada y col., 1991) podría ser de especial relevancia en las leguminosas, ya que los LPS de las paredes del *Rhizobium* son esenciales en el establecimiento de la simbiosis. El NO es un radical libre, un gas muy reactivo que muestra una alta afinidad por las metaloproteínas, incluyendo especialmente las hemoproteínas ferrosas. El NO se une muy fuertemente a la leghemoglobina. En nódulos, se ha detectado la presencia de compuestos como nitrosilleghmoglobina y leghemoglobina férrica, cuyo mecanismo de formación es desconocido y que pueden interferir en la función de la leghemoglobina ferrosa en la fijación de N_2. Por todas estas razones encontramos de gran interés investigar la presencia de este enzima en los nódulos.

En 1994 nuestro laboratorio presentó (Martín y col., 1994) datos preliminares sobre la presencia de una actividad óxido nítrico sintasa, que co-localiza con NADPH- diaforasa en los haces vasculares de raíces y nódulos y en las células infectadas del nódulo de *Lupinus* (Figuras 32 y 33). Esta era la primera vez que se indicaba la presencia de este sistema enzimático en plantas. Hasta ese momento se había estudiado intensamente la presencia de NOS en mamíferos, se había caracterizado y clonado en diferentes tejidos animales. Sin embargo, en tejidos vegetales, había una falta de información referente a la producción de NO. Sucesivamente aparecieron publicaciones describiendo la presencia del enzima en hongos (Werner-Felmayer y col., 1994) y tejidos embrionarios de guisante (Sen y Cheema, 1995). En 1996 presentamos datos (Cueto y col., 1996) evidentes de la presencia en plantas superiores de un sistema enzimático productor de NO similar al que existe en células animales. En raíces y nódulos de *Lupinus albus* se ha demostrado la síntesis de NO y L ^{14}C-citrulina de una manera dependiente de L-arginina. La síntesis de L- ^{14}C-citrulina es inhibida competitivamente por N-monometil arginina (NMMA) un antagonista e inhibidor de óxido nítrico sintasa en células animales (Figura 34).

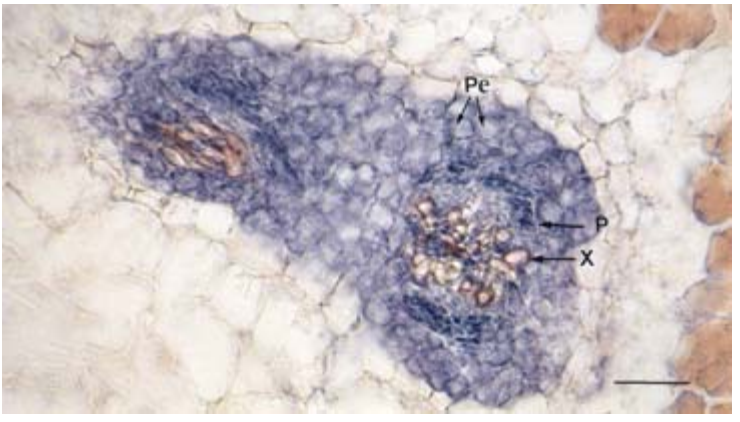


FIGURA 32. *Localización histoquímica de NADPH-Diaforasa en nódulos de lupinos. Vista de un corte transversal mostrando tinción específica en haces vasculares; P, floema; PE, periciclo; X, xilema. Barra 50: μm.*

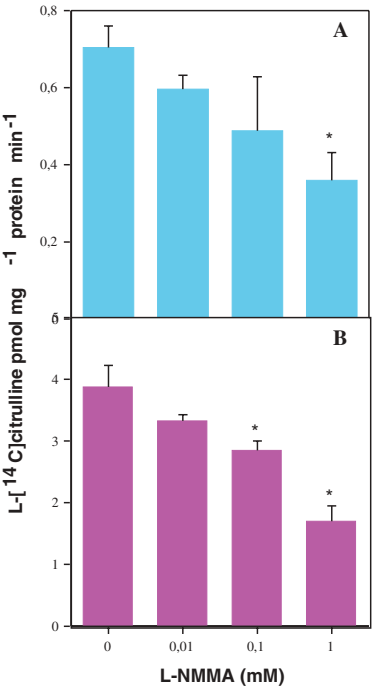


Figura 33. *Inhibición por L-NMMA de la formación de L-[^{14}C]citrulina a partir de L-[^{14}C]arginina en extractos proteínas de raíces (A, 52 μg) y nódulos (B, 69 μg) de lupino. Las mezclas de reacción fueron incubadas en presencia de L-NMMA (0.01; 0.1; 1 mM). Los valores son medias ± SE (barra) de tres experimentos diferentes con dos réplicas. * Significación (P < 0.05 student's test n = 3).*

Posteriormente a nuestras investigaciones, han aparecido otros trabajos que describen la activación de óxido nítrico sintasa en procesos de interacción planta-patógeno, concluyendo que el NO juega un papel importante en la resistencia a enfermedades y en la inducción de genes de defensa. Aunque la función del óxido nítrico en las plantas es todavía muy poco conocida, es posible que, como en los mamíferos, intervenga en mecanismos de regulación e intercomunicación entre las células. Estos estudios demuestran, además la conservación de los sistemas de transducción de señales entre el reino animal y vegetal. Trabajos recientes atribuyen al NO un papel clave como mediador en las respuestas a varios estreses bióticos y abióticos, lo que brinda nuevas oportunidades a la manipulación de las plantas en la producción agrícola.

2. IDENTIFICACIÓN DE DIFERENTES CEPAS DE *BRADYRHIZOBIUM* EN NÓDULOS: ASPECTOS APLICADOS SOBRE COMPETITIVIDAD EN EL CAMPO

Para incrementar la fijación de nitrógeno en leguminosas se necesitan cepas de bacterias competitivas, seleccionadas por su mayor capacidad de fijar nitrógeno en las raíces. Estas cepas una vez inoculadas en las semillas, antes de la siembra, deberán competir en la rizosfera con las bacterias endógenas del suelo.

En esta competición las cepas autóctonas tienen más posibilidades de lograr infectar a las raíces, debido a que viven en el suelo y están mejor adaptadas a las condiciones ambientales de la zona que las cepas inoculadas.

Se hace necesario conocer qué cepas colonizan la raíz y han sido responsables del establecimiento de la simbiosis. Para ello aplicamos técnicas serológicas y técnicas de inmunocitoquímica (Lucas, 1990).

El trabajo se llevó a cabo en plantas de *Lupinus albus* L. cv Multolupa, inoculadas con dos cepas de *Bradyrhizobium*: ISLU 65, facilitada por la Estación Experimental de San José de la Rinconada (Sevilla), y Hig 5_2, aislada de plantas de lupino crecidas en la Finca Experimental «La Higueruela» (Santa Olalla, Toledo), donde llevamos a cabo el trabajo experimental.

Se obtuvieron anticuerpos policlonales frente a cultivos bacterianos de las distintas cepas de *Bradyrhizobium*. Los anticuerpos se emplearon para la identificación por ELISA (Enzyme Linked-Immunosorbent Assay) de las cepas que formaban los nódulos, y también se usaron para estudiar por técnicas inmunocitoquímicas la localización y distribución de las cepas en el interior del nódulo (Lucas y col., 1992).

Los anticuerpos reconocieron los determinantes antigénicos de las paredes bacterianas tanto de bacteroides de nódulos maduros y senescentes (Figura 34) como de bacterias en vida libre (Figura 35 A-C). En nódulos formados por dos cepas no se observó ninguna distribución especial de cada una de ellas (Figura 35 C, D, E). Ambos coexistían en las células infectadas, aunque una de ellas

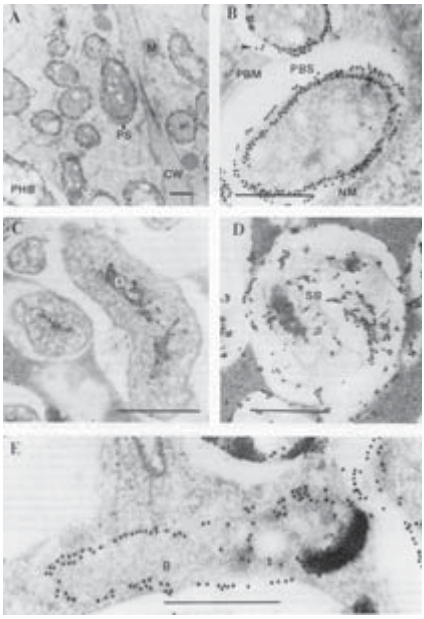


FIGURA 34. *Microfotografías electrónicas mostrando secciones de nódulos de* Lupinus *inmunomarcado con oro coloidal al emplear 5 μg/mL de IgG anti-cepa ISLU 65.* ***A,*** *Células de la cepa ISLU 65 inmunomarcadas. La pared celular y las mitocondrias no presentan marcaje.* ***B,*** *Inmunoreacción en material del espacio peribacteroidal (flecha).* ***C,*** *Partículas de oro en fibrillas del DNA de bacteroides de la cepa Hig* 5_2. ***D,*** *Inmunomarcado de bacteroides senescentes de ISLU 65.* ***E,*** *Bacteria ISLU 65 no diferenciada. B, bacteria no diferenciada; CW, pared celular; D, DNA; M, mitocondria; NM, membrana del núcleo; PBM, membrana peribacteroidal; PBS, espacio; PHB, poli-β-hidroxibutirato; PS, espacio peribacteroidal; SB, bacteroides senescentes. Barra: 0,5 μm.*

siempre era mayoritaria. Por primera vez se utilizaron estas técnicas para estudiar la cohabitación de cepas en nódulos de leguminosas. Nuestros resultados difieren de los obtenidos por Trinick y col. (1989) en una no leguminosa, *Parasponia andersonii,* en el sentido de que en esta planta cuando dos bacterias de la misma especie colonizan el nódulo, se encuentran en células infectadas diferentes.

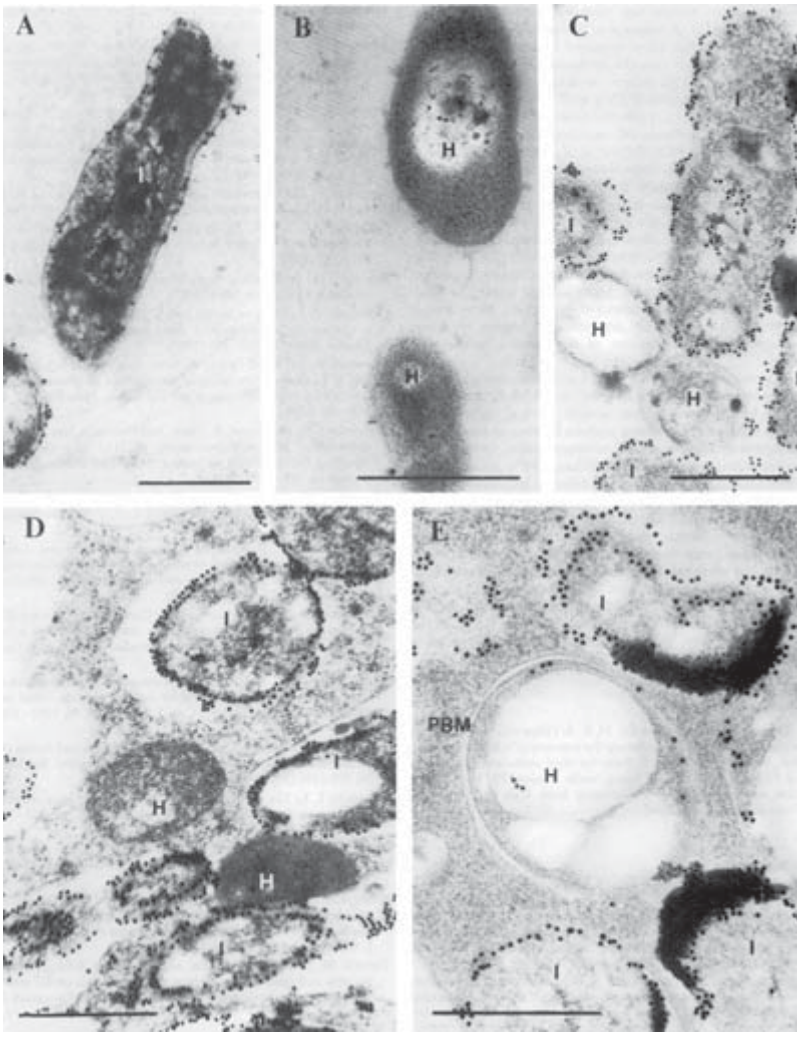


Figura 35. *Inmunoidentificación de cepa ISLU 65 en cultivo y en nódulos de altramuz. La detección se llevó a cabo con 5 μg/mL de IgG anti-cepa ISLU 65.* ***A,*** *Inmunomarcado de bacterias ISLU 65 en vida libre.* ***B,*** *Células en vida libre de la cepa Hig 5₂.* ***C*** *ISLU 65 y Hig 5₂ crecidas conjuntamente en medio de cultivo.* ***D*** *y* ***E,*** *Secciones de nódulos mostrando células ocupadas por ambas cepas ISLU 65 y Hig 5₂. H, Hig 5₂; I, ISLU 65. Barra: 0,5 μm.*

3. ALCALOIDES DE LUPINO

Las semillas de lupino fueron usadas por los pobladores indígenas de los pueblos suramericanos para su alimentación, y hoy día la población indígena sigue cultivando lupino en grandes extensiones, como base de su alimentación. En la antigüedad el pueblo inca llevaba las semillas en bolsas de tela a las cascadas de los ríos para lavarlas y evitar el sabor amargo. Este sabor amargo se lo confiere su contenido en alcaloides cuando sobrepasa el 1-2% del peso de la semilla.

Los alcaloides de lupino pertenecen al grupo de las «quinolizidinas», siendo la lupanina, esparteina y multiflorina con sus respectivos derivados las más comunes (Wink, 1994). Las semillas de *Lupinus albus* cv Multolupa son semillas dulces, obtenidas mediante mejora genética tradicional por el Doctor Van Vauer en Chile con un contenido de alcaloides por debajo del 1%.

La presencia de alcaloides en plantas ha sido ampliamente estudiada por ser estos compuestos químicos, de aplicación en Medicina y por su alta toxicidad. Sin embargo no se había realizado la localización *in situ* anteriormente a nuestro trabajo.

Antes de aplicar las técnicas de localización *in situ,* comenzamos por estudiar la estructura de las semillas observando que están constituidas únicamente por dos cotiledones y el eje hipocotilo-radícula y carecen de endospermo. En secciones ultrafinas se observan diferentes tipos de cuerpos proteicos en los cotiledones. Los cuerpos proteicos, a su vez, contienen inclusiones cristalinas de globoides, cristaloides y otras inclusiones minerales.

La inmunolocalización de alcaloides la hemos realizado en colaboración con el Doctor Greirson (Australia), que obtuvo el anticuerpo antilupanina, mediante técnicas ELISA desarrolladas para este fin. El anticuerpo tiene una alta especificidad para lupanina e hidroxilupanina que son los alcaloides mayoritarios en las semillas de lupino.

El trabajo consistió en realizar la localización en tres especies de lupino, con diferente contenido de alcaloides: *Lupinus albus* cv Multolupa, *L. augustifolius* cv 19 y *L. luteus* cv 266, facilitadas por la Estación Experimental La Orden (Badajoz). Solamente el cultivar Multolupa es una variedad dulce, los otros dos cultivares son variedades amargas.

Dado que los alcaloides son solubles en agua, los tejidos fueron procesados para la inmunolocalización por técnicas de fijación e inclusión convencional y por criotécnicas, buscando la mayor preservación de los antígenos y la inmovilidad de sus lugares de origen.

La criotécnica aplicada fue el «freeze-sustitution», en la que la fijación se realiza por inmersión de las muestras en propano líquido enfriado a –190º C en nitrógeno líquido, la deshidratación en acetona pura a –90º C y la inclusión en

resinas acrílicas, LR White (London Resin, London U.K.). De las muestras incluidas se obtuvieron secciones de 1 μm y 70 nm para la inmunolocalización a nivel de microscopio óptico y electrónico respectivamente.

Para reconocer el anticuerpo primario, antilupanina, utilizamos un anticuerpo secundario unido a oro coloidal, «Au-antidonkey», que puede ser visualizado al microscopio electrónico, ya que el oro coloidal es opaco a los electrones. Sin embargo para la identificación al microscopio óptico, las secciones han de someterse posteriormente a la intensificación con plata por el método de «silver enhancement» (Inten SEM Silver Enhancement Kit), por no poder detectarse las partículas de oro al microscopio óptico.

3.1. Estructura morfológica de los cotiledones

La estructura de los cotiledones difiere en las tres variedades de semillas estudiadas. Las células de los cotiledones de las semillas de *L. angustifolius* tienen más engrosadas (mayor contenido en celulosa y lignina) las paredes que las de *L. luteus* y *L. albus* (Figura 37). Estos engrosamientos son especialmente visibles alrededor de los espacios intercelulares, resultados que coinciden con la valoración agronómica de esta variedad de lupino que tiene fama de ser más dura que las otras (Guerrero, 1984). Los cuerpos proteicos y las vesículas de lípidos ocupan la mayor parte de las células, estando estas últimas situadas alrededor de los cuerpos proteicos (Figura 36).

Se realizó la cuantificación morfológica de los cuerpos proteicos y del grosor de las paredes celulares de las tres especies por Análisis de Imagen. Se observó que el tamaño de los de *L. albus* es significativamente mayor que *L. augustifolius* y *L. luteus*. También el número de cuerpos proteicos fue mas alto en *L. albus* (Tabla 1).

Tabla 1. *Parámetros de cuerpos proteicos y grosor de las paredes celulares de las semillas. Valores medios con desviaciones standard*

	Parámetros cuerpos proteicos		Pared celular (m)	
Especie	*Area (μ^2)*	*n.º de perfiles/ célula*	*alrededor de los espacios interc.*	*contacto entre células*
L. albus	120.78 ± 16.59	21.75 ± 3.59	2.50 ± 0.28	1.20 ± 0.37
L. augustifolius	69.10 ± 8.15	11.43 ± 2.70	5.98 ± 1.31	1.17 ± 0.69
L. luteus	80.73 ± 10.67	5.50 ± 3.58	2.36 ± 0.69	0.97 ± 0.60

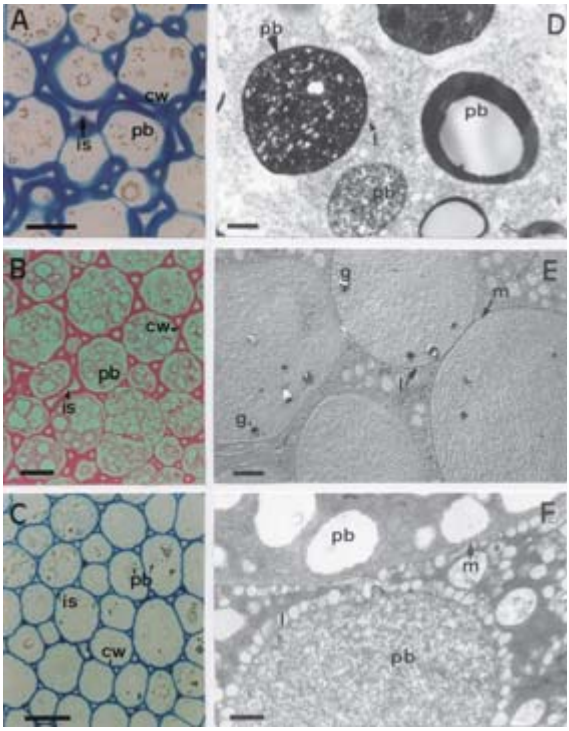


FIGURA 36. *Células de cotiledones de Lupinus.* ***A, C, D,*** *y* ***F,*** *muestras fijadas por métodos convencionales,* ***B*** *y* ***E,*** *muestras criofijadas.* ***A-C,*** *microfotografías de microscopía óptica.* ***A*** *y* ***C,*** *teñidas con azul de toluidina.* ***B,*** *Reacción de Schiff.* ***A,*** *muestra paredes más engrosadas que* L luteus *(B) y* L. albus *(C) rodeando los espacios intercelulares.* ***D-F,*** *microfotografías de microscopía electrónica.* ***D,*** *diferentes tipos de cuerpos proteicos de* L. angustifolius. ***E,*** *células de cotiledones de* L. luteus. ***F,*** *cuerpos proteicos de* L. albus. *Cw, pared celular; g globoides; is espacio intercelular; l, vesículas de lípidos; m, membrana de cuerpos proteicos; pb, cuerpos proteicos. Barras: A-C, 50 μm; D-F, 1 μm.*

Los cuerpos proteicos se observan morfológicamente diferentes entre las tres especies (Figura 37). En *L. augustifolius* y *L. luteus* predominan las inclusiones de tipo globoide y paracristalino. Por el contrario en *L. albus* la matriz es más uniforme de naturaleza proteinacea, sin apenas inclusiones cristalinas (Figura 33 F). Es probable que la mejora genética para obtener el lupino dulce (*L. albus* cv Multolupa) haya redundado en el predominio de una matriz homogénea de naturaleza proteica, con una baja concentración de alcaloides.

3.2. Inmunolocalización de alcaloides

La Figura 37 muestra la localización de alcaloides al microscopio óptico. Los alcaloides fueron localizados en los cuerpos proteicos preferentemente en la

matriz de estos orgánulos. Alguna localización fue también encontrada en las paredes celulares de los cotiledones (Figura 37 A, B). No se encontró localización en el citosol de las células de los cotiledones.

Se observó una localización más intensa en *L. augustifolius* y en *L. luteus* que en *L. albus*, ya que se trata de la variedad dulce, pobre en alcaloides. La localización de alcaloides está distribuida sobre la matriz del cuerpo proteico. La localización en los cuerpos proteicos que contienen globoides está principalmente relacionada sobre la zona densa de los cuerpos proteicos.

La localización al microscopio óptico fue confirmada por el microscopio electrónico (Figura 38). La Figura 38 A muestra la inmunolocalización en la matriz oscura de un cuerpo proteico de *L. augustifolius*. La localización es específica en esta zona, mientras que en *L. luteus* se observan algunas partículas de oro dispersas sobre otras áreas del cuerpo proteico (Figuras 38 D). Presencia de alcaloides también fue observada sobre las paredes celulares de las células de los cotiledones, pero no se encontró localización en el citosol de estas células al igual que al microscopio óptico.

Dada la solubilidad de los alcaloides, era de esperar que el procesamiento con criotécnicas rindiera una mayor localización, observando un número ligeramente mas alto de granitos de oro en las muestras crioprocesadas. Sin embargo, no se encontraron diferencias en cuanto a los lugares de localización entre ambas técnicas.

De estos resultados se deduce que los alcaloides en las semillas de lupino se encuentran unidos a proteínas, característica que les hace ser menos solubles en agua que si estuvieran libres. Los alcaloides están acumulados mayoritariamente en los cuerpos proteicos que pueden actuar como vacuolas de almacenamiento.

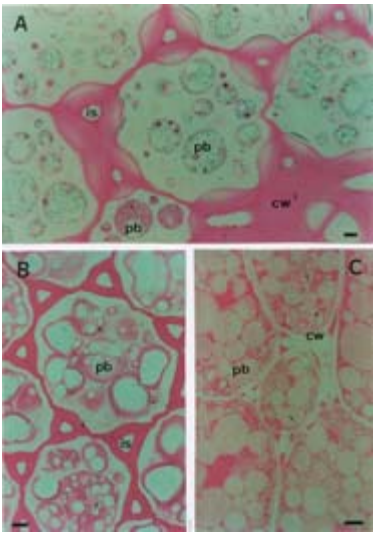


Figura 37. ***A-C,*** *Inmunolocalización de lupanina detectada por silver enhancement y tinción con fuchina en microscopía óptica.* ***A,*** L angustifolius *fijada con métodos convencionales.* ***B*** *y* ***C,*** L. luteus *y* L. albus criofijados. *Las partículas de oro coloidal pueden ser detectadas en los cuerpos proteicos y en las paredes celulares. Cw, pared celular; is espacio intercelular; pb cuerpo proteico. Las flechas indican inmunolocalización. Barras: A y B 300 µm. C: 900 µm.*

3.3. Determinación mineral en los cuerpos proteicos

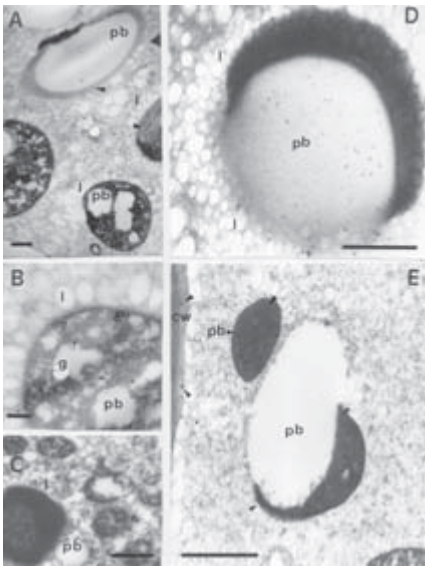


FIGURA 38. *Microfotografías electrónicas mostrando inmunolocalización de lupanina (flechas) en cotiledones de lupino.* ***A-C*** *y* ***E,*** *muestras fijadas por métodos convencionales;* ***D,*** *muestra criofijada.* ***A,*** *Diferentes tipos de inmunomarcado en cuerpos proteicos de* L. angustifolius. ***B,*** *Inmunomarcado de un cuerpo proteico de* L. angustifolius *con globoide.* L. angustifolius *de la reacción inmune usando suero preinmune.* ***D,*** *Cuerpo proteico de* L. luteus *mostrando dos áreas con diferente densidad a los electrones. E Inmunolocalización de alcaloides en cuerpos proteicos y pared celular de* L. albus. *cw, pared celular; l, vesículas de lípidos; m, membrana de los cuerpos proteicos; pb, cuerpo proteico. Barra 0,5 μm.*

Paralelamente a la localización de los alcaloides en las semillas hemos estudiado también el análisis cualitativo y cuantitativo de algunos elementos minerales en los cuerpos proteicos de las tres especies de lupino, por Microanálisis de Rayos X (espectrometría de energía dispersiva, EDAX), técnica que como se mencionó en el preámbulo identifica los elementos en los tejidos, por su número atómico característico y permite también su cuantificación *in situ.*

El análisis de los cotiledones reveló la presencia de P, Mg, S y K en los cuerpos proteicos en las tres especies de lupino (Figura 39). El potasio es el elemento más abundante, siendo el *L. augustifolius* la especie con un contenido de K significativamente más alto.

Wink (1993) encontró que los dos primeros enzimas de la biosíntesis de alcaloides de las quinolizidinas se localizan en el estroma de los cloroplastos de la hoja. Si el lugar original de la síntesis de alcaloides son las hojas, su transporte a las semillas para ser almacenados en los cuerpos proteicos necesitará un gran aporte de energía. Este transporte podría ser dependiente de Mg^+ ATP y K^+ que actuaría sobre la permeabilidad de las membranas para facilitar el transporte. Los altos contenidos de K^+ encontrados en el análisis elemental de las semillas pueden estar justificados para realizar esta función.

A modo de conclusión podemos afirmar: a) que los alcaloides se localizan en los cuerpos proteicos de las semillas de lupino, b) que están fuertemente unidos a proteínas, y c) que los cuerpos proteicos funcionan como reservorios de alcaloi-

des, con la misma función que las vacuolas de las células. Probablemente desde estos compartimientos los alcaloides actúan como metabolitos secundarios en defensa de la planta contra predadores de semillas y plántulas en el campo.

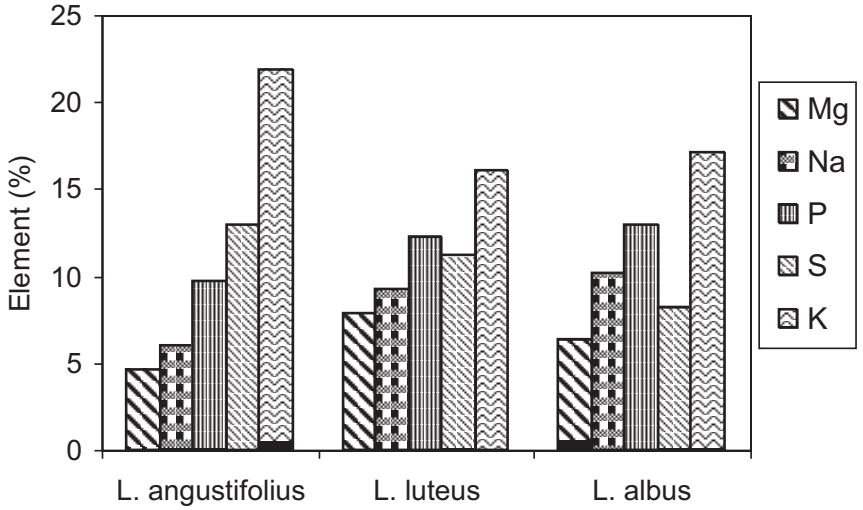


Figura 39. *Comparación de la composición elemental de semillas de lupino obtenida mediante microanálisis de Rayos X. Los resultados están expresados en porcentaje de la composición mineral total de los cuerpos proteicos para cada especie de lupino.*

4. PERSPECTIVAS

En las últimas Reuniones Internacionales sobre Fijación Biológica de Nitrógeno, las consideraciones finales han incidido en dos aspectos fundamentales: A) Profundizar en los mecanismos básicos del proceso para conocer los factores clave implicados en el mismo, y B) Extender esta biotecnología a plantas no leguminosas, obteniendo nuevas simbiosis.

Ambos aspectos están estrechamente relacionados, pues para conseguir que plantas no leguminosas fijen nitrógeno, es preciso un gran conocimiento de los factores que determinan la simbiosis. Este es un reto pendiente para los que trabajamos en la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa. Nuestro interés en profundizar en la simbiosis *Bradyrhizobium-Lupinus,* se basa en este mismo objetivo, ya que al tratarse de una simbiosis muy particular, que no sigue el patrón general de las leguminosas, podría ayudar a conocer como se pueden establecer simbiosis en plantas todavía más alejadas de las leguminosas, como los cereales (maíz, arroz, etc.). Este es un aspecto de gran interés sobre todo en países subdesarrollados, que viven de un monocultivo y su situación económica no les permite la aplicación de fertilizantes químicos.

5. BIBLIOGRAFÍA

BECANA, M. and KLUCAS, R. V. (1992): Transition metals in legume root nodules: iron-dependent free radical production increases during nodule senescence. *Proceedings National Academy Sciences USA.* **89:** 8958-8962.

CABEZAS DE HERRERA, E. and FERNÁNDEZ-PASCUAL, M. (1982): Ultrastructural changes produced during the development of soybean root nodules. *Phytopathologische Zeitschrift,* **106:** 173-185.

CARPENA, R.; S. VÁZQUEZ; E. ESTEBAN; M. FERNÁNDEZ-PASCUAL; M. R. DE FELIPE and P. ZORNOZA (2003): Cadmium-stress in white lupin: Effects on nodule structure and functioning. *Plant Physiology and Biochemistry.* **41:** 911-919 y portada.

CUETO M.; O. HERNÁNDEZ-PERERA; R. MARTÍN; M. L. BENTURA; J. RODRIGO; S. LAMAS and M. P. GOLVANO (1996): Presence of nitric oxide synthase activity in roots and nodules of *Lupinus albus. FEBS Letters.* **398:** 159-164.

DE FELIPE, M. R.; M. M. LUCAS and J. M. POZUELO (1988): Cytochemical study of catalase and peroxidase activities in the mesophyll of *Lolium rigidum* Gaud. plants treated with isoproturon. *Journal of Plant Physiology.* **132:** 67-73.

DE FELIPE, M. R.; M. M. LUCAS; J. P. LECHAIRE; G. NICOLAS; M. FERNÁNDEZ-PASCUAL and J. M. POZUELO (1997): Comparative study of two cryotechnique to elucidate real functional aspects of legume nodules development. *Journal Plant Physiology.* **150:** 428-436.

DE LORENZO, C.; M. M. LUCAS; A. VIVO and M. R. DE FELIPE (1990): Effect of nitrate on peroxisome ultrastructure and catalase activity in nodules of *Lupinus albus* L. cv Multolupa. *Journal of Experimental Botany.* **41:** 1573-1578.

DE LORENZO, C (1992): *Efecto de la aplicación de nitrato sobre la barrera de resistencia a la difusión de oxígeno y sobre el metabolismo de especies tóxicas de oxígeno en nódulos de lupino.* Tesis Doctoral. ETSIA. Madrid.

DE LORENZO C.; P. P. M. IANNETTA; M. FERNÁNDEZ-PASCUAL; E. K. JAMES; M. M. LUCAS; J. I. SPRENT; J. F. WITTY; F. R. MINCHIN and M. R. DE FELIPE (1993): Oxygen diffusion in lupin nodules. II. Mechanisms of diffusion barrier operation. *Journal of Experimental Botany.* **44:** 1469-1474.

DE LORENZO, C.; M. FERNÁNDEZ-PASCUAL and M. R. DE FELIPE (1998): Subcellular localization of glycoprotein epitopes during the development of lupin root nodules. *Protoplasma* **201:** 71-84.

DE MARÍA, N (2004): *Efecto del glifosato sobre la simbiosis* Lupinus albus-Bradyrhizobium *sp.* (Lupinus). Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid.

DE MARÍA, N.; J. M. BECERRIL; J. I. GARCÍA-PLAZAOLA; A. HERNÁNDEZ; M. R. DE FELIPE and M. FERNÁNDEZ-PASCUAL (2006): New Insights on Glyphosate Mode of Action in Nodular Metabolism: The Role of Shikimate Accumulation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* **54:** 2621-2628.

FEDOROVA, E.; F. J. REDONDO; T. KOSHIBA; M. R. DE FELIPE; J. J. PUEYO and LUCAS, M. M. (2005): Aldehyde oxidase (AO) in the root nodules of Lupinus albus and Medicago truncatula: Identification of AO in meristematic and infection zones. *Molecular Plant-Microbe Interactions.* **18:** 405-413.

FERNÁNDEZ-PASCUAL, M. (1984): *Estudio de determinados factores responsables de la especificidad* Rhizobium-leguminosa. Facultad de Ciencias Biológicas. U. Complutense de Madrid.

FERNÁNDEZ-PASCUAL, M.; C. DE LORENZO; M. R. DE FELIPE; S. RAJALAKSHMI; A. J. GORDON; B. J. THOMAS and F. R. MINCHIN (1996): Possible reasons for relative salt stress tolerance in nodules of white lupin cv. Multolupa. *Journal of Experimental Botany.* **47:** 1709-1716.

Fernández-Pascual, M.; M. M. Lucas; M. R. de Felipe; L. Boscá; H. Hirt and M. P. Golvano: Involvement of Mitogen-activated Protein Kinases in the Symbiosis Bradyrhizobium-Lupinus. *Journal of Experimental Botany* **57:** 2735-2742.

González-Sama, A. (2003): *Procesos iniciales del establecimiento de la simbiosis* Lupinus albus-Bradyrhizobium *sp.* (Lupinus). Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias (Sección Biológicas). Universidad Autónoma de Madrid.

González-Sama, A.; M. M. Lucas; M. R. de Felipe and J. J. Pueyo (2004): An unusual infection mechanism and nodule morphogenesis in white lupin (Lupinus albus). *New Phytologist.* **163:** 371-380.

Guasch, L. M. (1998): *Factores estructurales fisiológicos y genéticos en la regulación de la difusión de oxígeno en nódulos de* Lupinus albus *L. cv. Multolupa.* Tesis Doctoral. ETSIA. Madrid.

Guasch, L.M.; M. R. de Felipe and M. Fernández-Pascual (2001): Effects of different O2 concentrations on nitrogenase activity, respiration and O2 diffusion resistance in Lupinus albus L. cv Multolupa nodules. *Journal of Plant Physiology.* **158:** 1395-1402.

Guerrero, A. (1984): *Cultivos herbáceos extensivos.* Eds. Mundi-Prensa. Madrid. ISBN: 84-7114-064.

Hernández-Jiménez, M. J. (1998): *Alteraciones del metabolismo oxidativo en la senescencia natural e inducida por oscuridad en nódulos de* Lupinus albus *L. Cv. Multolupa*. Tesis Doctoral. Universidad de Granada.

Hernández-Jiménez, M. J.; M. M. Lucas and M. R. de Felipe (2002): Antioxidant defence and damage in senescing lupin nodules. *Plant Physiology and Biochemistry*. **40:** 645-657.

Iannetta, P. P. M.; C. de Lorenzo; E. K. James; M. Fernández-Pascual; J. I. Sprent; M. M. Lucas; J. F. Witty; M. R. de Felipe and F. R. Minchin (1993): Oxygen diffusion in lupin nodules. I. Visualization of diffusion barrier operation. *Journal Experimental Botany.* **44:** 1461-1467.

Katinakis, P.; R. M. Klein Lakhorst; J. Louwerse, A. van Kammen and R. C. van den Bosch (1988): Bacteroid-encoded proteins are secreted into de peribacteroid space by *Rhizobium leguminosarum*. *Plant Molecular Biology.* **11:** 183-190.

Ko M. P.; P. Y. Huang; J. S. Huang and K. R. Baker (1985): Accumulation of phytoferritin and starch granules in develooping nodules of soybean roots infected with *Heterodera glycines. Phytopathology.* **75:** 159-164.

Lang, P. (1990): *Efecto del nitrato sobre la fijación de nitrógeno y sobre el metabolismo del carbono en nódulos de* Lupinus albus *L. cv. Multolupa.* Tesis Doctoral Universidad Complutense, Madrid.

Lang, P.; R. Martín and M. P. Golvano (1993): Effect of nitrate on carbon metabolism and nitrogen fixation in lupin root (*Lupinus albus* cv. Multolupa). *Plant Physiology and Biochemistry.* **31:** 639-648.

Lucas, M. M. (1990): *Influencia de la fertilización fosfatada sobre la simbiosis* Lupinus albus *L.*-Bradyrhizobium sp. (Lupinus). Producción y competitividad. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Biológicas. Editado por la Universidad Complutense de Madrid.

Lucas, M. M.; A. Vivo and J. M. Pozuelo (1992): Application of immunolabelling techniques to *Bradyrhizobium* dual occupation in *Lupinus* nodules. *Journal of Plant Physiology.* **140:** 84-91.

Lucas, M. M.; G. Van de Sype; D. Hérouart; M. J. Hernández; A. Puppo and M. R. de Felipe (1998): Immunolocalization of ferritin in determinate and indeterminate legume root nodules. *Protoplasma.* **204:** 61-70.

Martín, R.; R. Martinez-Murillo; M. L. Bentura; J. Rodrigo and M. P. Golvano (1994): Presence of the enzyme nitric oxide synthase in root nodules of lupine plants (*Lupinus albus* cv. Multolupa). *Biologia Plantarum.* **36** (suppl.): 1917.

MONCADA, S.; R. M. J. PALMER and E. A. HIGGS (1991): Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacology. Review.* **43:** 109-142.

MOOR, H. (1987): Theory and practise of High Pressure Freezing. En: Steinbrecht, R. A. and Zierold (eds.): Criotechniques in Biological Electron Microscopy, pp. 175-191. Springer, Berlin.

MUELLER, W. C. and C. H. BECKMAN (1978): Ultrastructural localization of polyphenoloxidase and peroxidase in roots and hypocotyls of cotton seedlings. *Canadian Journal of Botany.* **56:** 1578-1587.

PASTOR, J.; HERNÁNDEZ, A. J.; N. PRIETO and M. FERNÁNDEZ-PASCUAL (2003): Accumulating behaviour of Lupinus albus l. growing in a normal and a decalcified calcic luvisol polluted with Zn. *Journal of Plant Physiology.* **160:** 1455-1463.

POZUELO, J. M.; M. FERNÁNDEZ-PASCUAL; C. DE LORENZO; C. MOLINA y M. R. DE FELIPE (1993): *Estudios comparativos de fijación Biológica de nitrógeno en tres leguminosas de zonas áridas o semiáridas.* X Reunión Nacional de la SEFV. III Congreso Hispano-Portugués de Fisiología Vegetal. Pamplona.

POZUELO, J. M.; M. M. LUCAS; C. DE LORENZO; M. FERNÁNDEZ-PASCUAL; S. MALDONADO and M. R. DE FELIPE (2001): Immunolocalization of alkaloids and X-ray microanalysis of elements in lupin seeds. *Protoplasma.* **218:** 104-111.

PUPPO, A.; K. GROTEN; F. BASTIEN; M. SOUSSI; M. M. LUCAS; M. R. DE FELIPE; J. HARRISON; H. VANACKER and C. H. FOYER (2005): Legume root nodule senescence: roles for redox and hormone signalling in the orchestration of the natural aging process. *The New Phytologist.* **165:** 683-701.

SEN, S. and CHEEMA, I. R. (1995): Nitric oxide synthase and calmodulin immunoreactivity in plant embrionic tissues. *Biochemical Archieves.* **11:** 221-227.

STUDER, D.; H. HENNECKE and M. MÜLLER (1992): Hig-pressure freezing of soybean nodules leads to an improved preservation of ultrastructure. *Planta* **188:** 155-163.

THEIL, E. C. (1987): Ferritin: structure, gene regulation, and cellular function in animals, plants and microorganisms. *Annual Review of Biochemistry.* **56:** 289-315.

TRINICK, M. J.; D. J. GOODCHILD and C. M. MILLER (1989): Localization of bacteria and hemoglobin in root nodules of *Parasponia andersonii* containing both *Bradyrhizobium* strains and *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii. Applied Environmental Microbiology.* **55:** 4046-2055.

VANDENBOSCH, K. A. and NEWCOMB, E. H. (1986): Immunogold localization of nodule-specific uricase in developing soybean root nodules. *Planta* **167:** 425-451.

VANDENBOSCH, K. A.; D. J. BRADLEY; J. P. KNOX; S. PEROTTO; G. W. BUTVHER and N. J. BREWIN (1989): Common components of the infection thread matrix and the intercellular space identify by immunochemical analysis of pea nodules and uninfected roots. *EMBO Journal.* **8:** 967-978.

VIVO, A.; J. M. ANDREU; S. DE LA VIÑA and M. R. DE FELIPE (1989): Leghaemoglobin in lupin plants (*Lupinus albus* L. cv. Multolupa). *Plant Physiology.* **90:** 452-457.

WERNER-FELMAYER, G.; G. GOLDERER; E. R. WERNER; P. GRÖBNER and H. WACHTER (1994): Pteridine biosynthesis and nitric oxide syntase in *Physarum polycephalum*. *Biochemical Journal:* **304:** 105-111.

WINK, M. (1993): The plant vacuole: a multifunctional compartment. *Journal of Experimental Botany.* **44:** 231-246.

WINK, M. (1994): Biological activities and potential application of lupin alkaloids. In: Neves-Martins JM and Beirao da Costa (eds) Advances in lupin Research. ISA Press. Lisbon, 161-178.

ZORNOZA, P.; S. VÁZQUEZ; E. ESTEBAN; M. FERNÁNDEZ-PASCUAL and R. CARPENA (2002): Cd-stress in nodulated white lupin: Strategies to avoid toxicity. *Plant Physiology and Biochemistry.* **40:** 1003-1009.

IV. El arsénico y la salud

MANUEL DOMÍNGUEZ CARMONA



Es Doctor en Medicina. Catedrático de Medicina Preventiva de la U.C.M. Profesor Emérito de la U.C.M. Experto de Naciones Unidas para la Guerra Química. Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia. Académico de Número de la Real Academia Nacional de Medicina. Académico Honorario de las Academias de Medicina de Lugo, Pontevedra y Orense.

El arsénico ha tenido a través del tiempo una importante repercusión sobre la salud; en la antigüedad se debía al empleo del arsénico como veneno; después el arsénico constituyó un importante riesgo laboral. Esos riesgos sólo tienen hoy una importancia residual, pero el arsénico sigue teniendo un gran interés sanitario, pues la contaminación ambiental con arsénico afecta a la salud.

El arsénico es un elemento químico cuyo nombre procede del griego «Aarsenkon», que significa «potente». Fue obtenido hacia 1250 por Alberto Magno calentando el óxido de arsénico con jabón, preparado que suscitó el interés de los alquimistas.

El arsénico forma compuestos inorgánicos y orgánicos. Se presenta en varios estados de oxidación, como semimetálico, As(0), o en forma de iones como arseniato As^{+5}, arsenito As^{+3} y arsina As^{-3}. Por eso funciona como metal por ejemplo en el sulfuro de arsénico y como metaloide o semimetal en los arseniuros como el de hierro (As_2Fe) o «loellingita» o arsenopirita.

Además de la forma elemental, el átomo de arsénico se presenta en estados de oxidación pentavalente y mucho más frecuentes y diversos como compuestos trivalentes, solubles y muy tóxicos. Los principales compuestos inorgánicos trivalentes «As(III)» de arsénico son:

ANHÍDRIDO ARSENIOSO (AS_2O_3)

Se presenta en forma vítrea o porcelánica y como polvo fino blanco, cristalino, como cristales gris brillantes o como terrones vitrosos o amorfos con sabor acre y ácido confundible con harina, polvos de talco, sal, azúcar, etc. Comercialmente se presenta como blanco insoluble o crudo que tiene como mínimo un 95% de As_2O_3 y como blanco soluble que tiene al menos 99%. Su densidad oscila entre 3,74 a 4,15. Se disuelve hasta un 2% en agua a 20º y hasta un 11,5 a 100º C. Inflamable y muy reaccionante, debiéndose guardar en frascos de acero. Punto de sublimación 197,8º C.

Insípido. Muy irritante, tóxico y cancerígeno. Códigos de etiquetado obligatorio en Europa: T R23, R25, RIO3, SI, S2, S20, S21, S28, S4.

Es el arsenical más tóxico. Ya Vibert consideraba que 15-20 centígramos matarían a un adulto, y Brouardel calculó en 1897 que la dosis letal oral para el cobaya era de 20-30 mg por kg de animal. Su DL50 ha ido subiendo desde 8 a 500 mg/kg. En solución acuosa es diez veces más tóxico que en polvo. La DL50 para la rata es 23,6 mg/kg si está disuelto y como polvo 214. La DL50 para el ratón joven es de 39,4 mg/kg y para el viejo 47,8. La intoxicación crónica causa hemorragias gástrica e intestinal y degeración grasa del hígado. En el hombre, la dosis menor que ha ocasionado la muerte fue la de 130 mg, pero muchos que recibieron cantidades mayores se recuperaron. La aplicación sobre la piel causa escaras.

ÁCIDO ARSENIOSO. $HAsO_2$. Se forma al hidratar anhídrido arsenioso. Suele presentase en forma vítrea o porcelánica y como un polvo fino, confundible con la harina, talco, sal, azúcar, etc.

ARSENITOS. Los arsenitos, especialmente los cúpricos y cuprosos, tienen diversos colores muy utilizados en la industria. Su DL50 es 10 mg/kg para ratas.

ARSENITO SÓDICO. Es el $NaAsO_2$. Es un polvo gris higroscópico e hidrosoluble que contiene 57,6% de arsénico. Es la base del licor de Pearson. Muy tóxico. Usado como insecticida.

Más tóxico que el arsénico y 10-15 veces más que los arseniatos(V) de calcio o de plomo. El trabajo agrícola ha causado arsenicismo crónico por las manos y alimentos contaminados.

ARSENITO POTÁSICO. Es la base del licor de Fowler.

ARSENITO CÁLCICO. Irritante de mucosas conjuntival, respiratoria y gástrica. Lesiona riñon, hígado, médula (se señaló anemia aplásica) y sistema nervioso y predispone al epitelioma. Se usa en mezclas con el arseniato cálcico.

ARSENITO DE PLOMO. Su fórmula aproximada es $Pb(AsO_2)_2$, que contiene 49,2% de plomo y 35,6% de arsénico y se presenta como polvo blanco, cuya gravedad específica debida al plomo es 5,85.

ARSENITO CÚPRICO. Su fórmula aproximada es $CuHAsO_3$. Se presenta comercialmente bajo los nombres de Verde de Scheele o sueco, como polvo verde-amarillento. El arsenito de cobre con el óxido de cobre dan el verde Neuwied y con el sulfato cálcico, el verde de Brunswick.

El aceto arsenito de cobre es una sal compleja cuya fórmula es $3Cu\ (AsO_2)\ 2C_{11}\ (COOCH_3)_2$, de la que el 44,3% es arsénico. Se comercializó bajo el nombre genérico de verde y los calificativos de Paris, Imperial, Schweinfurth, Vienna, Parrot, por su bello verde esmeralda.

SULFUROS. Los sulfuros de arsénico al ser insolubles en el medio ácido gástrico y serlo muy poco en el intestinal, apenas se absorben y se consideran atóxicos; las intoxicaciones señaladas al utilizarlo como depilatorio de pieles fueron debidas a impurezas de anhídrido arsenioso de los preparados industriales.

El bis sulfuro rojo o rejalgar (S_2As_2) fue empleado como pigmento y el **trisulfuro** (sulfuro amarillo u oropimente- el auuropigmentum de Plinio-) (S_3As_2) en la imprenta y sobre todo en el curtido para depilar pieles. **El sulfuro doble de hierro y arsénico,** el FeAsS, cuyo mineral es el mispickel, es insoluble, atóxico y no es caústico; en la superficie de la tierra se oxida. El **sulfuro doble de cobalto y arsénico** CoAsS es la Cobaltina. Estos sulfuros, por su insolubilidad son atóxicos. Argumosa (1952) publicó el caso de una muchacha que ingirió para suicidarse, por motivos amorosos, unos 15 g de rejalgar y de oropimente pulverizados, sin sufrir el menor trastorno.

LOS COMPUESTOS INORGÁNICOS PENTAVALENTES tienen muy baja afinidad por los grupos tiólicos de las proteínas, al contrario que los trivalentes y por eso son mucho menos tóxicos que estos (Kreppel y cols., 1993).

PENTÓXIDO DE ARSÉNICO ($As_2O_5.H_2O$). Se absorbe por las vías oral y percutánea produciendo vómitos, espasmos intestinales y graves diarreas, tos, fiebre, trastornos neurológicos y cáncer de pulmón. El contacto con la piel puede provocar irritaciones, eczemas y cáncer de la piel. Se acumula en el cuerpo. Códigos de etiquetado obligatorio en Europa: R21, R23, R25, RIO3, SI, S2, S20, S21, S28, S44, SIO3.

ÁCIDO ARSÉNICO. Es el H_3AsO_4 (se empleó en imprenta).

ARSENIATOS. Menos tóxicos que los arsenitos; la DL50 en ratas, de los arseniatos inorgánicos es 150 y para los orgánicos de 1.800. Los arseniatos potásico, sódico y cúprico dan el verde mitis.

El arseniato cálcico es el $Ca_3(AsO_4)_2$. Es un polvo blanco que contiene 37,64% de arsénico. Usado como plaguicida. **El arseniato de plomo** tiene como fórmula aproximada $Pb_{11}AsO_4$, o bien $PbHAsO_4$, que contiene por gramo 0,597 de plomo y 0,216 de arsénico. Es un polvo blanco. Se empleó como fungicida agrícola. Se obtiene haciendo reaccionar acetato de plomo con ácido arsenioso, separando el precipitado por filtración que se seca y tritura hasta polvo, que es como se emplea, con el consiguiente riesgo.

TRICLORURO DE ARSÉNICO ($AsCl_3$). Es un líquido volátil, corrosivo y caústico. Con agua desprende HCl. Utilizado en la industria y como materia prima para otros agresivos arsenicales. Entre 1915-1918 se produjeron 18 casos de intoxicación en las personas que lo manipularon para usarlo en la IGM. Se obtiene calentando una mezcla de óxido arsenioso, ácido sulfúrico y cloruro sódico y condensando el destilado en tambores de acero, de los que pueden escaparse vapores tóxicos, o por síntesis del cloro con el arsénico.

Se absorbe por la piel y mucosas, a las que irrita, ulcera y necrosa; en el aparato digestivo causa gastroenteritis hemorrágica, lesiona los nervios periféricos y según se demostró experimentalmente, se disemina rápidamente por todo el cuerpo causando la muerte. La inhalación causa inflamación pulmonar propia de los llamados gases axfisiantes, especialmente del fosgeno, o de los fosforados sobre todo del oxicloruro de fósforo, atribuido al clorhídrico liberado en los alveolos al hidrolizarse el tricloruro. El lavado de la piel debe ser inmediata, pues ya al minuto se absorbe una gran proporción; la absorción es total si la piel está erosionada. Si se derrama sobre la piel puede causar la muerte por degeneración esteatósica del miocardio, hígado, páncreas y sobre todo por la insuficiencia aguda renal. La MAC por m^3, para la OSHA PEL es de 10 mg de arsénico y para el ACGTH TLV (1983) 0,2 mg con arsénico.

ARSENICALES ORGÁNICOS. No se encuentran en la naturaleza, debiéndose obtener sintéticamente. Son algo menos tóxicos que los compuestos inorgánicos; sin embargo la exposición a altos niveles de algunos compuestos orgánicos de arsénico pueden causar efectos tóxicos similares. Pueden ser cuerpos alifáticos unidos al arsénico trivalente, como el salvarsán, que es el clorhidrato de dihidroxi-di-amino-arsenobenceno, el neosalvarsán, el sulfarsenol o sulfarsenobenceno y los arsenóxidos. Otros son derivados del arsénico pentavalente como el ácido cacodílico o dimetilarsínico y los cacodilatos, el arrhenal o metilarsinato disódico, el atoxiloparaaminofenil-arsinatosódico, la hectina, el estovarsol y el treparsol.

Toxicológicamente son muy diferentes de los inorgánicos.

ARSINAS. La más importante es la arsina o arsenamina, que es el hidrógeno arseniado AsH_3 o hidruro del arsénico trivalente. Descubierta por Scheele en 1775, es un gas incoloro, inodoro, aunque las impurezas le dan un ligero olor aliáceo. Se descompone a 230º C y con la humedad. Hidrosoluble, hasta el 20% en volumen a 20º C. Inflamable; el valor límite inferior de explosión es de 26,15 a 27,06 g/m^3. Es muy reductor. Su densidad es 2,69. Masa molecular 34,04. Punto de fusión –113,5º C, según algunos, o de –134º C. Punto de ebullición –87,8 (según otros –55º C), densidad a 20º C 1,146 y del líquido 0,746. Su presión crítica es 65,3 bars, tensión de vapor a 20º C, 40,8 bars.

Se obtiene por reducción del arsénico o de sus derivados, los ácidos arsenioso y arsénico o sus sales, con hidrógeno naciente. En esta reacción está basado el método de Marsh y otros procedimientos de investigación del arsénico; también

se produce por la hidrólisis de un arseniuro. No irrita la piel ni las mucosas, pero es muy tóxico, tanto que su olor no es suficientemente perceptible para evitar una intoxicación grave. Se ha sugerido su empleo como agresivo. El límite admisible en locales de trabajo en USA es de 0,05 ppm o 0,2 mg/m^3; en la URSS 0,3 mg/m^3. El Comité de Expertos de la OIT-OMS de 1968 estableció un nivel máximo no peligroso el de 0,2 mg/m^3.

La dietilarsina y la trimetilarsina son muy tóxicas. La combinación de radicales graso o aromáticos con el arsénico origina otras arsinas como la lewisita.

ÁCIDO ARSANÍLICO. Es el ácido para-amino-fenilarsónico (NH_2–fenil–As(O)(OH_2)). Puro, es un polvo cristalino blanco, inodoro. Se obtiene por la reacción en caliente del ácido arsénico y la anilina.

ÁCIDO ARSÓNICO. Es el ácido 3-nitro-4-hidroxifenilarsónico. Se obtiene del arsanílico. Se presenta en cristales amarillos; se disuelve en los alcoholes metílico y etílico, en ácido acético, acetona y en álcalis. Es el orgánico con mayor actividad contra los coccidios y se emplea adicionando a cada Tm de pienso 25 a 65 mg del ácido, teniendo un mayor índice de conversión.

ÁCIDO 4-FENILARSÓNICO y 4-UREIDO-FENILARSÓNICO. Son potentes anti histomonas aviarios.

La **LEWISITA** es la Clorovinildicloroarsina ClCH==CHAsCl_2. Es un líquido amarillento oleoso, pero si es impuro es verde oscuro con olor a geranio. Intensamente vesicante. Tóxico sistémico, más grave que la iperita.

CLÍNICA DE LA INTOXICACIÓN AGUDA

La intoxicación aguda por una dosis alta de arsénico se caracteriza por un cuadro multisistémico. Si el arsénico ingerido es soluble, el cuadro comienza a los 30 a 60 minutos, pero si es poco soluble o se toma con comidas, los síntomas son más tardíos. Comienza con sabor acre en la boca, que no aparece en el cólera, debida a un efecto sistémico del arsénico, constricción faríngea, ardor y dolores urentes de esófago con disfagia y del estómago en el que a veces se han encontrado úlceras en expuestos al arseniato cálcico. Simultáneamente, taquicardia, arritmias, bloqueo aurículo-ventricular y fibrilación ventricular o asistolia irreversible anoxia, cianosis acra y a las pocas horas si sobrevive colapso. Los síntomas gastrointestinales se deben al efecto irritante que el arsénico ejerce sobre las mucosas (digestiva, vaginal, etc.) ocasionando una violenta inflamación con escara y a veces gangrena. A partir del tercer al cuarto día pueden aparecer erupciones y enantemas en laringe, bronquios, conjuntiva, etc. La clínica es semejante a la de una intoxicación alimenticia; náuseas y enseguida vómitos intensos subintrantes, inicialmente alimenticios, que pasan a mucosos sin sangre o en todo caso escasa y tardía. Estos síntomas se deben en parte a acción local, aunque que se presentan también en la enytada cutánea. Aparece después dia-

rrea coleriforme con deposiciones acuosas o riciformes, es decir, con heces líquidas conteniendo pequeños grumos de descamación epitelial blanquecinas, semejantes al arroz cocido, que son cada vez más frecuentes llegando a superar las 40 diarias; como consecuencia se produce enseguida sed intensa y un estado de confusión, colapso, palidez, ojos hundidos, hipotermia, descomposición de los rasgos faciales, cianosis acra, sudoración intensa y fría, latidos débiles y lentos, calambres de pies y pantorrillas, acidosis metabólica y a menudo intensa cefalea. La profusa diarrea no explica el shock, pues la rehidratación es ineficaz.

Si el arsenical inorgánico no llega a causar la muerte, se puede producir una ligera vasodilatación sistémica que aumenta la permeabilidad capilar, alterando las funciones orgánicas. Se afectan los túbulos renales, que pueden necrosarse y la de los glomérulos, determinando oliguria con proteinuria y hematuria; es la nefritis arsénical (Brown, 1976). El parénquima hepático (Lerman y cols., 1983) sufre esteatosis y hasta necrosis centrolubulillar con ictericia en general ligera; el cuadro puede desembocar en cirrosis; puede haber hipertensión portal no cirrótica. En la mayoría de los casos, si no hay más aportes de arsénico, los síntomas a partir del segundo al tercer día van atenuándose, pero persiste la deshidratación y la sed intensa, la lengua está roja y como descamada, la fiebre sube, el pulso es pequeño y frecuente, el abdomen, tirante y dolorido. Si la evolución es desfavorable, el enfermo se va debilitando, aparece postración, coma y muerte a los 8 a 10 días. También aparecen alteraciones hematológicas periféricas y medulares, siendo de más a menos frecuentes, leucopenia, eosinofilia, anemia y trombopenia. Kyle y Pease (1947), en seis intoxicados encontraron anemia normocrómica y normocítica con sólo alguna variación en la forma y tamaño, existiendo en médula algunas formas megaloblastoides, además de neutropenia en todos y trombopenia en tres. Westhoff y cols. (1975) describieron un caso de intoxicación de arsénico que tenía pancitopenia macrocítica con cambios megaloblásticos floridos, apareciendo en la médula frecuentes mitosis bizarras y cariorrexis con lo que es insólito, anemia megaloblástica sin más antecedentes en la literatura de otro caso, pero que además del arsénico tenía deficiencia en folatos. Caída de la protrombina y del fibrinógeno. Feussner y cols. (1979), en un intoxicado grave encontraron leucopenia, granulopenia, eosinofilía y anemia intensa, teniendo las células de la médula alteraciones ultraestructurales similares a las de otras diseritropoyesis, entre ellas aberraciones de la forma y distribución de la cromatina y de la membrana nuclear de tipo megaloblástica que atribuyeron a afectación de la síntesis del ADN. Cuando la evolución es favorable, el enfermo empieza a alimentarse, recupera algunas fuerzas, mejora la función renal pero aún así puede producirse derrames pleural y pericárdico, pancitopenia e insuficiencia cardíaca y muerte.

En la convalecencia, se van atenuando los trastornos digestivos, aunque se exacerban ante un exceso dietético.

No es muy frecuente que tras una intoxicación aguda se instale una polineuritis o una encefalopatía más frecuentes en las intoxicaciones subagudas y en las crónicas.

INTOXICACIÓN AGUDA EXPERIMENTAL

Bashir y cols. (2006) provocaron una intoxicación aguda por la administración a ratas Wistar por vía oral de una dosis de 6,3 mg/kg, 10,5 mg/kg o de 12,6 mg/kg de arsenito sódico, estudiando luego en el hígado y en el cerebro los parámetros del estrés oxidativo, la histopatología y la actividad de la caspase-3. Las tres dosis hicieron bajar significativamente la concentración hepática de glutatión. En el hígado se observó una significativa peroxidación de los lípidos e inducción de citocromo-P450 con disminución significativa de la catalasa y de la superóxido dismutasa con la dosis de 10,5 mg/kg h y de 12,6 mg/kg, con aumento de la glutation peroxidasa en todas las dosis. En el cerebro no se observaron cambios significativos con 6,3 mg/kg, pero con la dosis de 10,5 mg/kg y la de 12,6 aumentó significativamente la peroxidación lipídica y la glutation peroxidasa con disminución del glutation de la catalasa y de la superóxido dismutasa. La glutation-S-transferasa disminuyó significativamente en el hígado y en cerebro con 10,5 y 12,6 mg/kg. No se produjeron modificaciones significativas de la glucosa-6-fosfato dehidrogenasa ni de la glutation reductasa en hígado y cerbero con ninguna dosis. Se observaron cambios histológicos dosis-dependiente. Con las tres dosis hubo aumento de actividad de la caspasa-3 y con las dos mayores en el cerebro.

El arsenito sódico rompe al ADN en fragmentos favoreciendo la apoptosis.

TOLERANCIA

Se ha hablado mucho del «mitridatismo», que es el desarrollo de resistencia al arsénico; se ha llegado a resistir hasta 1 g por la ingestión reiterada de pequeñas cantidades. Se dice que lo utilizaba el rey Mitrídates para protegerse de los intentos de asesinarlo con venenos, pero el efecto, si lo tiene, sólo lo produce el arsénico aumentando la excreción y sobre todo por el engrosamiento de la mucosa. En el Congreso de Graz (Estiria) se presentó el caso de un arsenicófago que ingirió cuatrocientos veinte miligramos de «arsénico». En el Tirol había arsenicófagos para aprovechar la poliglobulia ante la baja presión parcial de oxígeno; en USA tuvieron cierto auge, los «clippers» arsenicófagos que se iniciaban tomando cada mañana cinco miligramos de arsénico en el café e iban subiendo la dosis hasta los 200 mg y hasta el gramo en dos o tres dosis refractas diarias para protegerse de posteriores envenenamientos criminales o para adquirir propiedades positivas. Fueron famosos los arsenicófagos de los Alpes austriacos y de Estiria, que ingerían arsénico para aumentar su fuerza, resistencia física y a las infecciones, facilitar la respiración en las ascensiones incluso para aumentar su potencia sexual y las mujeres para conservar la frescura y lozanía del cutis; se dice que esa tolerancia se puede obtener en animales; los pretendidos efectos se atribuyeron a la disminución de la capacidad absorbente de la mucosa intestinal, pues la administración parenteral de una dosis mucho menor que la tolerada oralmente mata al animal, o a una más rápida excreción o metabolización.

Actualmente se duda de la existencia de la arsenicofagia y que la pretendida resistencia se debería a arsenicales insolubles.

TRATAMIENTO DE LA INTOXICACIÓN AGUDA

Lavado gástrico con neutralizantes como agua albuminosa, carbón adsorbente, hidrato férrico coloidal, obtenido extemporáneamente mezclando una solución de percloruro de hierro con agua amoniacal. También se puede administrar solución al 5% de magnesia calcinada, combinable con sulfato férrico (remedio de Fusch). En el momento del uso, se mezcla con una solución de óxido de magnesio al 1,2% y se administran 300 mL, siguiendo con 150 g cada 15 minutos.

Se deben infundir sueros glucosado, salino y bicarbonatado o lactato sódico para evitar la deshidratación y disponer de una vía venosa o dar por vía oral bicarbonato sódico o THAM.

Debe mantenerse caliente al intoxicado, mantener su tono circulatorio, calmar los dolores y, si se hace necesario, medidas antishock. Para evitar la presentación de insuficiencia hepática se debe administrar además de la glucosa, levulosa, metionina, colina, gluconato cálcico; vitaminas K, PP, C, A, así como cortisona o prednisona.

Diuréticos suaves, vitaminas B1, B2, y B12 para la polineuritis. Combatir la tendencia a las hemorragias con transfusiones de pequeño volumen.

El antídoto de elección es el quelante, British anti-lewisita (BAL), que es el 2,3 dimercaptopropanol o dimercaprol $CH_2OH–CH(SH)–CH_2(SH)$, que se presenta disuelto en aceite de cacahuet en ampollas de 200 mg especialmente para la intoxicación con arsinas. Se inicia el tratamiento con la inyección intramuscular de 1,5-4 mg/kg, según la gravedad, cada 4 horas el primer día, pasando al segundo y tercer día a una cada 6 horas para pasar durante seis días a una inyección cada 12 horas. Su efecto depende de la precocidad del tratamiento. Como el BAL puede causar reacciones alérgicas, se recomienda administrar un antihistamínico antes de la inyección; puede causar accesos de hipertensión e insuficiencia renal, que retrasa la excreción del As; si se administra precozmente se puede evitar la oliguria. El BAL puede aumentar la concentración cerebral del As que agrava los trastornos neurológicos.

El BAL libera el arsénico de sus combinaciones con las enzimas y elementos activos del metabolismo celular, uniéndolo a sus dos sulfhidrilos, formando un anillo pentagonal. Se reanuda así la actividad bioquímica de las enzimas afectadas y la célula recupera la normalidad, si no se hubieran producido lesiones irreversibles. El arsénico, unido al BAL, pierde su toxicidad, se solubiliza y excreta. En ausencia de BAL, puede recurrirse a las infusiones venosas de 10 mL de hiposulfito sódico al 20% o a la de 100 mL de rongalita C (farmilsulfoxilato

sódico) de absoluta pureza al 10% o inyección venosa de 0,10 g de cisteína disueltos en 20 mL de suero salino hipertónico al 10%. La penicilamina 0,5 g oral cada 6 horas es poco eficaz en la intoxicación de arsénico, así como el ácido 2, 3-dimercaptosuccinico (Succimer) (Aposhian, 1992). El unithiol, que es el ácido 2,3-dimercapto-propanosulfónico (DMPS), el ácido meso-2,3-dimercaptosuccinico (DMSA), el monoisoamil dimercaptosuccinico MiADMSA, tienen la misma eficacia que el BAL experimentalmente. Son hidrosolubles, por ello administrables per os, y sólo entran en el sector acuoso del organismo. Su toxicidad experimental es 30 veces menor que la del BAL, siendo el DMSA el menos tóxico. El DMPS fue desarrollado inicialmente en la URSS y se empleó en las intoxicaciones por diversos metales y metaloides. Kannan y col. (2004), vieron que en ratas intoxicadas crónicamente con arsénico, las vitaminas C y E solas o los quelantes eran poco eficaces para movilizar el arsénico de los tejidos, pero la administración conjunta de vitaminas C, E y de los dos tioles quelantes, el DMSA y el MiADMSA eliminaban antes el arsénico del cerebro. Las vitaminas C y E tuvieron efectos significativos en suprimir la inhibición de la dehidratasa del ácido delta-aminolevulínico en sangre, el estrés oxidativo en el hígado y en cerebro, como lo indican los bajos niveles de sustancia reaccionante con el ácido tiobarbitúrico y del glutation oxidado y reducido. Esto lleva a considerar que ambas vitaminas sean útiles, sobre todo para contrarrestar la alteración de la biosíntesis del hemo y la lesión oxidativa, aunque tiene limitado valor para depleccionar la carga de arsénico. La duración de la terapia depende de la situación del paciente y la evolución de las concentraciones de arsénico en fluidos.

RIESGO PROFESIONAL DEL ARSÉNICO

El arsénico ha constituido un importante riesgo laboral, hoy enormemente disminuido gracias a la sustitución del metaloide y a las medidas de higiene adecuadas (162, 163).

MINERÍA. El trabajo en la minería del arsénico conlleva, lógicamente, riesgo. El arsénico, además de hacerlo como metaloide, suele encontrarse de forma natural en la superficie de las rocas combinado con azufre o con los metales Mn, Fe, Co, Ni, Ag o Sn. El principal mineral del arsénico es el FeAsS (arsenopirita).

La arsenolita, As_4O_6, es un óxido que se produce por el ataque de los agentes atmosféricos sobre minerales de arsénico; se obtiene del polvo depositado en los conductos al extraer Ni, Cu y Sn o al calcinar los arseniuros de Fe, Co o Ni con aire u oxígeno o con la calcinación del FeAsS o $FeAs_2$ en ausencia de aire.

Los petróleos crudos contienen 96-98,5% de As_2O_3 y el refinado 98,5 a 99,0%. La arseniuria es habitual en los mineros cuya orina es grisácea debido al anhídrido arsenioso.

Dada la dispersión del arsénico hay riesgo en la minería no arsenical; la mayoría de los minerales de sulfuro y los de antimonio contienen arsénico.

Muy interesante es la minería asturiana; los romanos consideraban a Asturias «fértil en bermellón». En solución acuosa, es diez veces más tóxico que en polvo. La DL50 para la rata es 23,6 mg/kg si está disuelto y como polvo 214. La DL50 para el ratón joven es de 39,4 mg/kg y para el viejo 47,8. La intoxicación crónica causa hemorragias gástrica e intestinal y degeración grasa del hígado. En el hombre, la dosis menor que ha ocasionado la muerte fue la de 130 mg, pero muchos que recibieron cantidades mayores se recuperaron.

METALURGIA. El arsénico elemental tiene pocos y reducidos usos; se llegó a obtener con una pureza del 99,9999%. Actualmente no se utiliza por la sustitución de sus compuestos por otros mejores y no tan peligrosos.

El mayor riesgo era la limpieza de hornos y el quitar el polvo de chimeneas y conductos y en el manejo de ese polvo. El uso de máscaras reduce el riesgo, pero a menudo no es utilizado por los que están lejos del foco, aunque no parece sea perjudicial. También era una actividad de riesgo la manufactura y refino y transporte que a veces se hace en sacos del óxido arsenioso, en la que los trabajadores se ponen en contacto con el óxido y con el arsénico elemento. La exposición al arsenito sódico en las fábricas está asociado a menudo con la exposición al óxido arsenioso, del cual se obtiene.

El arsénico es un contaminante frecuente del carbón, de modo que al quemarlo en grandes cantidades como en las Centrales Termoeléctricas se vierte al aire mucho arsénico. El arsénico es un subproducto de las fundiciones de zinc, hierro y especialmente de las de cobre de las que se libera arsénico al aire. En las fundiciones hay riesgo en la limpieza de los hornos, en el envasado, refinado, almacenamiento, al limpiar metales, etc. La orina de los expuestos contiene derivados metílicos de arsénico.

El arsenicismo profesional es infrecuente. La mayoría de los cuadros de arsenicosis se presentaban en la exposición al polvo de As_2O_3. Las estadísticas deben estimarse con cautela sobre todo las antiguas, pues se incluían como intoxicación los efectos irritativos externos e incluso todo tipo de cánceres, sin tener en cuenta la afectación sistémica ni los datos tóxicológicos.

En Francia se produjeron entre 1927 a 1938, 64 arsenicismos profesionales, de los cuales procedían de una fundición, según el registro de enfermedades profesionales: 18 en 1936, 13 en 1937, 1 en 1938 y entre 1939 a 1941 sólo 12. En el Reino Unido se documentaron entre 1900-1959 sólo 292, y aún éstas hay que tomarlas con reservas sobre todo en los primeros años del período, pues había tendencia a considerar como intoxicación los efectos irritativos externos e incluso cualquier cáncer, sin tener en cuenta la afectación sistémica ni los datos toxicológicos. Por ejemplo, los fructicultores expuestos 2 ó 3 meses a pulverizaciones que cargan el aire con 0,48 mg por m^3 no se intoxican.

Entre 1900 a 1918, el origen principal fue el trióxido arsenioso y las sales cúpricas con baja mortalidad; entre 1919 a 1939 la fabricación de insecticidas, entre ellos de los utilizados para bañar a los corderos, fueron la causa más im-

portante de los cánceres de piel o pulmón. Desde 1945, la arsenicosis laboral fue disminuyendo hasta casi desaparecer debido a un mejor criterio y exactitud en el diagnóstico, diferenciando la intoxicación de la toxicodermia, aunque ambas sean profesionales, y por una mejor protección e higiene, pero sobre todo por la sustitución de los arsenicales, cuya demanda cayó drásticamente desde los ochenta, debido a los efectos nocivos al ambiente y a la salud pública, sustituyéndose por productos menos peligrosos, como los plaguicidas y por la higiene industrial. Sin embargo, siguen apareciendo insecticidas arsenicales nuevos como el inmiten AZ31 y el timbelux 50.

a) Trabajos de metalurgia en los que hay arsenicales; manufacturas para obtener derivados arsenicales como la calcinación, fundición y refinamiento de arseníferos.

b) Obtención de sulfúrico a partir de las piritas, proceso en el que se produce arsénico.

c) Fabricación y empleo de anticriptogámicos; el anhídrido arsenioso, el arseniato sódico son herbicidas; el metanarsonato monosódico (MSMA) se usó en grandes cantidades para despejar de hierbas los caminos rurales de Louisiana. El arseniato de sodio y metano y el ácido cacodílico son selvicidas. El arsenito sódico y el óxido de arsénico se emplearon para controlar los macrofitos acuáticos, y en 2004 Fattorini y cols., sugirieron su empleo para destruir polychaetes en el mar. También se han usado como fungicidas, insecticidas y rodenticidas.

El arseniato cálcico fue utilizado para destruir la pirausta de la vid y la dorífera de la patata. El arseniato diplúmbico y el arseniato tricálcico eran la base del tratamiento específico de parasitosis de las viñas y de la patata. La agricultura consumía la mitad de la producción de arsénico. Entre 1950 y 1957, Brown publicó 28 intoxicaciones en cultivadores de viñedos por plaguicidas arsenicales. El riesgo es grande al introducir a los animales en baños parasitidas y al limpiar, reparar, etc., los baños. El arseniato doble de plomo y calcio insoluble se empleó como plaguicida, incluso dispersado por aviones y como antiparasitario de animales, sobre todo en el esquileo. El anhídrido arsenioso en polvo fino fue empleado para matar moscas con gran riesgo para los trabajadores y fue la base de los papeles matamoscas, hoy en desuso.

El As_2O_3 es el clásico mataratas o mataratones; en algunos lugares se ha empleado un arseniato de estricnina como rodenticida y para preparar cebos envenenados. La exposición al arsénico puede seguir siendo alta en agricultores y ganaderos en cuyas granjas y cultivos se aplicaron arsenicales en el pasado.

En 1951 se sustituyó la adición a la tierra de ácido sulfúrico para favorecer el brote de la patata por la de arsenitos sódico y potásico, cambio técnico que acarreó problemas a los trabajadores que lo aplicaban, así como al ganado y a los animales silvestres. El arsenito sódico al 40% fue empleado para descortezar plantas.

Fabricación y empleo de pigmentos, colorantes, y pinturas con arsenicales. En el siglo XIX y primera mitad del XX se produjeron y utilizaron numerosos arsenicales como pigmentos (industrias, pinturas, vidrio, textiles y papeles pintados especialmente para recubrir paredes, flores). Los pigmentos verdes eran los más usados, como el arsenito de cobre o verde Scheele, el acetoarsenito de cobre o verde de Schweinfurt (usado antiguamente mezclado con polvo de carretera para destruir larvas de culicidos en la lucha antipalúdica) y los verdes Neuweid.

El oropimente amarillo dorado fue usado para estampar tejidos, papeles para cubrir mamparas y paredes; este uso adicionaba al riesgo laboral el doméstico, pues por la humedad se desprendía arsina. El arseniato de alumina es rojo y el de cobalto azul. Los pigmentos arsenicales se emplearon para pinturas antifúngicas, especialmente para submarinos; también para fabricar flores artificiales de tela o papel, tintas de imprenta, litografías o para pirotecnia. Un informe del Doctor Guy al Consejo Privado inglés en 1863, ya puso en guardia frente al verde esmeralda. Ha habido exposición doméstica por los papeles pintados con pigmentos arsenicales y por la madera tratada con arsenicales.

C*onservación de maderas*. El anhídrido arsenioso y el arseniato sódico son conservantes de la madera. La madera se impregnaba o inyectaban con esta fórmula: pentóxido de arsénico (As_2O_5-H_2O) 45 p, dicromato potásico ($K_2Cr_2O_4$) 35 p, Sulfato cúprico ($CuSO_4.5H_2O$) 20 p. En 1950 se trató así el 40% de la producción maderera de Nueva Zelanda especialmente de Pinus radiata.

Conservación de cueros y pieles con agentes de conservación a base de compuestos arsenicales (especialmente oropimente), sobre todo en taxidermia aprovechando su efecto antibacteriano.

Otros usos

El jabón de Bécoeur, que contiene un 30% de anhídrido arsenioso y el oropimente As_2O_3, se han utilizado como depiladores.

Pirotecnia.

Para impedir la formación de limos en lubricantes.

Envejecimiento de tejas y otros materiales.

Impermeabilizar objetos de cerámica.

El arsénico es catalizador y como tal se emplea en cerámica.

Industria farmacéutica.

Preparación del ácido sulfúrico, partiendo de piritas arseníferas.

Empleo del anhídrido arsenioso en la industria del vidrio. El óxido de arsénico aumenta, como lo hace el plomo, la transparecencia del vidrio, al que pueden conferir colores, lo mismo que a los esmaltes.

Tratamiento de minerales arsenicales con desprendimiento de hidrógeno arseniado (arsina).

Preparación y empleo de arsinas.

Fabricación de acero al silicio.

Desincrustado de calderas.

Decapado de metales.

Inflado de balones con hidrógeno impuro.

Limpieza de metales.

Revestimiento electrolítico de metales.

Industria de caucho.

Adición de arsénico al plomo fundido para dar a perdigones y balines la tensión superficial necesaria y para que tome forma redondeada y se endurezca. También se adiciona al plomo de las baterias y de los revestimientos de cables.

Como aditivo de piensos para cerdos, ya que aceleran su desarrollo, y que apenas se emplea actualmente.

Los semiconductores de arseniuro de galio son más rápidos que los de silicio, lo que permite reducir el tamaño, y con ello la distancia que deben recorrer los electrones que circulan por ellos. Se utilizan en los transistores, ordenadores potentes y permiten construir nuevos tipos de radares y satélites de comunicaciones capaces de operar con microondas y, a veces, con frecuencias mayores (1987). El superordenador VPP500 incorpora nuevos semiconductores y sistemas de empaquetamiento. Los circuitos microscópicos van grabados sobre laminas de silicio «chips». Los circuitos altamente integrados de arseniuro de galio proporcionan chips con 25.000 puertas y un tiempo de propagación de seis picosegundos.

El arseniuro de galio se ha empleado profusamente en la fabricación de láser. Los InGaAs P irradian a 655 nm, y se usan, por ejemplo, para detectar cálculos subgingivales de los molares. Cada año se venden cientos de miles de antenas receptoras de las señales procedentes de satélites, en las que se utilizan detectores de arseniuro de galio. Se prevé que el empleo de circuitos que utilizan e1 arseniuro de galio alcanzará una difusión similar dentro de muy pocos años. En una economía y una sociedad que dependen del intercambio rápido de información y de su procesado subsiguiente, se exigirá que muchos de los dispositivos basados en el silicio incorporen una proporción considerable de componentes de arseniuro de galio para realizar adecuadamente su trabajo. La tecnología del arseniuro de galio ha seguido las huellas del curso de desarrollo que los científicos trazaron en su día para el silicio.

En los reactores pueden emitirse compuestos volátiles clorados procedentes del sistema de decapado a base de cloro, quedando residuos de galio y de arsénico en las paredes de la cámara de reacción, en el filtro de la bomba en vacío, en el eliminador de nieblas de aceite y en el cartucho de aspiración al carbón activo y sobre todo en el aceite de la bomba rotativa (Rouskanen y cols., 1990), lo que obliga a adoptar medidas de protección al sustituir el aceite y su filtro de aceite, los contactos con las superficies interiores de la cámara del reactor y el entretenimiento de la bomba en vacío.

El gas natural está constituido por un 60% de metano, 10% de otros hidrocarburos, 20% de monóxido de carbono y otros gases y un 0,06% de sulfhídrico que al ser quemado el gas, produce sulfuroso contaminante ambiental. Para desulfurizar el gas, se le pasa por arsenito, formándose sulfoarsenito, que se transforma en monoarseniato oxidado y deja azufre y arsénico.

PREVENCIÓN INDUSTRIAL

Se han propuesto unas concentraciones máximas permisibles en los locales de trabajo entre 0,15 a 5,0 mg por m^3, pero la de 0,15 parece exagerada y difícil de cumplir y la de 5 es peligrosa. Podría ser 1 a 2 mg por m^3.

La máscara que retiene un 80% del polvo es eficaz.

Richmond y cols. (2004) estudiaron la eliminación del anión arseniato de una solución por coprecipitación con ferrihidrito, manteniendo constante en 12 la relación Fe/As, variando el grado de supersaturación con respecto a la precipitación del óxido de hierro, variando la concentración de hierro o el pH. La relación entre la supersaturación y la eliminación de arsénico sigue una curva exponencial, con la máxima eliminación en la mayor razón de supersaturación para cada pH.

La arseniuria es útil para evaluar la exposición. En personas no expuestas profesionalmente se elimina por litro de orina unos 0,015 mg, aunque a veces puede llegar a 0,06 mg. Se encontraron en orcardistas en períodos de bastante trabajo medias de 0,22 a 0,24 mg, con muchos valores inferiores a 0,5 y uno con 2,0 mg, aunque ninguno de ellos presentaba sintomas, ni en el que excretaba 3 mg de arsénico por litro recogido en otro estudio.

Algunos autores estimaron límite de arseniuria 0,1 mg de arsénico por litro, pero se han encontrado concentraciones de 1,5 mg por litro en no expuestos.

Se ha considerado que la presencia de más de 3 μg de arsénico por gramo de pelo indicaría intoxicación, pero hay trabajos que han encontrado 120 μg por gramo de cabello.

Algunos autores no creen posible determinar si el arsénico del pelo llegó a éste por contacto o desde la sangre, lo cual cuestiona los test de arsénico en el pelo para diagnosticar arsenicismo.

NIVELES DE ARSÉNICO EN LOCALES DE TRABAJO. Los vapores y el polvo se pueden recoger con precipitadores electrostáticos y el polvo también con un impinger conteniendo un álcali diluido. Las muestras se tratan con el método de Gutzeit u otro similar. El límite tolerable para los arseniatos y para el anhídrido arsenioso es de 0,5 mg/m^3 y para el arsenito cálcico 0,1 mg/m^3.

El TLV de la ACGIH para el arsénico y compuestos solubles es 0,2 mg/m^3. En 1975, el National Institute of Occupational Safety and Health recomendó un límite de 2 mg/m^3 para el aire de locales de trabajo, debido a la carcinogenicidad de los compuestos inorgánicos. El war estandard de la American Standards Association es de 0,15 mg/m^3 de aire.

La vigilancia biológica se basa en determinar la arseniuria en 24 horas, índice indirecto pero suficiente.

El personal debe estar protegido con trajes, guantes, máscara, etc., especialmente aquellos que como los viticultores, esparcen el arseniato.

EL ARSÉNICO COMO MEDICAMENTO

El arsénico fue utilizado además de como veneno como medicamento, al menos desde el IV a.D., en Grecia; Hipócrates (460-377) usó el sulfuro para tratar úlceras; también fue usado en Roma; el médico Aecio lo recomendaba para tratar el asma, inhalaciones y fumigaciones de trementina y de sales de arsénico. Los alquimistas lo utilizaban para buscar la piedra filosofal.

Son conocidos el licor de Boudin (ácido arsenioso al 1:1.000), los gránulos de Dioscórides conteniendo cada uno 1 mg de ácido arsenioso, el licor de Fowler (arsenito potásico), el licor de Pearson (arseniato y arsenito sódicos). Su empleo más extendido fue a partir de 1786, apoyado por los informes de Fowler como reconstituyente y antianémicos a dosis bajas, coadyuvado con el hierro tuvieron prestigio derivados alifáticos del arsénico pentavalente como el ácido cacodílico, cuya solución al 1% era el licor de Fowler; su efecto podría deberse a la inhibición de las deaminasas de las bacterias intestinales, disminuyendo la catabolización digestiva de los aminoácidos; también se ha dicho que impide la transformación completa de las proteínas, dejando pequeños péptidos absorbibles; el licor de Fowler se empleaba en forma mágica, en gotas cuyo número iba aumentando una cada día hasta una determinado número en que cada día se disminuía una gota. Con la misma intención se ha usado como aditivo alimentario para engordar pollos y cerdos. El «polvo de Fray Cosme» fue utilizado como escarótico y contenía 12% de anhídrido arsenioso. El licor de Fowler se empleó sin ninguna base científica para tratar la anemia perniciosa. Ehrlich en 1900, en su búsqueda de la «therapia sterilizans magna», ensayó cientos de arsenicales orgánicos para tratar la sífilis, consiguiendo el salvarsán As(III) y luego el neosalvarsán, el mapharsen y las arsfenaminas, los primeros medicame-

nos eficaces contra la sífilis, hoy desplazados por la penicilina. El melarsopol o triparsamida y la carbasona se ha usado para tratar la tripanosomiasis en fase meningoencefalítica.

Hasta los años cincuenta se estuvo empleando el arsénico oral para tratar neuralgias, corea, psoriasis y otras dermatosis y hasta para el asma. Se pensó, qué dosis bajas serían útiles para tratar anemias y leucemias. Son muy escasas las intoxicaciones medicamentosas por arsenicales; algunas fueron debidas a confusión con otros medicamentos o a un error de dosis.

El uso terapéutico de arsenicales orgánicos causaba en los luéticos la reacción de Herxheimer, debida a la liberación brusca de proteínas del treponema, reacción que rara vez aparece en tratamientos antiinfecciosos. También han originado crisis nitritoides de tipo anafiláctico.

El arsénico también fue empleado como afrodísiaco, y el oropimente como base de depilatorios y en cremas de belleza.

Actualmente se utiliza el trióxido de arsénico como marcador de las mitocondrias en la leucemia aguda promielocítica y mediante la inyección venosa diaria de 10 mg de As_2O_3, para inducir la remisión clínica de los enfermos con leucemia promielocítica aguda, incluso con los que tuvieron recaídas después de ser tratados con ácidos trans-retinoicos. Díaz y cols. (2005) encontraron que el trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico), un antioxidante muy conocido, estimula la producción de apoptosis por el trióxido de arsénico en la leucemia promielocítica aguda, en el mieloma y en el cáncer de mama. El tratamiento con ambas sustancias aumenta el estrés oxidativo intracelular, evidenciado por los niveles de la hemo oxigenasa-1 de proteínas, de la activación de la quinasa c y de la oxidación de proteínas y de lípidos. La sinergia parece específica para el arsénico y además protege a las células no malignas de la citoxicidad del As_2O_3.

Seo y cols. (2005) observaron que el antitumoral trióxido de arsénico era eficaz contra células leucémicas en cultivo resistentes a varios quimioterápicos, como las 697/Bcl-2 procedentes de una leucemia de pre-B transfectadas de Bcl-2, y las K562/D1-9 resistentes a la daunorubicina que sobreeexpresan la p-glicoproteína (Pgp)/D1-9. Sólo las células HL60/AD resistentes a la daunorubicina y a la 1-beta-D-arabinofuranosilcitosina (Ara-C) que sobreexpresan la proteína (MRP1) asociada con la multiresistencia, tenían una pequeña resistencia cruzada al trióxido de arsénico. En la sensibilidad al trióxido de arsénico, sólo juega papel el glutation (GSH). La butionina-sulfoximina (BSO), que reduce el GSH no sólo aumenta la sensibilidad al trióxido de arsénico, sino que vence la resistencia cruzada debida al MRP en las HL60/AD. Es decir, que el As_2O_3 es efectivo en las tres líneas celulares, lo que le hace útil para tratar las leucemias multiresistentes. El sulfarsenobenzol, unido al selenio, sirve para tratar la tripanosomiasis animal. Un interesante uso terapéutico del arsénico es para recubrir los stent. Los que están cubiertos con As_2O_3 lo van liberando durante 28 días como mínimo, como observaron Yang

y cols. (2006) en la iliaca del conejo, suprimiendo la hiperplasia de la neoíntima y aumentando la apoptosis de la célula muscular lisa vascular, que podría ser uno de los mecanismos por los que el As_2O_3 inhibe la reestenosis.

El As_2O_3 inhibe *in vitro* e *in vivo* la migración, la invasión y la adhesión al peritoneo por las células del carcinoma ovárico dosis-dependiente, lo cual podría ser debido a una reducción de la motilidad, que disminuye su adhesión a las células mesoteliales del peritoneo, así como a la regulación negativa de la expresión de los genes MMP-2 y MP-9, de las células tumorales y de la positiva de la expresión del gen TIMP-1 y la correspondiente a sus proteínas.

Las Farmacopeas ya prescriben test para determinar los niveles de arsénico en materiales y ampollas.

EL ARSÉNICO EN LOS ALIMENTOS

Los alimentos, especialmente peces y mariscos, suponen un aporte importante de arsénico, pero al estar la mayoría con contaminación reciente organificada, su efecto sobre la salud es mucho menor que la de las especies inorgánicas. La intoxicación arsenical por los alimentos es siempre crónica, con náuseas, diarreas, neuropatía periférica, astenia, debilidad muscular, anemia, alteraciones dermatológicas, lesiones vasculares y arritmias.

Las plantas adquieren arsénico básicamente desde el suelo, y cada vez menos desde los plaguicidas, usados especialmente sobre los viñedos, que pasan al vino.

El arsénico del suelo se fija fácilmente en las raíces, uniéndose a los péptidos fitoquelatina y homofiloquelatina, cuya síntesis estimula el arsénico (y el cadmio), mientras que otros metales pesados sólo aumentan la síntesis de los precursores glutation, homoglutation y cisteína, como vieron Gupta y cols. (2004) en las raíces del garbanzo. La presencia de arsénico en las plantas comestibles constituyen un aporte de arsénico.

Un aporte importante de arsénico alimenticio lo constituyen los de origen marino. Por ejemplo, cada gramo de coquinas frescas, recogidas a lo largo de la costa de Huelva, tenían en 1998 expresado en microgramos: cobre entre 17,91 y 39,66, zinc entre 12,87 y 19,46, arsénico entre 2,36 y 3,19 (el inorgánico 0,158 y 0,424), los del cadmio entre 0,014 y 0,051, y los del plomo entre 0,371 y 0,972. Los tres puntos de muestreo más alejados de la Ría de Huelva son los que presentan las contenidos de Cd, Pb, Zn, Cu y As inorgánico menores. Los resultados no pueden ser analizados estadísticamente y se consideran como una prospección inicial para evaluar la seguridad alimentaria de la coquina. Todas las muestras cumplen con las legislaciones vigentes en España, en la Unión Europea y en el resto del mundo, por lo que la comercialización de coquinas se puede llevar a cabo en cualquier país.

En España no se han establecido límites máximos de arsénico total ni del inorgánico en productos de la pesca. Tampoco el reciente Reglamento de la Comisión Europea regula el arsénico. Actualmente, sólo Australia y Nueva Zelanda limitan a 1 mg por kg de peso fresco los contenidos de arsénico inorgánico en productos de la pesca. La ingesta máxima por kg de peso en no expuestos profesionales es (1967) en Canadá, USA, Francia, 0,025 a 0,033 y para los no expuestos profesionales entre 0,007 a 0,06 mg por kg. La ADI (ingesta diaria admisible) se indica como As orgánico.

La OMS ha establecido para los alimentos el límite de 2 mg por kg^{-1} de peso fresco. Los límites para moluscos y crustaceos es 50 a 100 ppm y para los pescados 3 a 5 ppm. El MRL agudo oral es de 0,005 mg/kg/día (efectos gastrointestinales en el hombre), el MRL crónico oral y el RfD la «dosis de referencia» para los efectos dérmicos en los seres humanos es 0,0003 mg/kg/día.

CLÍNICA DEL ARSENICISMO CRÓNICO

Se produjo en la exposición profesional, en algunos casos de envenenamiento para soslayar las posibles sospechas, y por el uso continuado de medicamentos arsenicales.

Por el aire con polvo procedente del suelo puede causar conjuntivitis gravísima, edema palpebral y necrosis corneal. El efecto en las vías respiratorias depende del estado de las fosas nasales y de la laringe y bronquios. Causa coriza, perforación del tabique (como la cocaína), faringitis crónica, ronquera. También puede entrar de forma accesoria por las escoriaciones cutáneas provocadas por el propio arsénico.

En la exposición laboral se presentaron casos raros de intoxicación aguda por inhalación de arsina o por la reiterada de arsenicales trivalentes aún a dosis muy bajas. Produce vasodilatación cutánea, que determina un ligero edema, que en la cara se manifiesta por un «cutis de leche y rosas». Empieza con irritación e inflamación de la conjuntiva, catarro mucoso e incluso faringitis, laringitis con voz ronca, gingivitis, bronquitis, vómitos, diarrea, dolor abdominal, sialorrea y gingivitis. La patocronia depende de las cantidades de arsénico ingresadas, de la especie o especies a las que ha estado expuesta la persona y del ritmo y distribución pausas, etc., de los ingresos; la predisposición individual podría tener papel, por ejemplo, a través de los procesos metabólicos y excretores, pero no está claramente objetivado. Si persiste la exposición puede producirse anasarca que aumenta el peso; también se presentan lesiones de los capilares, de los glomérulos y de los túbulos renales, del aparato digestivo con dolor abdominal, vómitos matutinos, astenia, anorexia, depresión sin ataxia ni alteración sensitiva y aparecen los síndromes dermatológico, neurológico e incluso epiteliomas, caries, secuestros, fístulas y osteomielitis.

El cuadro típico del arsenicismo profesional se caracteriza por:

1.º Lesiones cutáneas; se trata de una toxicodermia de origen externo, por contacto de la piel con los arsenicales empleados en el trabajo o con tierra o agua contaminados con arsénico, sobre todo si la piel está lesionada, sin olvidar el papel de la función excretora de la piel, especialmente con el polvo fino de anhídrido arsenioso. Influye la susceptibilidad personal. La existencia de microerosiones; el hábito de enjugarse el sudor restregándose la cara con pañuelos, hace penetrar más al arsénico. Se presentan las lesiones elementales de la piel uni o plurifocales, irritativas. Inicialmente aparecen máculas por dilatación capilar, extendidas como un eritema solar en cara y cuello o eritemato-papulosas, con escozor, en cualquier territorio pero sobre todo en las partes descubiertas más expuestas, especialmente en el rostro, nuca, manos, escroto, axilas y cara interna de muslos donde la piel es fina y humidificada por la transpiracion; si se lleva máscara, se afecta primero el surco nasogeniano en él que se acumula el polvo. En los folículos pilosebáecos especialmente en los de la cara, se presentan pápulas foliculares. Si la concentración arsénical fue alta o prolongada o si se acompaña de agentes caústicos, las lesiones se hacen pustulosas. La costra melicérica se encuentra con relativa frecuencia en la cara, sobre todo en los pliegues nasogenianos. Las escaras, muy típicas en las grandes lesiones, son negruzcas, de tamaño y forma variables, siempre secas, duras, tanto más cuanto más antigua sean, llegando a ser pétreas, adherentes a los planos subyacentes, debiendo reblandecerse para desprenderlas, rodeadas de un surco.

Las ulceraciones se deben a la pérdida de sustancia causada por el efecto mortificante del arsénico; se presenta especialmente en las extremidades, escroto, ángulos de la boca, espacios interdigitales. El lecho ungueal está inflamado, la uña cornificada. El reborde cutáneo de las úlceras extensas es hiperqueratósico, grisáceo, semejante al ojo de un pájaro llamada «agujero del ácido».

Hay que destacar que las úlceras son indoloras o poco dolorosas, sin que se infecten, debido a la fuerte acción bactericida, a la que se debe que los taxidermistas utilicen los arsenicales para evitar la putrefacción de los animales; recordemos que algunos (otros no lo estimaron así) forenses señalaron que los cadáveres de los envenenados con arsénico resisten más a la descomposición.

Las lesiones desaparecen al hacerlo la exposición, pero a veces persisten mucho después de terminada aquélla.

2.º Es típica del arsenicismo, la hiperqueratosis o queratodermia ortoqueratósica descrita por Henckel en 1728. La capa córnea se espesa, compacta; se pone amarillenta, translúcida, sembrada de nódulos córneos fluorescentes con la luz Wood; el cuerpo mucoso está hiperacantósico, sin desorganización arquitectural ni atipias ni inclusiones. La capa basal presenta pigmentación melánica. No hay infiltrados en el dermis superficial. Además de la hiperacantosis en la hiperqueratosis influye la adherencia entre sí de las papilas queratinizadas. La hiperqueratosis es más frecuente y destacada en palmas y plantas que fisiológicamente son más

gruesas, haciéndose más prominentes las crestas papilares y en los pliegues inguinales, interglúteo, huecos popliteos, axilas, escroto, y también en el rostro, en cuello, dorso de la mano y del pie. La hiperqueratosis suele estar precedida de hormigueos y de brotes de eritema bulloso, descamativo o de vesículas.

Muy típicos son los numerosos «cuernos», que son formaciones verrucosas, hiperqueratósicas muy pigmentadas, de unos 3 mm de diámetro, muy diferentes de las verrugas vulgares, de la papilomatosis paraqueratósica o de la epidermodisplasia verruciforme y de las queratosis actínica y senil. Aparecen en cualquier zona del cuerpo como eminencias tenares, bordes laterales y dorsos de los dedos y sobre las articulaciones falángicas, pulgares y talón y a veces en cara y cuello, pero especialmente en las palmas y plantas, que si se agrietan causan dolor y hemorragias, pudiendo degenerar en epitelioma. La presencia de múltiples cuernos queratósicos situados en aquellas localizaciones es casi patognomónico de intoxicación arsénical.

Hay dermitis ortoérgicas debidas al contacto irritante con el arsénico.

3.º Atrofia de la piel de las zonas afectadas, que puede seguirse de caída de pelo y uñas, que pueden presentar las patognomónicas bandas de Mees que son estrías gris mate, simétricas, de 1 a 5 mm de ancho, transversales, en media luna que se desplazan distalmente al crecer la uña y que persisten incluso después de haber desaparecido la polineuritis.

4.º Melanodermia, que puede ser difusa como una exageración de las zonas oscuras de la piel, afectando poco a las áreas descubiertas sin asentar en mucosas o bien toma un aspecto lenticular gris con reflejos azulados, diseminadas por todo el cuerpo.

Aunque los mineros beban el agua que brota entre el mineral, la hiperqueratosis plantar o «enfermedad de los pies negros» y en su caso la palmoplantar, se debe al contacto del pie con el agua de los «regueros» de la mina, cubiertos de una «nata» de polvo del mineral que actúa mejor por la presión ejercida por el pie. Argumosa da importancia al ambiente caluroso, ya que las lesiones eran más frecuentes en los trabajadores que limpiaban los hornos aún calientes; el mismo día que inician la faena, ya salen del trabajo afectados y si la temperatura es elevada se afectan casi todos los expuestos.

Las lesiones cutáneas producidas en el trabajo, limpias o sangrantes, con tendencia a cicatrizar con granulaciones, tan pronto contactan con arsénico, se infiltran sus bordes, se rodea de una aureola rojiza, tiende a profundizar, se necrosa y va tomando los caracteres de los procesos úlcerados, con aumento de detritus negruzcos que se adhieren al apósito.

5.º Cuando la exposición se debe a arsenicales solubles, especialmente al anhídrido, al tricloruro y tal vez a algunos compuestos orgánicos, se afectan las mucosas con las que contactan. Así, se produce conjuntivitis e incluso queratitis, faringitis, laringitis; muy pronto se irrita la mucosa nasal que aumenta la secre-

ción de moco en el que puede haber hebras de sangre y a veces epíxtasis; la mucosa del tabique está congestionada y sangrante. Si la exposición cesa, las lesiones regresan en 3 a 5 días, pero si persiste, sobre todo si la humedad relativa es baja o si hay polvo de sosa, el tabique se adelgaza, al cabo de tres a doce meses ya es translúcido y se ulcera recubriéndose con una costra que se puede desprender al sonarse o espontáneamente, dejando el tabique perforado en la zona de Klesselbach, situada a unos 2 cm del borde nasal.

Favorecen y focalizan las lesiones arsenicales las erosiones y heridas que deben evitarse en estos trabajadores y en todo caso cubrirse.

6.º Síndromes neurológicos. La polineuritis explicaría la lesión nerviosa de la intoxicación por arsénico; se debe, como la de la avitaminosis B1, al bloqueo del metabolismo intermediario de los glúcidos y lípidos, en la que la ausencia de aneurina, coenzima de la carboxilasa, impide la decarboxilación catabólica del ácido pirúvico.

Es una neuritis mixta sensitivo-motora que se inicia por parestesias en las extremidades, seguida de debilidad muscular, preferentemente de las extremidades, comenzando por las inferiores, simétrica con debilidad en las extremidades sobre todo en los músculos extensores, fundamentalmente al común de los dedos; pueden presentarse sacudidas álgicas en uno o varios grupos musculares y contracciones espasmódicas que dificultan la marcha que se hace en «stepagge», con impotencia funcional; luego se extiende a los músculos del antebrazo que dificulta la marcha; la paresia puede llegar a parálisis que suelen afectar inicialmente a los extensores del pie, acompañadas de anestesia que afecta sólo a las extremidades, aunque puede ser dolorosa, siendo en este caso la marcha vacilante, arrastrando la punta de los dedos y, que por su parecido con los tabéticos ha recibido la denominación de «tabes arsénico». Se parece mucho a la polineuritis alcohólica, que a veces presenta un cuadro de seudotabes, que cursa sin trastornos esfinterianos y con conservación de los, reflejos patelar y, plantar. Tiene interés, por tanto, el antecedente de intoxicación alcohólica al diagnosticar una posible polineuritis arsénico. No hay temblores como suele haber en la intoxicación mercurial. Si se prolonga la parálisis se produce atrofia muscular. Posteriormente se afectan los músculos del antebrazo.

No se acompaña de los trastornos psíquicos del alcoholismo crónico pero subsisten las lesiones cutáneas propias del arsénico; antiguamente se la confundía con la tabes. La polineuritis persiste uno o dos años y aún más, después de la curación clínica, aunque de ordinario acaban por desaparecer. Puede asociarse con afectación auditiva y visual. Alguna vez, la neuropatia sólo afectó al nervio óptico (neuritis retrobulbar) que determina ceguera. En los casos graves la médula espinal también puede estar afectada. La afectación neurológica es más frecuente en las personas mayores.

7.º Menos frecuente es la encefalopatía con alteraciones vasculares de las sustancias blanca y gris, que se manifiesta por postración, parálisis, delirios, que

conduce a la muerte. Hay una forma clínica cerebrospinal, en la que sólo hay encefalopatía sin cuadro gastrointestinal.

Progresivamente se presenta anorexia, cansancio y disminución de las funciones mentales y sexuales; en algunos casos se produjo insuficiencia hepática o renal, alguna vez anemia y en alguna afectación de médula ósea y alteraciones de la hemostasia, neumonitis, infertilidad, abortos en mujeres, disminución de la inmunidad anti-infecciosa, alopecia, eritrodermia, lesiones vesículo-edematosas, etc. Exceso de mortalidad de procesos cardiovasculares y de cirrosis.

8.º Los expuestos a largo plazo, de niveles bajos del orden de 0,17-0,80 ppm, rara vez pueden padecer la que se llamó «enfermedad vascular periférica», caracterizada por irritación gastrointestinal no debida a un efecto local, sino (Böhm y Unterberger) a parálisis vasomotora de las terminaciones del simpático o a trombosis de los pequeños vasos. Algunos autores observaron anemia.

CÁNCER ARSÉNICAL

Paracelso describió en 1531 una enfermedad profesional en trabajadores del arsénico, pero sólo se conoció su naturaleza cancerosa en 1879. No hay buenos modelos animales de cáncer arsenical. La aplicación cutánea experimental de arsenicales no ha dado resultados concluyentes. Leitch y cols., aplicaron en 1922, dos veces al día, una solución al 0,12% de arsenito potásico en zonas rasuradas de piel durante 43 días, de 100 ratones, de los que murieron muchos, probablemente por la alta toxicidad de la solución del arsenito potásico y sólo en en uno, apareció un epitelioma escamoso metastático, raro en el ratón. A partir de 1950 ya había estudios epidemiológicos que relacionaban el contacto, la inhalación y la ingestión reiterada de arsénico inorgánico con los cánceres de pulmón, de vejiga urinaria, de hígado, de riñón, hematopoyético, de próstata y sobre todo del cutáneo, pero los datos eran limitados y la asociación podría ser debida a que a menudo, la exposición al arsénico se acompaña con la de hidrocarburos policíclicos (alquitranes, combustibles fósiles), con anhídrido sulfuroso o con el humo de tabaco, etc.). En todo caso, su carcinogenicidad es de baja intensidad y el cáncer inducido tiene un curso benigno y no da nunca lugar a metástasis.

Un número creciente de arsenicales, casi siempre trivalentes, son cancerígenos generalmente por exposición de varios años por casi todas las vías. La OMS, la Agencia de Protección del Ambiente (EPA) de los EE.UU. y el Departamento de Salud y Servicios (DHHS) de EE.UU. han clasificado a los compuestos inorgánicos de arsénico como compuestos cancerígenos, y la IARC (International Agency for Research on Cancer) los incluyó como carcinógeno del grupo I para el hombre. La Agencia de Protección del Medio Ambiente de EE.UU. (EPA) da al factor de pendiente de cáncer para el arsénico, un valor de 1,5-1 (mg/kg/día), considerándolo cancerígeno humano debido a su capacidad para producir cáncer de la piel. El Departamento de Salud y Servicios Sociales de EE.UU. (DHHS) y

la Agencia Internacional para la Investigación de Cáncer (IARC) también lo estiman carcinógeno para los seres humanos.

La cancerogénesis se podría deber a una lesión oxidativa del ADN, como lo indica los elevados niveles de la 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG), en personas con elevadas concentraciones de arsénico en el pelo y en la orina, debidas a beber agua rica en el metaloide (Kubota y cols., 2006).

El arsénico, entrado por vía cutánea u oral, causa epiteliomas, siendo para Tello el más frecuente el espinocelular, aunque también puede determinar el basocelular. No se conoce relación con el peligroso melanoma. Beane y cols. (2004), estudiaron apareadamente por edad y sexo, 368 casos de melanomas cutáneos con 373 controles de cáncer colorectal, diagnosticados en 1999 y en 2000, en indios Iowa de 40 y más años, encontrando asociación entre el melanoma y el arsénico de las uñas determinado por espectrofotometría de absorción atómica en horno de grafito.

La exposición industrial al arsénico ha inducido cáncer cutáneo, incluida la enfermedad de Bowen, que se caracteriza por múltiples cánceres de piel. La inmunohistoquímica muestra características de proliferación y apoptosis. Liao y cols. (2004), expusieron cultivos de queratinocitos de prepucio humano a diferentes concentraciones de arsenito sódico. A concentraciones menores de 1 µM, el arsénico inducía la proliferación de los queratinocitos y aumenta la actividad del factor nuclear kappa B y la de la proteína activadora 1, factores cuya transcripción regulan la proliferación célular y la apoptosis. A partir de 5 µM, el arsénico induce la apoptosis por la vía FasL del ligando Fas/Fas con aumento de la actividad de la AP-1 pero no la del NF-kappa B. Estos resultados indican que la regulación positiva del NF-kappa B a concentraciones bajas de arsénico, se correlaciona con la proliferación de los queratinocitos. En cambio altas concentraciones de arsénico aumentan la AP-1 e inducen apoptosis asociada a Fas/FasL.

Fiertz observó en los pacientes tratados con el licor de Fowler, correlación entre la hiperqueratosis y el cáncer de piel. Igualmente se ha demostrado en diversos lugares relación entre la concentración de arsenicales en el medio con los cánceres.

La ingestión durante largo plazo de arsénico trivalente, que es la forma más tóxica, predispone a carcinomas de las células basales de la piel, en sus diversas variedades, presentando características diferentes de los epiteliomas no arsenicales.

El arsénico también causa la enfermedad de Bowen o disqueratosis lenticular formada por elementos infiltrados, cubiertas de verrugosidades que pueden ulcerarse en zonas poco queratinizadas de la piel. Es como la hiperqueratosis, una lesión precancerosa. La exposición profesional al arsénico, aumenta la incidencia de los cánceres del pulmón, excluyendo la influencia del tabaco, de linfomas, del riñón y vejiga urinaria, esófago, incluso del hígado, pero la asociación con el arsénico no está clara; también se han señalado sarcomas.

Neubauer en 1946, publicó l43 casos en los que se estableció claramente la relación con el arsénico, ya que más de la mitad tomaban arsénico como medicamento en psoriasis y otras dermatitis. Casi todos los casos eran debidos a la administración prolongada de arsénico inorgánico trivalente, siendo el tiempo medio de exposición 18 años. Los pentavalentes no son cancerígenos aunque se sabe que pasan en el organismo a trivalente (en la obtención de arseniatos se usan compuestos trivalentes). A menudo, años antes que el cáncer, aparecen lesiones no malignas, especialmente queratosis. Los cuernos pueden permanecer estacionarios, agrietarse, fisurarse, pudiendo causar dolor y hemorragias. Dejan úlceras con bordes duros, asumiendo las propiedades de los epiteliomas clásicos, llegando a dar metástasis y causar la muerte. En algunos casos los cánceres han sido basales. Los epiteliomas pueden ser múltiples o sucederse unos a otros.

El cáncer epitelial cutáneo del arsénico asienta en zonas con queratodermias, que degeneran frecuentemente y que aparece en jóvenes en partes cubiertas como el escroto. Los de mejor pronóstico son los basocelulares que responden al tratamiento local aunque recidivan; los más frecuentes son los espinocelulares difíciles de tratar y causantes de metástasis.

CÁNCER DE PULMÓN. Es difícil relacionar el cáncer de pulmón con el arsénico. De las 157.200 muertes ocurridas en USA en 2003 por cáncer de pulmón, la mayoría fue debida al tabaco, correspondiendo a la exposición laboral 16.700. La mayoría de los estudios epidemiológicos, aún teniendo en cuenta el tabaco, tienen como posible factor de confusión el hábito de fumar, o el grado de fumador pasivo, etc., que aumentarían el riesgo relativo en expuestos al arsénico.

Guo (2004) estudió la mortalidad en 138 pueblos de Taiwan durante 1971 a 1990, encontrando 673 varones y 405 mujeres con cáncer de pulmón. El análisis múltiple ajustado por edad estaba asociado en ambos sexos con concentraciones de arsénico en el agua de bebida superiores a 640 µg/L, sin que influyeran niveles inferiores, lo que corrobora que los niveles de 10 micro g/L de la «US Environmental Protection Agency» no son cancerígenos para los que beben esas aguas.

CÁNCER HEPÁTICO. La exposicion persistente al arsénico está asociada con la elevada mortalidad de carcinoma hepatocelular, en relación con la concentración del arsénico en el agua. La «Standardized mortality ratios» (SMRs) por cáncer hepático, en las mujeres que vivían en las áreas endémicas de HACRE durante 1971-2000, empezó a declinar a los nueve años de haber cesado de consumirse el agua de los pozos artesianos, pero en los varones, las tasas fluctuaban (Chiu y cols., 2004). El angiosarcoma hepático tiene una frecuencia superior a la esperable en personas expuestas al arsénico medicamentoso y profesional.

CÁNCER VESICAL. Los más importantes factores de riesgo son el tabaco y la exposición al arsénico y a las aminas aromáticas. Ayotte y cols. (2006) hacen un estudio ecológico entre el uso del agua de pozos privados en 1970, con más

arsénico que los abastecimientos públicos, que pudiera explicar el exceso de las tasas de mortalidad creciente entre 1985-1999, en ambos sexos, por cáncer de vejiga en New England y en New York (USA). El valor de «r», una vez ajustada la densidad de población, oscilaba entre 0,42 y 0,62. Lamm y cols. (2004) no encontraron relación entre la mortalidad por cáncer de vejiga de varones blancos entre 1950-1979 y la concentración de arsénico, en 133 condados de USA, en los que sólo se bebía agua subterránea con 3 a 60 microg/L. Jarup y cols. (1991) estudian una cohorte de 3.916 trabajadores suecos de fundiciones de cobre, que habían trabajado al menos tres meses, entre 1928 a 1967, que fue seguida a partir de 1981. Se estimó la exposición al arsénico en diferentes períodos en cada puesto de trabajo. Establecieron una matriz de exposición acumulada del arsénico para cada trabajador y además la exposición al tabaco en 107 casos de cáncer de pulmón y en 214 controles de la cohorte. Encontraron asociación positiva del cáncer de pulmón con la exposición acumulada al arsénico con el riesgo de fumar estandarizado, que iba de 0,7 a 8,7, en diferentes grupos de exposición. Se sugiere un factor negativo de confusión del tabaco en los más expuestos. La interacción entre el arsénico y el fumar para el desarrollo de cáncer de pulmón es intermedio entre aditivo y multiplicativo y es menos pronunciada en grandes fumadores.

España es el país europeo con mayor incidencia de cáncer de vejiga. López-Abente y cols. (2006), estudian la distribución de las defunciones por cáncer vesical en los 8.077 municipios españoles intenado relacionarlas con la prevalencia de fumadores, usando el modelo de autoregresión espacial de Besag, York y Mollie, con el RR de mortalidad por cáncer de pulmón. Fueron las provincias de Cádiz, Sevilla, Huelva, Barcelona y Almería en donde había más ayuntamientos con mayor riesgo de cáncer vesical en ambos sexos. El mayor riesgo en la provincia de Barcelona, correspondía a los ayuntamientos de la comarca de Bages, Suria, Sallent, Balsareny, Manresa y Cardona. Deducen que la polución debida a la minería y la actividad industrial, especialmente debida al arsénico, podría haber influido en esta distribución espacial. Los autores destacan, que habría que conocer la exposición al arsénico de su agua de bebida.

MECANISMO DE LA CANCEROGÉNESIS ARSENICAL

El arsénico inorgánico podría reemplazar al fósforo en el ADN, formando una unión más laxa, que unido a interferencia con los mecanismos reparadores del ADN podría causar cromosomopatías. Kato y cols. (2003), vieron que la inyección intraperitoneal de yoduro de dimetilarsinoso (DMI) y de trimetilarsina (TMA), modelos de arsenicales dimetilados y de dimetilarsina respectivamente, a ratones, determinaba la producción de reticulocitos con núcleos pequeños. El TMA los aumentó significativamente pero no el DMI. Además esos reticulocitos sólo aparecían con 10,6 mg/kg de ácido dimetilarsínico (DMA) co-inyectado con glutation reducido. Estos resultados, sugieren que la formación de micronucleos

pueda necesitar la ulterior reducción metabólica del arsénico dimetilado trivalente, por ejemplo, produciendo dimetilarsina, por un exceso de GSH.

Consistentemente con la idea de que el arsénico se une a cisteina-SH, Khalil y cols. (2006), observan que el ditiotreitol bloquea el efecto del arsenito.

Los arsenitos, causan de forma dosis-dependiente, la muerte celular, por activación de la caspasa 3/7, efecto que disminuye la pre-inducción de proteínas del estrés térmico de HSPs. Khalil y cols. (2006), demuestran que bajas concentraciones de arsenito promueven el desarrollo, efecto que aumenta un moderado shock térmico. La inducción de respuesta de shock térmico HSPs es un biomarcador sensible de la exposición al arsénico, y las HSPs deben contribuir a la promoción de tumores del arsénico.

EFECTOS MUTAGÉNICOS Y TERATOGÉNICOS

Askanazy (1927), trasplantó embrión de rata en el peritoneo de rata adulta que bebía agua con arsénico, observando que se desarrollaron en algunos animales teratomas benignos y malignos, que atribuyeron a la sensibilidad de las células embrionarias al arsénico. Las crías de hámster expuestas en útero, presentan más malformaciones, pero sólo con dosis altas. Una dosis única de 40 a 50 mg/kg de arsenicales por vía oral o peritoneal causa, además de elevada mortalidad fetal, anencefalia, malformaciones de miembros, de la cola en rata, ratón y hámster.

El arsénico produce además, daño genético, como malformaciones oculares y renales; aborto y complicaciones en el embarazo.

Las gestantes que viven cerca de fundiciones, están expuestas al arsénico (también al Hg, Pb, Cd), que interfieren con el desarrollo fetal de personas y de animales. Sonia Tabacova del Centro Nacional de Higiene, y Nutrición de Sofia, publicó en Sciencia en 1994, el hallazgo del 0,36% de malformaciones, casi el triple de la tasa nacional, en unas 15.000 mujeres que vivían cerca de la planta de fundicion de cobre de Srednogorie, en la parte central de Bulgaria y cuyas placentas tenían tres veces más arsénico que las de los controles.

Pineda y cols. (2004), investigaron en niños que vivían cerca de una fundición en México, que contaminaba el aire y el suelo cercano y al agua, que contenía entre 10 y 30 ppb de plomo y de arsénico. La excreción renal de arsénico de los niños oscilaba entre los 16,75 a 465,75 microg/L, excretando el 93% de los niños más de 50 microg/L y el 65% tenía plumbemia superior a los 10 microg/dL (3,47-49,19).

El análisis multivariante, mostró que la producción de óxido nítrico por los monocitos activados indirectamente con IFNμ más el lipopolisacárido, estaba asociada negativamente con la arseniuria y con la plumbemia. La producción de

superóxido en los monocitos activados directamente, estaba asociada negativamente con la arseniuria y positivamente con la plumbemia. Es posible que exista una interacción negativa para la producción de óxido nítrico, y positiva para la del superóxido.

Aunque el arsénico no produce cáncer experimental, aumenta la mutagenicidad de otros mutágenos. Tapio y cols. (2005), demuestran que el arsenito o en la irradiación gamma de las células linfoblastoides humanas, las TK6 aumentan significativamente comparados con controles, la glutation (GSH) transferasa omega 1 y el precursor tipo 4 de la subunidad beta del proteasoma. La exposición combinada no induce esos enzimas. La expresión de la subunidad alfa de la flavoproteína que transfiere electrones, aumenta con la exposición al arsénico, con la de radiaciones y con la combinada. El complejo del ubiquinol-citocromo C reductasa, que es el corazón de la proteína I, la fosforribosil adenina transferasa y la proteína hERp29 del retículo endoplásmico, disminuyen por el arsénico o la irradiación, pero no por la exposición combinada. La serina/treonina protein fosfatasa 1 alpha, disminuye con las tres exposiciones. Es decir, que el arsenito y la radiación gamma, modifican los niveles de varias proteínas que intervienen en vías metabólicas y reguladoras importantes, por efecto directo o disminuyendo la defensa celular.

El efecto combinado de la exposición a algunas proteínas esenciales como la glutation-transferasa, la proteasoma o la serina/treonina fosfatasa puede contribuir al efecto co-carcinogénico del arsénico.

EFECTO DIABETÓGENO

Los estudios epidemiológicos efectuados en Taiwan, Bangladesh, y Suecia demostraron que el arsénico era diabetógeno. El arseniato, puede sustituir al fosfato en la formación de adenosin trifosfato (ATP) y en otros productos intermedios fosforados del catabolismo de la glucosa, interrumpiendo así la producción de energía e interfiriendo con la secreción de insulina ATP-dependiente. Ello requiere, que la concentración de arseniato sea alta, lo cual sólo ocurre en intoxicaciones agudas y no en los expuestos crónicamente a bajas dosis de arsénico. El arsénico, interfiere con factores de transcripción, que intervienen en la expresión del gen relacionado con la insulina, como el factor 1 de las células beta del páncreas.

De otro lado, el arsenito tiene afinidad para los grupos sulfhidrilos formando uniones covalentes con los puentes de disulfuro en la moleculas de la insulina, de los receptores de la insulina, de los transportadores de glucosa (GLUTs), y de los enzimas que intervienen en el catabolismo de la glucosa, como la piruvato deshidrogenasa y la alfa-cetoglutarato dehidrogenasa, alterando sus funciones. Sin embargo, no parece verosímil un efecto directo sobre esas moleculas causado por el arsenito a concentraciones bajas; el tratamiento con arsenito a concentraciones

bajas puede estimular el transporte de la glucosa, al contrario del inhibidor que ejerce el óxido de fenilarsina (PAO) o por altas dosis de arsenito.

Para Tseng (2004), la inducción de estrés oxidativo y las interferencias en la transducción de señales o de la expresión del gene por el arsénico o por sus metabolitos metilados, son las causas más probables del efecto diabetógeno del arsénico, a través de la inducción de la resistencia a la insulina y de la disfunción de la célula beta. Estudios recientes, demostraron que en las personas con exposición crónica al arsénico, está aumentado el estrés oxidativo y la expresión del TNFá y de la interleuquina-6 (IL-6), que está sobre regulada positivamente. Estas dos citoquinas, inducen resistencia a la insulina. El arsenito a concentraciones bajas, inhibe la expresión del PPARγ, acrónimo de «peroxisoma proliferator activated receptor gamma», es decir, «receptores activadores de la proliferación de los peroxisomas», un importante receptor nuclear de hormonas en los preadipocitos, que activan a la insulina. Los PPAR, regulan el metabolismo lipídico, la expresión del gen ob en el adipocito; intervienen en la diferenciación de los adipocitos, en la inflamación, mejoran el SRI, regulan directamente a la pared vascular, retrasando el desarrollo de la ateromatosis y regulan a las UCP.

Se ha sugerido al estrés oxidativo como el más importante eslabón común entre la resistencia a la insulina y la disfunción de la célula beta por mecanismos, que incluyen la activación del factor nuclear kappaB (NF-kappaB), que pueden realizar bajas concentraciones de arsénico. Aunque sin datos que lo apoyen, la producción de superóxido, inducido por arsénico, puede teóricamente alterar la secreción de insulina interactuando con la proteína desacoplante 2 (UCP2), y el estrés oxidativo podría producir amiloide en páncreas, que pudiera destruir progresivamente a las células beta secretoras de insulina. La susceptibilidad individual debida a genes, a malnutrición, a la capacidad detoxificante, a interacciones con otros elementos traza y a la existencia de otros factores de riesgo para la diabetes, pueden influir en la toxicidad del arsénico sobre los órganos que intervienen en el metabolismo de la glucosa, haciendo progresar la resistencia a la insulina, disminuyendo su secreción, llevando a un estado de hiperglicemia persistente o a diabetes mellitus. En conclusión, la resistencia a la insulina y la disfunción de las células beta, pueden ser inducidas por la exposición crónica al arsénico con aumento del riesgo de que se desarrolle la enfermedad vascular diabética.

También, hay estudios epidemiológicos en expuestos profesionalmente en los que hay significativamente más diabetes.

VASCULOPATÍAS

Estudios epidemiológicos, demostraron una elevada asociación de la exposición al arsénico inorgánico con enfermedad vascular, que Tsou y cols., encontrarían que se debía a disfunción del endotelio vascular. Tsou y cols. (2006),

encontraron que concentraciones tan bajas como 1 y 3 muM de arsenito, aumentan la proliferación de las células endoteliales de la aorta porcina, mientras que las de 10, 20, y de 30 muM, la inhiben, con aumento de la detención en la fase G(2)/M. La cafeína, que inhibe la activación de esas moléculas, rebaja en un 93%, la detención en G(2)/M, que inducen 30-muM de arsenito. Esto sugiere, que las quinasas ATM (ataxia-telangiectasia mutated) y ATR (relacionadas con ATM y con Rad3) por la lesión del ADN, tienen papel en la detención en la fase G(2)/M en las células del endotelio aórtico, posiblemente regulando a las moléculas de la vía de señales que regulan el punto de chequeo, incluyendo la p53, la Cdc25B, la Cdc25C, y la securina, que se acumulan y/o fosforilan al detenerse el ciclo en G(2)/M.

EFECTO INMUNOSUPRESOR

La exposición de 90 niños de 6 a 10 años, al arsénico del agua, reflejado en la arseniuria, reduce la activación de los linfocitos T por la fitohemaglutinina (PHA) (P = 0,005), disminuye la proporción de CD4 (P = 0,092), de la razón CD4/CD8 (P = 0,056), y de la secreción de IL-2 (P = 0,003), es decir, inmunosuprimiendo, lo que que favorece infecciones y cáncer, con aumento de la secreción de GM-CSF por los mononucleares (P = 0,000), sin que hubiera cambios en las proporciones de las células CD8, B, o NK, ni cambios en la producción de IL-4, IL-10, o de IFN-gamma por las celulas mononucleares periféricas, lo que pudiera estar asociado con inflamaciones crónicas (Soto-Pena y cols., 2006).

Sakurai y cols. (2006), encontraron que el arsenito a concentraciones nM, inhibe la diferenciación madurativa de los monocitos a macrófagos que efectúa el factor estimulante de colonias (CSF) *in vitro*, generando macrófagos pequeños, no adherentes y CD4 positivos con el factor de crecimiento GM-CSF a 50-500 nM, sin que llegaran a morir las células. Estas anomalías no las producen el cromo, selenio, mercurio, cadmio, nickel, cobre, zinc, cobalto, manganeso, ni metabolitos de arsenicales pentavalentes, como arseniatos inorgánicos, ácidos monometilarsónico y dimetilarsínico, que si son letales para los monocitos y macrófagos.

El trióxido de asénico aumenta la infecciosidad del VIH-1 para células de Homo sapiens y de Cercopithecus aethiops, disminuyendo la actividad del factor de restricción del retrovirus, sin aumentar la infectividad para celulas del Cercopithecus tantalus, del Macaca mulatta y del Aotus trivirgatus, pese a su potente actividad de restricción para el HIV-1, TRIM5 dependiente. El efecto del trióxido de arsénico sobre el factor de restricción del HIV-1 se realiza por diferentes ortólogos TRIM5, pero depende de factores específicos para la linea celular en la que se expresa el TRIM5 (Sebastian y col., 2006).

EL ARSÉNICO AMBIENTAL

La mayor preocupación que el arsénico causa sobre la salud pública es su presencia en el ambiente que obliga a establecer medidas de control y de prevención.

Ciclo del arsénico en la naturaleza

El arsénico es un elemento móvil, es decir, que se esparce por el viento y por las aguas de escorrentía por la superficie de la tierra, sin depositarse en grandes concentraciones. En su desplazamiento por el suelo y por el agua, el arsénico, puede pasar a plantas y a animales terrestres y acuáticos. Por ejemplo, Gongalsky y cols. (2004) lo hallaron en escarabajos de regiones ricas en arsénico que lo bioacumulaban.

Los microorganismos contribuyen al destino y distribución de los contaminantes en sedimentos de aguas continentales y marinas, transformándolos en especies solubles e insolubles. El arsénico se solubiliza mal en el agua y se volatiliza difícilmente.

La organificación del arsénico

En la naturaleza, el arsénico inorgánico puede pasar a orgánico por diversas vías, utilizando enzimas procedentes de seres vivos, que para ello deben resistir a los efectos tóxicos del arsénico. En los acuíferos, las reacciones microbianas pueden movilizar el arsénico y solubilizarlo haciendo peligrosa el agua contaminada. Los enzimas procedentes de bacterias o de hongos, unen covalentemente al arsénico con cuerpos orgánicos (As-C) en ausencia de oxígeno y puede contribuir a la oxidación de la materia orgánica.

Algunas procariotas autotróficas, filogénicamente diferentes, utilizan, pese a su toxicidad, a los oxianiones del AsO_3, para obtener energía, oxidando a los arsenitos o aeróbicamente a los arseniatos, capaces de derivar la energía de la oxidación de arsenito As(III) a arseniato As(V) en condiciones aeróbicas. La oxidación microbiana de los compuestos de As(III) se puede verificar en ausencia de oxígeno, siendo relevante en algunos medios. En suelos industriales enriquecidos, se desarrollan bacterias diversas si disponen de As(III) como donante de electrones, de un carbono inorgánico como fuente de energía y nitratos para aceptar electrones. En los cultivos de esas tierras se oxida el As(III) estoiquiometricamente acoplado con la reducción de los nitratos. Rhine y cols. (2006) han aislado las cepas autotróficas DAO1 relacionada en un 99% con el Azoarcus y la DAO10, más relacionada con un Sinorhizobium, capaces de oxidar 5 mM de As(III) en siete días en condiciones desnitrificantes. La óxido nitroso reductasa (nosZ) y los

genes RuBisCO de tipo II (cbbM) fueron amplificados de ambas cepas capaces de fijar CO_2 al oxidar As(III).

Los tioarsenitos son complejos solubles de sulfuro de arsénico (III), y tienen un importante papel en la química del arsénico, reduciendo los sulfuros en un medio de pH neutro. El equilibrio químico calculado, usando tioarsenio, indica que la formación de un complejo de ditioarsenito, AsS(OH)(SH)(–1), reduce la concentración de las especies inorgánicas de As(III) presentes, como H_3AsO_3= AsO_3^{3-} + $HAsO_3^{2-}$ + $H_2AsO_3^{-1}$ + H_3AsO_3. Si hay suficiente sulfuro soluble, el As(III) domina este complejo. Es pues, importante conocer el efecto de la formación de ditioarsenito sobre la toxicidad del As(III). Rader y cols. (2004), con el test Microtox de toxicidad aguda, indica que la toxidad del As(III) es función de la concentración de As(III) no complejado, más que de la concentración del As(III) total. Esto sugiere, que las especies de ditioarsenito no son biodisponibles y que su formación reduce la toxicidad del As(III). La formación de ditioarsenito puede reducir la toxicicidad.

La arsenito S-adenosilmetionina metiltransferasa (ArsM), presente en numerosos micoroorganismos, cataliza la formación de una serie de intermedios metilados del As(III), que terminan con la formación de trimetilarsina, que al ser volátil desaparece del medio y de las células. En la Naturaleza están ampliamente difundídos los homólogos del ArsM, que juegan un importante papel en el ciclo del arsénico. La expresión heterológa del gen del arsM del Rhodopseudomonas palustris en una cepa sensible al arsénico de la E. coli, le confiere resistencia al As(III) (Qin y cols. 2006).

AGUA

El agua es actualmente el vehículo más importante del arsénico ambiental y el medio por el que ejerce la mayor parte de su efecto negativo sobre la salud pública, ya que la mayoría del arsénico del agua es inorgánico, más tóxico que el orgánico de los alimentos, y con el agua se beben cientos de microgramos de arsénico al día. Actualmente, beben agua con elevada concentración de arsénico inorgánico diez millones de personas en amplias zonas de varios países. El agua natural, contiene como mucho unos pocos µg/L, pero en determinadas cuencas, el agua puede contener concentraciones mayores procedentes de la pirita, de la arsenopirita, o de las rocas sedimentarias de la cuenca. Los suelos geotermales o volcánicos, son ricos en arsénico; los acuitardos, niveles de arcilla intercalados en acuíferos dedríticos como los de Wisconsin, contienen bastante arsénico. Según diversos estudios realizados en Estados Unidos (acuíferos detríticos en Wisconsin), una de las fuentes naturales de arsénico en las aguas subterráneas puede tener relación con ambientes geoquímicos que requieren la presencia de pirita y arsenopirita entre sus constituyentes minerales y medios reductores. Es conveniente vigilar aguas especialmente cerca de minas, sobre todo de las abandonadas y especialmente en época de crecidas, en las que aumenta la filtración

a través del suelo. En este tipo de ambiente el arsénico inorgánico se moviliza en forma de trióxido de arsénico (As_2O_3). La hidrogeología apunta a que el arsénico del agua de numerosas localidades castellano-leonesas se debe al agua a gran presión y temperatura, impulsada desde el interior de los pozos originan un medio reductor, que facilita la incorporación del arsénico de la pirita dispuesta en capas superficiales. En el agua subterránea, sometida a anaerobiosis, predominan los arsenitos sobre los arseniatos. Los acuíferos que contienen óxido de hierro y manganeso, retienen arsénico para el que tienen gran afinidad. En numerosas localidades castellano-leonesas, el agua contiene arsénico procedente de las piritas. Al hacerse superficiales, las aguas captan oxígeno que hace pasar los arsenitos a arseniatos más solubles y menos tóxicos que los arsenitos.

Además del origen natural del arsénico, el agua puede contener este elemento por los efluentes y escorrentías procedentes de minas, cuyos minerales contienen impurezas arsenicales, teniendo especial importancia las minas abandonadas en las que no hay responsables de mantener adecuadamente las instalaciones. Peplow y cols. (2004), encontraron que el agua de pozos adyacentes a minas abandonadas cerca de Twisp, en el condado de Okanogan (Washington), tomada entre Octubre de 1999 y Junio de 2001, contenían desde menos de 1 a 298 µg/L, de arsénico, 0 a 94 µg/L, de plomo, 0 a 5 µg/L, de cadmio, 0 a 390 µg/L, de selenio, con variaciones estacionales siendo máximas cuando se fundía la nieve. El arsénico también puede proceder de los efluentes de fábricas, fundiciones, de las escorrentías del agua sobrante de riegos de terrenos en los que se utilizaron, a veces excesiva y sin control, de productos relacionados con actividades agrícolas, la jardinería y limpieza de malezas, como son los fungicidas, insecticidas y plaguicidas o los baños empleados para desparasitar animales. En 1959, el agua contaminada accidentalmente con plaguicidas, intoxicó gravemente a siete personas, de las que murió una mujer.

En el agua, el arsénico reacciona fotoquímicamente con complejos acuosos de Fe(III), que producen radicales libres, como el OH*, capaces de oxidar a numerosos compuestos orgánicos e inorgánicos; experimentalmente, el As(III), en solución de citrato férrico se puede oxidar a As(V), básicamente por el radical hidroxilo OH* por via fotoquímica, pero se conoce poco sobre el mecanismo de la oxidación del As(III) y la importancia potencial de la oxidación fotoquímica en el agua natural. En el rango de pH de 4 a 10, el compuesto As(III) predominante, es neutro, mientras que el arseniato, As(V), se encuentra cargado negativamente. La oxidación fotoquímica del As(III) puede contribuir al ciclo del arsénico en el agua natural que contiene carbono orgánico (Kocar y col., 2003).

El riesgo del agua depende de la concentración del arsénico disuelto, procedente del arsénico particulado. Senn y cols. (2004), encontraron en el lago urbano «Upper Mystic» de Massachusset, que el arsénico de los sedimentos estaba como As(V), y típicamente el 85 al 95% como partículas de complejos, estando del 25 al 50% en la fracción de 0,4 a 0,05 µm. Pese a la toxicidad del

arsénico, durante la anoxia hipolimnética la mayoría del arsénico removilizado era As(V). Similarmente, más del 95% del hierro estaba en las particulas mayores de 0,05 µm, el 30 al 50% entre 0,05 µm y 0,4 µm, pese a que lo esperable era que la mayoría del hierro estuviera en las aguas anóxicas como Fe(II) soluble; la filtración clásica, es decir con filtros de 0,4 µm, hubiera clasificado como disueltas las fracciones coloidales de Fe y del As, siendo la especie más importante de arsénico, en el hipolimnion de este lago al cabo de varios meses de anoxia, la absorbida sobre los óxidos amorfos de Fe(III).

En los medios hídricos, el arsénico está principalmente en forma de arseniuros y arseniatos, que intervienen en un ciclo biogeoquímico, en el que pueden cambiar su estado de oxidación. En las fases acuosas, el arsénico forma precipitados insolubles con al menos los elementos Ca, S, Ba, Al, Fe, lo que elimina del agua a los arsenicales, que se depositan en los sedimentos; en ellos (como en el suelo), los arseniatos son rápidamente absorbidos por los hidróxidos de hierro o de aluminio, lo que reduce su capacidad y velocidad de percolación y su disponibilidad para los sistemas biológicos. Las bacterias anaerobias reductoras de metales, pudieran tener papel en la movilización del arsénico de los sedimentos de los acuíferos con arsénico de Bengala Occidental, liberando primero al Fe(III) y luego al As(III), y no simultaneamente a ambos (Islam y cols. 2004). El As (V) soluble se retiene en un 35,3-90% en los acuiféros ricos en carbonatos, en el pH entre 7 y 9, que es el del agua de Zimap (México), contaminada con arsénico (Romero y cols. 2004). La absorción (adsorción y coprecipitación) es uno de los principales procesos que controlan la movilidad del arsénico en esos acuíferos.

En las bacterias, en las plantas y en los animales, el arsénico se reduce o se metila, favoreciendo la producción de compuestos arsenicales, estables físicoquímica y biológicamente.

Niveles de seguridad para el agua de bebida

Para que un agua sea aceptable como bebida, debe ser inocua para el hombre y para los animales y no alterar las reacciones bioquímicas y la vida en su seno. Hay que tener en cuenta la coexistencia de varios xenobióticos, y el aporte de cada uno de ellos con los alimentos, por lo que además de los niveles generales, se deberían establecer otros locales, relacionados con la concentración crítica por kg de peso, es decir, la «critical whole body concentration» o CWBC y (RfD), que es el número de miligramos de cada xenobiótico que por kilo de peso, las personas más sensibles, pueden ingresar diariamente durante toda su vida sin o con poco riesgo para su salud. La aceptación de un agua depende del criterio de salud que se adope. Así, Sakurai y cols. (2006) encontraron que un agua con menos de 1 microM, de arsénico trivalente inorgánico, causa inflamación crónica.

La dosis de referencia se obtiene del NOAEL (resultado de observaciones durante dos años a exposiciones al xenobiótico que no causa efectos) o del LOAEL (resultado de observaciones durante 90 días a exposiciones al xenobiótico que no causa efectos) a personas o a animales. El NOAEL se dividide por un factor de incertidumbre «UF», para cubrir los distintos tiempos de respuesta de cada especie, y la carencia de datos sobre los efectos de exposiciones muy largas. La «Environmental Protection Agency» EPA, toma como factor de incertidumbre 1, 3 o 10 cuando usa el NOAEL de un estudio con humanos, para observar variaciones dentro de la especie, y un factor de incertidumbre de 100 para el LOAEL cuando cubre varias especies.

El «equivalente para el agua de bebida» o DWEL, se calcula multiplicando el RfD de un adulto de 70 kg, por el peso en kilos, y dividiéndolo por dos (consumo medio de agua diario en litros de un adulto). El DWEL, asume que la exposición sólo procede del agua. El MCLG, se determinado multiplicando al DWEL por el porcentaje de la exposición debida al agua de bebida que es del 20% al 80% (20% cuando no se dispone de datos). En 1993, se estableció el RfD para el arsénico en 0,3 µg/kg/día, lo que da un DWEL de 0,3.70:2 = 10,5 µg/kg día; en general el DWEL del arsénico, oscilaría entre los 3 y 30 µg/L. El MCL, es el nivel máximo de un contaminante en el agua de bebida. Hay que tener en cuenta, que los límites en el agua se expresan como As inorgánico, mientras que la ADI se hace como As orgánico, cuyos compuestos no son cancerígenos.

La OMS, la Agencia de Protección Ambiental de USA y numerosos países como Argentina, establecieron una MCL (concentración máxima admisible) de 50 µg de arsénico por litro de agua. La Organización Mundial de la Salud (OMS), EE.UU. y, desde 1998, la Unión Europea, dan el nivel admisible de 0,01 miligramos por litro de agua. La relación epidemiológica entre una incidencia aumentada de cáncer para la concentración de 50 µg/L (Kayajanian 2003, Guo 2004), indica que ese límite es muy alto. La OMS recomendó el límite de 10 µg/L, concentración que no genera un efecto inmediato en al salud, pero que a largo plazo, superior a los 70 años, puede ser nocivo. El riesgo de morir de cáncer de hígado, pulmón, riñón o vejiga, causado por beber 1 litro díario de agua durante toda la vida, podría ser de 13 por cada 1.000 personas expuestas. Se considera actualmente que debería ser como mucho 0,5 µg/L. La «Water Industry Technical Action Fund» (WITAF) considera que la concentración máxima del arsénico, con la que no se determina cáncer, es la de 0,25 µg/L, pero la sensibilidad de las técnicas analíticas sólo llega a 2 µg/L y la EPA la sitúa entre 0,5 y 20 µg/L. El Congreso de los Estados Unidos, se basaba en la tolerancia cero para cancerígenos en los alimentos y en el agua, lo que suponía exigir una MCL de 0, filosofía que incorporó la «Safe drinking water act» (SDWA) en 1974, y a la EPA a establecer un nivel de contaminación máximo (MCL) de 10 µg/L, no considerado cancerígeno, o que el riesgo de desarrollar cáncer después de beber 70 años esa agua, el riesgo de tener cáncer era de 10-1 a 10-6. Es decir, de un caso por cada 10 a 1.000.000 de expuestos. La EPA, calculó un riesgo máximo para las personas de Taiwan que

beben dos litros diarios de agua con 1 µg de arsénico /L, de 3.10^{-5} para las mujeres y de 7.10^{-5} para los varones.

Aunque las técnicas de descontaminación del agua del arsénico son eficaces, es difícil y en su caso costoso, que el agua tratada contenga menos arsénico que los límites de tolerancia.

El HACRE acrónimo de «hidroarsenicismo crónico regional endémico» o «enfermedad de los pies negros», la «blackfoot disease», es el arsenicismo causado por beber habitualmente agua con más de 5 µg/L de arsénico. Al requerir exposiciones largas, no suele presentarse antes de la pubertad, haciéndolo con diversas manifestaciones del arsenicismo crónico. Además de la tóxicodermia, se presentan cuadros gastrointestinales, neurológicos, enfermedades cardiovascular respiratoria y vascular periférica, diabetes mellitus, hipertensión, pies negros y aumento de riesgo de cánceres de vejiga, pulmón, hígado, riñón, útero y próstata, pero sobre todo epiteliomas. Los estudios prospectivos realizados a cabo en extensas áreas endémicas, como Bangladesh o China, hace temer que aumenten las malignopatías en las próximas décadas.

Inicialmente, sólo hay alteraciones histológicas de la piel, melanosis especialmente en las manos y pies, que van endureciéndose en nódulos y pueden degenerar en cáncer. En el conjuntivo, las fibras elásticas degeneran y presentan elastorrexis con tendencia a condensarse en la parte superior del dermis, que puede considerarse como debidas al envejecimiento de la piel o a los rayos UV. Las faneras, suelen estar hipotróficas con distribución irregular de la melanina. La queratodermia constante y patognomónica, es difusa o circunscrita, cuneiforme, puntiforme, verrugosa, crateriforme, excavadas o en bandas. Comienza en más de la mitad de los casos por las palmas y en el 20% por las plantas. Sin llegar al hacre, la exposición al agua puede causar alteraciones subclínicas, como aumento de 1,28 a 2,23 veces de los niveles de percepción, medidos con neurómetro, en los nervios trigémino, mediano, y peroneo superficial, anomalías que Tseng (2003), encontró en personas aparentemente normales de 30 a 75 años que vivían en áreas hiperendémicas de Taiwan.

Las áreas más importantes en las que se ha señalado el HACRE son:

USA. La mayoría de las aguas subterráneas tienen más de 10 µg de arsénico por litro, especialmente en el condado de Millard (Utah). La FDA, encontró que consumo medio diario de arsénico total en Estados Unidos era de 53 µg, el 20% inorgánico, sin que indicara la proporción de los estados de oxidación. En la ciudad residencial y comercial de Arlington, en cuyo ámbito no se había empleado recientemente arsénico en la industria, ni en la agricultura, los sedimentos del pantano «Spy» contenían elevados niveles de arsénico. Durant y cols. (2004), encontraron en 42 muestras del sedimento superficial del seno del norte, que el arsénico oscilaba entre 1 a 2600 ppm y sobre las 19 en el seno sur; entre 120 a 1100 ppm, concentraciones semejantes a las de los lagos contaminados con residuos de minas o de fábricas químicas. La concentración del arsénico del

lodo de la parte norte del pantano, fue máxima en 1962, y en el sur en 1956, lo que estaba de acuerdo con el uso de arsenito sódico y de óxido de arsénico, como herbicidas entre 1960 a 1968, para controlar a los macrofitos acuáticos, empleándose unos 32 kg ha^{-1} para el seno norte y unos 580 kg ha^{-1} para el del sur, consistente con lo estudiado en otros lagos tratados con arsenicales.

REINO UNIDO. Minas de Cornwall y Gales.

ALEMANIA. En Frebiger y Hartz, el arsénico del agua produjo una enzootia y en Reichenstein (Silesia), el arsénico del humo de la fundición de menas conteniendo arsénico, llegaba al agua subterránea precipitado por la lluvia, ocasionando una endemia de HACRE. La introducción de nuevas técnicas de fundición, y un nuevo abastecimiento de agua determinó una alta incidencia de perforaciones del tabique nasal en los habitantes de la zona (Geyer, 1898).

MÉXICO. Albores y cols. (1979), en una zona mejicana comprendida entre 103º 45' y los 102º de longitud oeste y los 25º 15' y los 26º 15' de latitud norte, de clima seco con escasas lluvias y vegetación desértica, determinaron que había HACRE; el agua de Salvador de Arriba y de otro poblado, tenía 0,5 ppm de arsénico, dándose brotes agudos en la ciudad de Torreón, en la que en 1962, se produjeron 40 casos graves, con una defunción. Los animales y concretamente las vacas, sufrían esta endemia con graves pérdidas económicas. Los habitantes de las colonias «Miguel Alemán» y «Eduardo Guerra» en el ejido de Finisterre en el estado de Cohauila, que viven en malas condiciones socio-económicas, cuyo estado nutricional es deficiente, beben agua con mucho arsénico debido a una metalúrgica cercana que procesa 350.000 toneladas mensuales de minerales ricos, entre otros metales, de plomo, arsénico, cadmio, selenio y talio, y padecen alteraciones cutáneas y neurológicas debidas al arsénico.

ARGENTINA. El agua de una gran parte de Argentina, supera los 50 µg de arsénico por litro y el agua de muchos pozos contiene más de 450 µg/L. En la provincia de Córdoba, una de las más afectadas, el 82% del agua freática de una zona de 10.000 km^2 superaba los 50 microg/L, y el agua de la tercera parte de esa provincia de 170.000 km^2 (2 millones de habitantes en 1963), en zona templada con clima seco continental básicamente agrícola, contenía mucho arsénico, llevado por las escorrentías de minas y de fundiciones próximas. En la meseta de la Pampa del Chaco, en el centro de Argentina, de unos 106 km^2, unas 133 ciudades de varias provincias, entre ellas Buenos Aires, La Pampa, Chaco, Salta, San Luis, Córdoba, Santa Fe, Santiago del Estero y Tucumán, beben aguas freáticas que contienen hasta 1.200 mg/L de arsénico. procedente de depósitos cuaternarios de loess (principalmente cieno), intercaladas con cenizas volcánicas riolíticas o dacíticas; procedente de las cenizas volcánicas resultantes de la formación de los Andes. El 11% de los 2.200.000 habitantes de la provincia de Santa Fe, beben agua con más de 50 µg de arsénico por litro. Goyenechea en 1913, describió esta situación y la producción de epiteliomas y preepiteliomas debido al agua de bebida. En Córdoba, eran frecuentes los cán-

ceres, especialmente el espinocelular de manos y pies y era típica una queratitis palmo-plantar, a los 2-3 años de beber el agua contaminada.

BENGALA OCCIDENTAL. Entre 1983 y 1985, se produjo en 14 pueblos del sur de Bengala, intoxicacion crónica (Goral y cols., 1986; Guha y cols., 1986, Chakraborti y cols., 1987). Entre julio-septiembre de 1989, ingresaron en hospitales con síntomas de hidroarsenicoismo crónico, 20 pacientes de 1 a 60 años, cuyos síntomas y signos expresados en porcentajes fueron: debilidad 48, pigmentación 100, algias musculares 70, engrosamiento de palmas y plantas 65, picor y hormigueos de manos y pies 66, hepatomegalia de 1,5 a 2,5 cm 35, tos 40, esplenomegalia 35, anemia 25, ictericia 5 y ascitis 5. Guha y cols. (1992), visitaron Mitra Lane, localidad de de 10.000 habitantes, de donde procedían los enfermos, próxima a una fábrica que durante 20 años estuvo produciendo Verde París. La tierra cercana a la fábrica contenía entre 4 y 19,5 mg/g de arsénico, y 13,5 a 26,5 mg/g de cobre; 8 de 16 muestras de agua contenían más de 50 µg de arsénico por litro. El 57% de 79 personas, miembros de 17 familias que vivían próximas a la fábrica y bebían agua de conducciones locales, de las que el agua del 33% de 12 tuberÍas situadas entre 122 y 228 m de profundidad, tenía de 0,06 a 0,42 mg/L de arsénico, y el 62% de la de 45 tuberías situadas entre 24 y 36 m tenía 0,06 a 58 mg/L de arsénico, presentaban signos de arsénicismo, mientras que en los que habitaban en 21 viviendas, también cercanas, pero que bebían el agua de abastecimiento procedente de Calcuta, que no contenía arsénico, no presentaron síntomas.

CHILE. Prunés señaló el «cáncer del salitre», caracterizado por manifestaciones muy similares a las del HACRE, en obreros que trabajan en las minas o en sus proximidades, en el departamento de Tarapacá, y lo mismo encontraron Greiber y cols., en los mineros de cobre del departamento de Antofagasta. Borgono y cols. (1972), señalaron una alta incidencia de dermatosis y de trastornos vasculares periféricos, en las zonas en las que el agua potable tenía una media de 600 µg de arsénico por litro, cuya incidencia disminuyó en las áreas en las que se aportó agua con poco arsénico. Martinez y cols., del grupo de Mutagénesis del Departamento de Genética y de Microbiología de la Universidad Autónoma de Bellaterra (2005), hallaron en las uñas de 105 expuestos a agua contaminada con 75 µg/L de arsénico, de la región de Antofagasta, una media de 10,15 µg/g de arsénico versus 3,57 µg/g de media de las uñas de 102 personas del área de Concepción, cuya agua tenía sólo 2 µg/g.

PERÚ. En 2000, la planta concentradora de la empresa minera Larizbeascoa- Zapata situada en San Mateo de Huanchor a 3000 m de altura, vertió mucho arsénico al río Rímac que surte a Lima, para cuyo control se instalaron detectores; en 2002 se prohibieron los vertidos. La depuradora de La Atarjea tuvo que emplear la descontaminación específica. En 2005 ,el agua de Lima sólo tenía 9 a 13 µg de arsénico por litro.

TAIWAN. En Taiwan, hay amplias áreas en las que la enfermedad de los pies negros es endémica. Hacia 1975 se les suministró agua sin arsénico y se dejó

de usar el agua de los pozos artesanos para la bebida, riego y confección de alimentos.

CHINA. La arsenicosis, es una importante enfermedad ambiental en China, debida fundamentalmente al agua de pozos que contiene altas concentraciones de arsénico. Sun (2004), consideraba contaminadas las áreas de China en las que el agua del 10% de los pozos tenía arsénico (y aquellas en la que el aire contenía arsénico procedentes de la combustión de carbón). Indica que en China, están emergiendo continuamente nuevas áreas endémicas. Las áreas endémicas de arsenicosis comprendían (Sun, 2004) a ocho provincias y 37 condados, en las que continuamente se descubren pozos y carbón con altas concentraciones de arsénico, y lógicamente los enfermos van aumentando. En la provincia de Shanxi, todos los pozos tenían mucho arsénico, siendo peligrosos el 52%. En Mongolia Interior, sólo los pozos de unos pocos pueblos tenían sus aguas con elevados niveles de arsénico, teniendo sólo el 11% de ellos niveles inadecuados, pero actualmente las provincias de Mongolia Interior, Shanxi, Ningxia, Jilin y Qinghai y, desde 1982 la de Xinjiang, se consideran afectadas. De acuerdo con los límites chinos, el Hacre afecta a unos 2 millones de personas que beben agua con 50 a 2000 µg/L. En China, están diagnosticadas de arsenicoismo unas 10.000 personas de 3 a 89 años, siendo los más afectados los adultos, tanto más frecuente cuanto más arsénico tuviera su agua de bebida.

BANGLADESH. Bangladesh, concentra en sus 30 años de existencia, según un informe del Banco Mundial, el 25% de los desastres naturales que azotan a la región del sur de Asia: inundaciones, ciclones y contaminación del agua y del aire (esta última hasta niveles alarmantes en la capital, Dhaka), que este pequeño país afronta desde una situación de extrema vulnerabilidad. En el caso del arsénico, se calcula que entre 2 y 5 millones de los 10 millones de pozos y manantiales (la mayoría entre 20 y 100 metros de profundidad) con que cuenta el país, están envenenados. Desde que se fundó el país hacia 1972, diversas agencias de ayuda internacional, con Unicef a la cabeza, abrieron abundantes pozos artesanos con la buena intención de evitar las infecciones provocadas por el consumo de aguas estancadas, para reducir la elevada mortalidad, sobre todo la infantil, causado por la disentería o el cólera, pero el arsénico de las rocas y de los sedimentos pasó al agua, que llegó a tener una concentración enorme, poniendo a entre 35 y 77 millones de personas del sur y este; al menos el 20% de los habitantes del país, a lo que ha sido el mayor envenenamiento masivo de la historia. En 1993 (los efectos del arsénico tardan entre 8 y 14 años en hacerse visibles), se empezaron a presentarse enfermos intoxicados por el arsénico y se detectó una altísima concentración de ese metal en el agua. La gente de las aldeas presentaron manchas negras en la piel, endurecimiento de las palmas y plantas, que los campesinos confundieron con lepra Pronto, y los científicos lo atribuyeron al arsénico del agua potable de Bangladesh que llegó a tener hasta 2 miligramos por litro, 200 veces más de lo que admite la OMS; se dispararon los casos de conjuntivitis, bronquitis, diabetes y comenzaron a desarrollarse tumores y gangrena. En 1993, se produjo una epidemia de cáncer, que se atri-

buyó al arsénico. Ohtsuka y cols. (2004), con el método «compact spot-check « aplicado a 121 adultos de un pueblo de Bangladesh, en el cual habían encontrado arsenicismo más grave en varones que en mujeres, que las actividades de granja y de comercio eran ejercidas casi exclusivamente por varones, probablemente por las normas musulmanas para la mujer, que debe permanecer sedentariamente en las casas o en su proximidad, atribuyendo al mayor despliegue de energía y a mayor exposición al sol de sus más graves manifestaciones cutáneas. Lu y cols. (2004), no encontraron diferencias en 54 varones y 11 mujeres de áreas endemicas de la enfermedad de los pies negros, respecto a 130 personas de áreas no endémicas, pareadas por edad sexo, en cuanto a infecciones con virus de las hepatitis, función hepática, histología, TAC y pervivencia. McCarty y cols. (2004), analizaron el agua de 245 pozos de la región bangladeshí de Pabna, por el método 200.8 de la EPA, encontrando que el agua contenía desde menps de 1 a 747 µg/L, teniendo todas más de 1 µg/L de antimonio, el cual no alteraba los resultados de la concentración de arsénico, como algunos habían sugerido. Fytianos y col. (2004), analizaron el agua de bebida de 52 áreas de la Prefectura de Salónica, encontrando que el 13,5% de las muestras contenía más del inminente límite EC para el agua de bebida de 10 ppb. La mayoría, contenia muchos iones cloruro, que indicaba intrusión de agua del mar en los acuíferos. En dos áreas, los nitratos eran varias veces superiores a lo admitido.

En 1998, el Banco Mundial calificó la situación como «el mayor envenenamiento de población de la historia». En el 2000, había unos 8.000 casos confirmados y en 2002 se estimaba en unos 20 millones los afectados. La ONG Bangladesh International Action Network (BIAN), con base en Inglaterra, estimó que al arsénico era la causa de la décima parte de los fallecimientos de Bangladesh y, la ONU calculó que este metaloide había matado a 20.000 bangladeshíes cada año y que 70 millones viven bajo esa amenaza.

Los altos niveles del arsénico en el agua, se debían a la riqueza en arsénico de las formaciones geológicas de Bangladesh, sin parangón en otras partes del mundo. No obstante, otros expertos sostienen que el riego intensivo de los campos de cultivo y la utilización abusiva de fertilizantes, ricos en fosfatos, han contribuido decisivamente al problema. Un biólogo español, que trabajó en la vigilancia periférica del desastre de Aznalcóllar, que prefiere guardar el anonimato, explica que «en tierras planas como las de Bangladesh y en terreno arenoso como puede ser el del delta del Ganges, los metales se filtran con gran facilidad en los cauces subterráneos y, subraya: «La aparición de arsénico es cada vez más frecuente y, por tanto, motivo de preocupación. Es además complejo de analizar, y su determinación, mucho más difícil que la de otros metales».

En agosto de 1998, el Banco Mundial anunció un programa a tres años para sustituirlos, en el que invirtió 32,4 millones de dólares. Se iban a limpiar 4.000 pueblos, de un total de 68.000. Pero más de tres años después, las buenas intenciones se han estancando en disputas burocráticas y no se ha llegado al millar de pueblos analizados. Esta emergencia sanitaria no sólo cuesta muertos.

El asesino silencioso que es el arsénico y sus secuelas de úlceras, también está detrás de las mujeres que no encuentran marido, de los parientes que son abandonados y de los niños que no son enviados a la escuela para intentar ocultar el problema.

CAMBOYA. El agua de los pozos intubados de la cuenca del Mekong, en la provincia de Kratie contiene entre menos de1 a 886 microg L^{-1}, de los que el 44.8% excedía los10 microg L^{-1} valor guía de la OMS, que como consecuencia, determinaba elevadas concentraciones de arsénico en el pelo y en la orina, lógicamente relacionados entre si y, aumentados en orina los niveles de la 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG).

INDIA. Sur de Calcuta.

SUDÁN. Penneau y cols. (1980), examinaron a 278 habitantes que acudieron voluntariamente a reconocerse, de los 340 pertenecientes a 50 familias, que comprendían al cabeza de familia, al o a los hermanos de éste, a dos o tres esposas y a cuatro o cinco niños, personas de una zona de sabana, del Sahel intertropical de clima sudanés, en la que aparte de los nómadas, viven en casas de adobe, con techo de paja, en pequeños núcleos, con huertos regados con agua de pozos someros, separados por muros de tierra o por empalizadas de millo o de maiz. Se alimentan de granos pelados de sorgo y de maiz cocidos, de salsas de hojas de baobab, de araquidos y de algo de carne y de leche y, consumen por persona, entre 5 a 25 litros de agua al día, según la distancia a los pozos. De ellos, 169 tenían arsenicismo crónico, con hiperqueratosis y cuernos arsenicales palmoplantares y en el dorso de las manos, en pies y cara, descamaciones, que afectaban por igual a ambos sexos y edades, excepto en los menores de 20 años probablemente por la menor duración de la exposición.

ESPAÑA. En 1998, se encontró en el acuífero de una empresa de alimentación, situada al noroeste de Madrid, arsénico y, aunque ese agua no se utilizaba en la fábrica, la Dirección General de Salud Pública de la Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid, analizó el agua de 353 pozos de la provincia de Madrid, encontrando en 16, niveles de arsénico superiores a los 50 µg/L, informando a los consumidores que no debían utilizar ese agua para bebida ni para confeccionar alimentos. El agua de algunos pozos que aportan agua al Canal de Isabel II, tambien contienen arsénico.

MAR

Los vertidos terrestres o hídricos con arsénico, pueden contaminar al mar y a los animales marinos. El 15 de enero de 1977, chocaron cerca del puerto de Kobe, frente a las costas occidentales japonesas del Pacífico, el carguero panameño de 15.500 toneladas «Nagan Mercury», con el chino «Chang Tu», de 8.400 toneladas, del que según la Agencia de Seguridad Marítima, debieron caer 10 de las 5.000 bombonas, con 55 kg de arsénico cada una, cantidad en teoría

suficiente, para matar a ocho millones de personas, sin que se observara mortalidad en peces.

AIRE

El arsénico puede estar en el aire como partícula o como vapor, procedentes de volcanes, y antropogénicamente, acelerando el paso de grandes cantidades de arsénico al ambiente por la combustión del carbón, que normalmente contiene además de azufre, mercurio y selenio, trazas de arsénico. La utilización de maderas como combustible en hogares, ha causado intoxicaciones, si se habían tratado con conservantes arsenicales (que pueden tener además cromo).

Los ocho miembros de una familia rural de Wisconsin, sufrían sólo en los inviernos, unos cuadros neurológicos. Todos tuvieron tasas altas de arsénico en el pelo y uñas, que en los padres alcanzó las 12 a 87. Las cinco habitaciónes de la vivienda, se calentaban con una estufa que quemaba madera tratada con conservantes. En las cenizas, había mucho arsénico, asi como cobre y cromo y, la tierra que rodeaba a la casa, tenía grandes concentraciones de esos metales (Peters y cols. 1984).

Las termoeléctricas, son importantes contaminantes: por ej. la de La Coruña, de 1.400 MW, dotada de precipitadores electrostáticos, elimina en la fase gaseosa el 24%, de la emisión total de arsénico, el 90% de la del selenio y más del 99,8% de la del mercurio (Otero-Rey y cols., 2003). El arsénico, es mayoritariamente emitido por las metalúrgicas productoras de cobre, pero también durante la producción de plomo y zinc.

Parte de los vapores de arsénico, que vehiculan los humos, pasan al estado sólido al sublimarse y otra, lo hace al reaccionar con los componentes cálcicos de las cenizas volantes. Sterling y col. (2003), observaron que los vapores del óxido cálcico, y los de los silicatos mono y dicálcico, entre los 600 y los 1.000º C, reaccionan con los vapores de las especies de arsénico en el aire y en nitrógeno, formando arseniato cálcico As(V), insoluble en agua, y por ello menos peligroso que el trivalente. La máxima captura del arsénico tiene lugar a 1.000º C, siendo el óxido cálcico el más efectivo de los tres sólidos, en las temperaturas estudiadas. El arsénico del aire como polvo, cae al suelo o al agua. El aire de las ciudades tiene desde unos pocos nanogramos a unos cientos de microgramos por m^3, en general, menos de 10 ng por m^3.

El polvo arsenical es muy fino, y se dispersa mucho al movilizarlo. El aire de las fundiciones, puede contener más de 350 contaminantes, entre ellos el arsénico y lo mismo encontraron Brown y cols. (1984), en una fundición cercana a su residencia y Pershagen (1985) en un estudio casos-control en Suecia.

Blot y cols. (1986), encontraron en la tierra cercana a una fundición de metales, altas concentraciones de arsénico inorgánico y de cadmio.

Según Milham y cols. 1974, Hartwell y cols. 1983, Baker y cols. 1977, Greaves y cols. en una fundición de USA, el depósito de contaminantes metálicos se produce primariamente a unos pocos kilómetros de la fundición, perjudicando a la vegetación. Los niveles de arsénico en orina y pelo de niños, que vivían cerca de la factoría estaban elevados, pero no en los que vivían a más de 5 km.

La fundición de cobre de Rönnskär (Suecia), empezó a funcionar hacia 1928, emitiendo entonces mucho arsénico, para después disminuir drásticamente. Las emisiones anuales fueron:

Período	*Arsénico*	*Cobre*	*Cadmio*	*Plomo*
1967-1976	115	485	297	12
1985	40	101	41	2,7
1990	4,2	52	18	1,3

En mucha menor medida que la metalurgia, los trabajos y usos del arsénico, liberan arsenicales al aire. Un aporte interesante, es el del humo del tabaco, cuyas plantas fueron tratadas con arsenicales. En 1950, un fumador medio de USA, inhalaba más de 100 μg diarios; en 1980 bajó a 9.

SUELO. TIERRA

El arsénico se encuentra en la corteza terrestre, a una concentración media de 5×10^{-4} en forma de arsina, arsenitos, arseniatos y óxidos. Es el 20 elemento más frecuente de la corteza terrestre, en la que como el cadmio y el plomo, está en pequeñas concentraciones, distribuidos ubicuamente en la corteza terrestre, con una concentración media de 2-5 ppm, casi 5 × 10-4%; su hallazgo en meteoritos, hace pensar que está en muchos planetas, habiéndose calculado que en el Universo por cada 107 átomos de silice hay 40 de arsénico.

Las formas biodisponibles, es decir las hidrosolubles del arsénico, extraibles con agua, además de ser más tóxicas, perjudican más la fertilidad del suelo que las formas extraibles con bicarbonato sódico. Ghosh y cols. (2004), encontraron en tierras contaminadas con arsénico del oeste de Bengala, que los indicadores de calidad de la tierra, como la respiración de la tierra, su carga microbiana, y la actividad del diacetato de fluoresceina y la de la dehidrogenasa estaban disminuidos.

La elevada actividad geotérmica del Parque Nacional de Yellowstone (USA), determina elevados niveles de arsénico en las aguas superficiales, en la vegetación acuática y en los sedimentos de la cuenca superior del río Madison. El

rumen y las heces del Cervus elaphus, residente en la zona, tienen concentraciones de arsénico superiores que los controles, porque los pastos herbáceos que consumen predominantemente contienen arsénico inorgánico; la presencia de dimetilarsonato en el rumen y en las heces, sugiere que el arsénico se metila en el organismo de este ciervo.

En la tierra, el arsénico inorgánico se puede unir a otros cuerpos en pequeñas cantidades. El destino del arsénico y sus especies están inextricablemente ligadas a la formación de sus derivados y a sus cinéticas.

El arsénico de la superficie de la tierra, puede proceder de los minerales extraidos y, aunque actualmente no se produce arsénico, los efluentes de las minas y las de las metalúrgicas productoras de cobre y menos las de plomo y zinc, siguen llevando grandes cantidades al medio. Otro origen del arsénico telúrico, es el adicionado a las plantas, como los arsenitos sódico y potásico, adicionados a partir de 1951 para favorecer el brote de la patata.

La ingesta de tierra es una vía de exposición de cierta importancia de muchos contaminantes no volátiles, especialmente para los niños. Una fracción de lo ingerido, puede quedar unido a partículas de tierra durante la digestión y, por tanto no es absorbible por el epitelio intestinal. Para estimar la fracción que se moviliza en el digestivo, se han ideado varios modelos *in vitro,* algunos de los cuales no tienen en cuenta a la bilis como agente digestor. En la bilis, influye el animal de procedencia, su presentación fresca, desecada o conservada. Oomen y cols. (2004), compararon la bioacesibilidad del benzo[alfa]pireno, del arsénico, del cadmio y del plomo, de cuatro suelos después de digerir con bilis de buey, de cerdo y de pollo. Sólo la de pollo, aumentó la bioaccesibilidad del plomo de 3 a 5,5 veces y 1,5 veces más para el cadmio.

Las excretas de pollos y de cerdos, usadas como fertilizantes y correctores aportan a menudo arsénico, que fue adicionado a los piensos, contribuyendo a la carga arsenical de la tierra y del agua. Rutherford y cols. (2003), extraen el arsénico y el cobre, el hierro y el zinc, aditivos también de esos piensos, con agua y con clorhídrico y nítrico. El 75% del arsénico de las excretas de pollerías es muy hidrosoluble. En los campos corregidos con excretas con arsénico, la fracción movilizable por agua está correlaciona con el contenido en C, P, Cu, y Zn, mientras que la que está fijada fuertemente, se correlaciona positivamente con el hierro con el que coprecipita.

En Australia hay muchas zonas cuya tierra tiene elevadas concentraciones de arsénico, algunas por minas de oro. Hinwood y cols. (2004), en personas que vivían en áreas con minas de oro, en las que la tierra tenía entre 9 y 9.900 mg kg^{-1}, y las de población control que vivía en zonas en las que la tierra sólo tenía 1 a 80 mg kg^{-1}, encontraron que había una débil, pero significativa relación, entre la concentración del arsénico en la tierra y la del arsénico inorgánico urinario, con un coeficiente de Spearman de 0,39, que aumentó a 0,69 entre los que vivían en tierras con más de 100 mg kg^{-1} de arsénico. La concentración

media geométrica del arsénico inorgánico urinario era de 1,64 microg L^{-1} y para los que vivían en tierras con poco arsénico, 1,18.

Las tierras de Bangladesh, que fueron regadas durante muchos años con agua con arsénico, llegó a contener 10 μg por gramo (Meharg y cols., 2003).

Hamon y cols. (2004) desarrollaron un método para estudiar la movilidad y la especiación del arsénico en los sistemas suelo-agua, contaminados con arsénico soluble, en Eaglehawk y en Tavistock, cuyas condiciones redox y microbiológicas eran conocidas y en los que una alta proporción del arsénico estaba en forma no lábil. La incubación anaerobia de los suelos, modifica la concentración del arsénico soluble, pero no la especiación ni la proporción de las formas lábiles respecto al arsénico total.

La disminución del arsénico soluble en el suelo de Eaglehawk, se debió a la disminución del pH inducido por el Eh aumentando la absorción de la fase sólida del As(V). El aumento del As soluble en el suelo de Tavistock, se debió al aumento del pH inducido por el Eh de As(V).

La incubación de los suelos em condiciones anaerobias, modifica la concentración del arsénico soluble de cada suelo, pero no la especiación ni la proporción de las formas lábiles respecto al arsénico total. La disminución del arsénico soluble en el suelo de Eaglehawk, se debió a la disminución del pH inducido por el Eh, aumentando la absorción de la fase sólida del As(V).

Un aumento del As soluble en el suelo de Tavistock, se debió al aumento del pH inducido por el Eh. La incubación de los suelos en condiciones aeróbicas con actividad microbiológica, estimulada por la adición de glucosa no cambia ni la concentración de la solución ni la especiación del arsénico en el suelo de Eaglehawk, pero aumentó mucho la del arsénico soluble en el de Tavistock. Este aumento, es debido a la conversión de formas intercambiables de As(V) a especies meno absorbibles de As(III).

La incubación bajo condiciones anaeróbicas, en presencia de glucosa, aumenta mucho la concentración de arsénico soluble en ambos suelos, aunque se debe a diferentes mecanismo; en el de Eaglehawk la elevada concentración de arsénico se debió a la conversión de las formas intercambiables de As(V) a la menos intensamente absorbible especies de As(III). En cambio, el aumento en el suelo de Tavistock del arsénico disuelto, se debe a la liberación de As(V) de los grandes reservorios de arsénico no lábil.

El Chromobacterium violaceum, es una bacteria Gram-negativa que se encuentra en una gran variedad de ecosistemas tropicales y subtropicales. Se dispone de la completa secuencia del genoma del C. violaceum ATCC 12472 y es utilizable para varias aplicaciones, como la de detoxificar el medio, ademas de para usos médicos y agrícolas. Carepo y cols. (2004) examinaron el potencial descontaminador del C. violaceum. Estudiaron a tres operones, comprendiendo el ars que interviene en la resistencia al arsénico, el cyn en la detoxificación de cianatos y el hcn operon, que codifica la cianasa, responsable de la producción

biógena de cyanide, así como un open reading frame, codificador de una ácido dehalogenasa.

La ingesta de tierra, es una vía de exposición de cierta importancia de muchos contaminantes no volátiles, especialmente para los niños. Una fracción de lo ingerido puede quedar unido a partículas de tierra durante la digestión y por tanto no es absorbible por el epitelio intestinal.

CATÁSTROFE DE MANFREDONIA. El 26 de septiembre, domingo, a las 9,50 se rompió la parte superior de la columna de lavado de amoníaco de la petroquímica Anic (dependiente del «Ente Nacional de Hidrocarburos "ENI"» (semejante a Campsa), emplazada en un área de unos 15 km^2, cerca de Manfredonia, en Foggia al sudeste de Italia. El ANIC de Manfredonia constaba de 17 áreas aisladas, una a cargo de la empresa Dauma, más una central termoeléctrica, que producían al día unas 1.200 tm de amoníaco anhidro líquido a partir de metano. Con el amoníaco y el dióxido de carbono fabricaban 2.000 tm diarias de urea para su uso como fertilizante. Además fabricaba casi 240 tm diarias de caprolattame, sustancia prima para fabricar nylon y poliamidas. La fábrica tenía una instalación para tratar el agua. El anhídrido carbónico se absorbía en una columna que contenía una solución de 270 310 g/L de carbonato potásico y 135-160 g/L de anhídrido arsenioso como catalizador.

En el área vivían unos 100 pequeños agricultores; en las fábricas trabajan durante el día más de 1.000 personas.

Sólo se hizo pública la situacion a las 24 horas, empezándose a adoptar medidas de restricción de la comercialización y el consumo de productos de la zona cercana a la fábrica. El 28 de septiembre se celebró una reunión en el Ayuntamiento de Manfredonia, del Comité Técnico Sanitario, constituido por profesores de la Universidad de Bari, médicos de la Inspección del trabajo de Foggia, de Sindicatos y de Oficiales Sanitarios de Manfredonia y del Monte de Sant Angelo, que decidió: a) Suspender toda actividad industrial en la zona afectada. b) Delimitar el área presumiblemente contaminada. c) Evitar el acceso en la franja de terreno en el que se hayan señalado la muerte de animales (se habían producido en muchas aves de corral y algunas reses intoxicadas debieron ser sacrificadas). d) Consultar al Instituto Superior de Sanidad para establecer la sustancia y el modo de descontaminar. e) Instituir un Centro de Consulta Médica cerca del Hospital de Manfredonia para el control sanitario de los posibles afectados. f) Proteger a los operarios dedicados a la descontaminación con trajes adecuados. g) Determinar en los 1.650 expuestos de la zona la arseniuiria en 24 horas, índice indirecto pero suficiente para hacer una primera evaluación de la entidad de la contaminación, y la de la bilirrubina y la Ornitin-Carbamil Transferasa, por si la arsénico hubiera causado lesión hepática.

El 29 por la noche las autoridades regionales decidieron trasladar a los 100 agricultores a lugares cercanos, donde permanecieron hasta que se descontaminó a la zona y se cerraron la «ANIC y la Daúna». La tierrra se trató con lejía

cálcica y sulfato de hierro para transformar el arsenio soluble en arseniato pentavalente insoluble (arseniato de hierro y calcio), y en la parte norte de Manfredonia se lavó con hipoclorito sódico. En la zona A se decorticó la tierra casi 30 cm.

Los encargados de la descontaminación trabajaron sólo 4 horas al día y llevaban trajes de goma, mascarillas, guantes, y al final del trabajo se descontaminaban.

El Instituto de Medicina del Trabajo estableció una arseniuria máxima de 100 mcg/L para el personal de la empresa y para los dedicados a la descontaminación, que luego se elevó a 800 y posteriormente se fijó en 300; los que superaban esas cifras debían repetir el análisis a los 4 a 5 días. Los que tenían arseniuria superior a los 3.000 4.000 mcg/L eran transferidos al Hospital de Manfredonia, en el que fueron observados, así como a los que presentaron síntomas.

En muchos tipos de minas se requiere agua para tratar el material, agua y sus fangos, que son peligrosos y que suelen llevarse a balsas que los retienen, en donde las filtraciones llevan contaminantes al agua telúrica y que constituyen un peligro potencial.

En la mina «Gyant» de Yellowknife (Canadá), donde se obtiene oro de la arsenopirita, el enorme depósito tóxico amenaza con tener que cerrar la mina. Las filtraciones al subsuelo habían originado en 2004, el depósito de unas 237.000 toneladas de trióxido de arsénico. Clark y cols.(2004), estudiaron con isótopos que la recirculación del agua que se filtra y pasa por grietas aporta el 60% del agua utilizada en las minas.

El 25 de abril de 1998, reventó la balsa de residuos de la mina de Boliden, situada en Aznalcóllar, cercana a Sanlúcar la Mayor, que contenía ganga de pirita con ácidos, de la que salieron entre 5 y 6 millones de m^3 de agua ácida y lodos sobre más de 5.000 hectareas en el entorno del Parque Nacional de Doñana. Los cienos estaban muy contaminados con metales pesados y con arsénicos.

La zona de Doñana más afectada fue la llamada Entremuros, de cuyo suelo se tomaron muestras entre 6 y 18 meses del desastre. Taggart y cols. (2005), encontraron disminución del arsénico del suelo a medida que se iba hacia el sur y que los resultados a los 18 meses eran algo menores que a los 6, unido a un significativo aumento del arsénico extraible. No se acumuló arsénico en las partes aéreas de los macrofitos (Typha dominguensis y Scirpus maritimus), pero sí en la placa de hierro de las raíces, proceso que podría infljuir en la salud de las aves.

Aguirre de cáncer Madrid

Fue el más grave desastre ambiental ocurrido en España. La intervención urgente para contener la extensión del daño evitó males mayores ante la catás-

trofe, de forma que rápidamente pudo comenzarse la recuperación de la cuenca. En los primeros meses de 1999, se culminó la retirada de la mayoría de los lodos con maquinaria pesada y se pusieron en marcha los primeros planes para la recuperacion ambiental de la zona.

EFECTOS DEL ARSÉNICO AMBIENTAL SOBRE EL HOMBRE

El arsénico como el plomo carece de cualquier papel fisiológico y lo más positivo que podemos señalar, es que tiene cierto papel protector frente a la intoxicación por el selenio. Las tormentas de polvo y las aguas de escorrentía, transportan a los arsenicales de un sitio a otro, pues incluso los insolubles son compuestos movilizables, lo que aunque dificulta su concentración, facilita la contaminación universal por el metaloide. Por ello, son poco frecuentes los grandes depósitos. El arsénico como polvo, puede pasar al aire (la única especie volátil es la arsina) y al agua y de estos medios vuelve a la tierra, arrastrado por el viento y sobre todo por la lluvia.

Las actividades humanas, especialmente la minería, la metalugia del plomo, del zinc y sobre todo la del cobre y la agricultura, liberan y movilizan grandes cantidades de arsénico al aire, a la tierra y al agua, en los que sin ser destruidos, pueden forma diferentes compuestos. En el ambiente el arsénico no puede ser destruido, sólo cambiar de posición, esparciéndose y por ello diluyéndose o concentrándose en depósitos, en sedimentos, que posteriormente pasan a minerales. En el medio, forman diversos compuestos transformables entre sí, a menudo favorecido por la acción de enzimas procedentes de organismos vivos, que asimilan así arsénico. Estos seres, pueden ser utilizados como alimentos, desde los que el arsénico puede pasar a los seres vivos, y entrar en la cadena trófica. Los alimentos desarrollados en contacto con el arsénico (antes los tratados con plaguicidas arsenicales) o el empleo con bebida de agua con arsénico, son las fuentes ambientales que llegan al hombre, el cual no se puede por esa razón sustraerse a su efecto.

En la evolución, los organismos vivos, fueron aprovechando los materiales de su ambiente y los que en un momento dado fueron tóxicos, son o llegarán a ser esenciales. Como al arsénico es ubicuo, es lógico que se encuentre en las vísceras; no se deben señalar niveles «normales» y mucho menos «fisiológicos», sino a lo sumo los que se encuentran en las condiciones de vida habituales en la zona, con objeto de deducir efectos sobre la salud y para evitar atribuir determinadas lesiones o patologías a una intoxicación criminal. Los famosos procesos de las envenenadoras «madames» Lafargue y Lacoste estimularon a estudiar el nivel que podría ser considerado «normal» de arsénico en las vísceras. Es difícil evidenciar los niveles de exposición, dada la diferente toxicidad de los arsenicales tri y pentavalentes, sus diferentes formas físicas, el tipo de dieta, la puerta de entrada, la coexistencia de otros xenobióticos y la variabilidad interpersonal de sus mecanis-

mos de actuación, por lo que no hay una clara correlación entre los niveles ambientales y los tisulares y los de estos con determinados efectos. No hay un órgano crítico para todos los arsenicales. En los productos biológicos, sólo la determinación del arsénico total tiene suficiente validez. La arsenicoemia es una técnica difícil, que varía según la forma del arsénico. La activación neutrónica es aceptable, aunque la dispersión de los resultados vaya de 0,004 a 0,920 μg/L en sangre, con media geométrica de 0,036 μg/L para las personas expuestas ligeramente. La arseniuria, teniendo en cuenta la importancia de la excreción renal, es tecnológicamente la más válida, aunque haya que tener en cuenta los hábitos alimentarios, el tabaquismo y la dificultad de distinguir entre la exposición a los derivados orgánicos, de la de los inorgánicos. Los valores en el adulto normal para Webster, son 0,014 mg/L; en los expuestos profesionalmente es 0,54 a 18 mg/L. En niños que vivían cerca de una fundición, la media fue de 0,3 mg/L.

La medida del arsénico en cabellos y uñas, una vez descontaminado su exterior por el posible arsénico ambiental, la arsenemia y la arseniuria son indicadores válidos de exposición.

EL ARSÉNICO EN EL ORGANISMO

Absorción

a) Por la vía respiratoria pueden entrar vapores, gases, humos y polvo de arsenicales; es la más importante en la exposición laboral en relación con su solubilidad y de la dimensión de las partículas. El ácido cacodílico se absorbe bien por vía inhalatoria. Cuando de trataba a la Nicotiana tabacum con arsenicales (en 1950 cada kg de hoja contenía 40 mg de arsenicales), de los que el 10 al 20% eran volátiles, el humo del tabaco contenía del 5 al 8% de arsénico, absorbible por los pulmones. También ingresa por vía respiratoria el arsénico usado para «cortar» la cocaína.

b) A través de la piel. Importante también en trabajos relacionados con el arsénico en los que la piel se contamina con el polvo arsenical, o al pisar con los pies desnudos el suelo o el agua contaminados. Muy interesante, fue el arsenicoismo padecido por los improvisados mineros que en la Galicia noroccidental recogían con sus manos mineral de tungsteno que contenía arsénico y en cuyos montones se recostaban.

c) La más importante puerta de entrada es la digestiva, por medicamentos, alimentos y agua contaminados, sobre todo en las intoxicaciones suicidas y criminales, y en el medio industrial, por las manos manchadas al comer o fumar. El arsénico total diario ingerido por los humanos, del medio no industrial, no suele superar los 0,3 mg/día. Los vegetales toman arsénico del suelo y del agua de riego, así como de los

aditivos añadidos. La leche, contiene arsénico procedente del agua, que beben los mamíferos lecheros, que también lo reciben de la hierba.

El arsénico metaloide y los arsenicales tri y pentavalentes se absorben bien en el tracto gastrointestinal, según sus características físicas y químicas. La absorción digestiva de los derivados trivalentes y pentavalentes, depende de sus características químicas y físicas (el licor de Fowler se absorbe en un 90%.), siendo fundamental su solubilidad en el agua. Los arsenitos, son más hidrosolubles que el óxido y por eso se absorben mejor; el muy tóxico As_2O_3 se absorbe poco; si está en grumos es menos tóxico, pues se puede eliminar con las heces antes de haberse disuelto. Los arsenicales orgánicos se absorben total o casi totalmente por vía digestiva; en cambio los sulfuros insolubles no se absorben. La grasa alimentaria aumenta la solubilidad y la absorción, aunque se dice que la leche y la caseína la enlentecen.

Las partículas de arsénico son captadas por los leucocitos. El sistema retículo endotelial, que actúa como barrera protectora, si se desborda por dosis altas o por insuficiencia de estas, el arsénico se concentra en los hematíes y se distribuye por el organismo especialmente en el hígado, riñón, pulmones, bazo y piel, produciendo la intoxicación multiorgánica.

La inyección subcutánea de arsenito potásico al hombre o animales, salvo en la rata, se traduce por un una pequeña arsenemia sin que se detecte su acumulo en tejidos en desarrollo.

Excreción

La vida biológica del arsénico, varía entre diez horas a unos días. El 70% del arsénico orgánico de los alimentos marinos, ingerido, se elimina en 24 horas, sin haberse convertido en arsénico inorgánico ni en ácido dimetilarsénico. Los ácidos cacodílico y arsénico, son relativamente estables y en vivo no se convierten en arsénico inorgánico, siendo excretado casi completamente en la rata al cabo de unos días por vía renal. La inyección venosa en el hombre de 10 mg de As_2O_3, determina una excreción por orina del 3,2 a 6,5 mg, lo que indica que hay otras vías de excreción, especialmente la biliar (Wang y cols., 2004).

Una pequeña fracción, se elimina al cabo de unas horas de la absorción por el hígado, pasando a bilis y de estas a las heces; también se elimina por el sudor, por la leche, así como por el epitelio y faneras, ricas en grupos sulfhidrilo.

El arsénico se acumula en las faneras. La medida de arsénico en uñas es un importante biomarcador de la exposición al arsénico (y al selenio), lo que permite utilizarlas con fines toxicológicos, teniendo en cuenta que tanto el pelo como las uñas, absorben arsénico de los medios con los que contactan. Raab y cols. (2005), vieron que la capacidad absorbente del pelo para el arsénico inorgánico es mayor que para los arsenicales mono o dimetilados, y las especies

trivalentes mayor que las pentavalentes. Los arsenicales inorgánicos y los metilados pentavalentes del pelo son muy estables, resistiendo la extracción, mientras que los arsenicales metilados trivalentes y el tio-análogo del DMA(V) (DMAS) son poco estables. Sea cual fuere el arsénico metilado absorbido, la forma pentavalente era siempre la dominante después de la extracción. El pelo y las uñas de personas intoxicadas crónicamente, contienen predominantemente arsénico inorgánico con pequeñas y muy variables cantidades de DMA(V) y de MA(V). La DMAS sólo se encontró en algunas uñas que contenían inusualmente grandes cantidades de DMA(V), que se piensa se produjeron durante el proceso de extracción. Una ínfima cantidad se exhala al aire como trimetilarsina. El arsénico, se elimina básicamente por el riñón. La arseniuria, se debe expresar por g de creatinina o en orina en 24 horas. En el hombre, los principales metabolitos urinarios de los arsenicales inorgánicos tri y pentavalentes son los ácidos monometilarsónico (MMA(V)) y el dimetilarsínico (DMA(V).

La excreción es lenta; la excreción urinaria media de arsénico es de tres a cinco días, más corta que para cualquier otro metal tóxico; una cantidad única de arsénico elevada sólo se elimina al cabo de diez días, pero puede transcurrir un año. Los arsenicales orgánicos normalmente se excretan más rápidamente que las formas orgánicas, por lo que las dosis tóxicas de los arsenicales orgánicos es mucho mayor que las de los compuestos minerales solubles.

Mezza y cols. (2004), siguieron la excreción urinaria de arsénico en los adultos de cuatro ciudades del Valle Yaqui en Sonora, México, desde julio de 2001 a mayo de 2002, cuyas aguas de abastecimiento tenían diferentes concentraciones de arsénico. En Esperanza, cuya agua tenía la mayor concentración de arsénico, los adultos ingerían, agua con una media de 65,5 microg/L). Había correlación positiva entre la ingesta total de arsénico por el agua y su concentración en la primera micción matutina de orina, determinada por HPLC/ICP-MS ($r = 0,50$, $P < 0.001$), siendo su media geométrica la más alta, de 65,1 microg/L, con diferencia significativa con la de las otras tres ciudades ($P < 0.005$). El arsénico más frecuente en orina fue la especie DMA (47,7-67,1%), seguido del arsénico inorgánico (16, 4-25, 4%), y luego por el MMA (7,5-15%). Otros estudios, daban para el dimetilarsénico (DMA), entre 47, 7-55, 6% y para el monometilarsénico (MMA) 7,5-9,7% (excepto en la ciudad de Cocorita). La distinta proporción de los metabolitos arsenicales, debe ser atribuida a polimorfismos genéticos de los enzimas metiladores en esas poblaciones.

La excreción renal del arsénico, protege a este órgano de la nefrotoxicidad del arsenito sódico; cuando está alterada esa excreción se lesiona el riñón. La inyección subcutánea de 13,5 mg/kg de arsenito sódico, a seis ratones BALB/c, aumenta mucho más el nitrógeno ureico y la creatinina, que en los C57BL/6; a las 24 horas habían muerto tres BALB/c y ninguno de los C57BL/6. A partir de las 10 horas, los riñones de los BALB/c, tenían grandes hemorragias, necrosis tubular aguda, infiltración de neutrófilos, formación de cilindros y desaparición del borde en cepillo PAS-positivo, alteraciones muy reducidas en los C57BL/6,

acompañado por menores concentraciones de arsénico en los riñones que en los BALB/c (Kimura y cols., 2005). En ambas cepas de ratones BALB/c, el arsenito induce en similar grado la expresión de la proteína AIRAP, asociada al ARN, rica en cisterna y en histidina, la MDR-1 intrarenal, la metalotioneina-1, pero sólo en los ratones C57BL/6 y no en los BALB/c. La proteína MRP-1 está asociada a resistencia en múltiples drogas intrarenales. Por otra parte, la administración de un inhibidor específico del MRP-1, el MK-571, exagera significativamente la lesión renal aguda en los ratones C57BL/6. Es decir, que el MRP-1 es crucial en el flujo renal del arsénico y podría prevenir la lesión renal causada por la exposición aguda al arsenito.

En cuanto a los arsenicales orgánicos, se eliminan casi totalmente a las 48 horas de su absorción sin que se produzca acumulo del metaloide.

El arsénico se elimina también por vía biliar. El As-$(GSH)_3$ se elimina por bilis; al menos en la rata es el metabolito principal de los As(III) inorgánicos. La suplementación de la dieta con selenio promociona la excreción intestinal del arsenito. La administración simultánea a conejos blancos de Nueva Zelanda de arsenito y de selenito, aumenta la excreción del selenio-bis (S-glutationil) arsinio, $[(GS)(2)AsSe]^-$, formado rápidamente en los hematíes (Manley y cols. 2006). Este aparente mecanismo de destoxificación, se ha extendido a dosis ambientales relevantes (Gailer y cols. 2004).

Transporte

El arsénico absorbido, se deposita en todos los tejidos, especialmente en el hueso, hígado, riñón, pulmón, bazo, piel y cabello. El análisis de secciones del pelo, permite reconstruir la historia de la exposición del sujeto, incluso varios años después de la intoxicación. Se degrada en el hígado y los subproductos son eliminados por la orina.

El lapso entre el comienzo de la exposición, y el momento en el que la concentración del arsénico en sangre y en órganos es mayor, es muy variable, así como el momento de aparición de los efectos subagudos o crónicos.

Estando el arsénico diseminado en nuestro ambiente, es lógico que exista en pequeñas concentraciones en nuestro organismo en relación a la duración de la administración y al arsénico.

El arsénico se concentra en los hematíes y luego se distribuye por el organismo, especialmente por el corazón, el hígado, riñón, pulmones, bazo y piel, encontrándose cantidades menores en el músculo y tejido nervioso. Así, se considera normal una arsenemia de 0,0005 mg/L y de 0,01 a 0,10 mg en la orina en 24 horas. En 1906, una Comisión inglesa determinó que el arsénico ingerido tardaba varias semanas en llegar a la raíz de los cabellos y diez meses para llegar a sus extremos, tiempo que depende de la longitud de estos cabellos. En el pelo

y en las uñas el arsénico se concentra debido a la riqueza de sulfhidrilos de la queratina. En el pelo, ya se detecta a las dos semanas de haberse iniciado la exposición, en donde permanece posmorten durante años. Se considera «habitual» una concentración de arsénico en el pelo de 0,5 a 5 mg/kg y, en las uñas de 4 a 10 mg/kg. La concentración del arsénico en las uñas está relacionado con la arseniuria y con los niveles ambientales. Wilhelm y cols. (2005) estudiaron en 1999 y 2000 a 524 personas de 20 a 80 años (media 66), que vivían cerca de una fundición. Analizan las uñas después de lavadas y digeridas en un microondas, por espectrometría de absorción atómica y, encontraron que la concentración geométrica media fue 0,10 µg/g (< 0,01 a 2,94), con clara asociación con la distancia de su casa a la fundición, teniendo los que vivían a menos de 5 km una media geométrica de 0,17 µg/g, en los que vivían entre 6 y 10 km, 0,10 µg/g y en los más alejados 0,08 µg/g. La arseniuria total analizada al menos tres días sin comer pescado, determinada por espectrometría de absorción atómica, estaba también asociada con la distancia a la planta, pero el valor de P era de sólo 0,018, estando relacionados los niveles de arsénico en orina y en las uñas en 207 casos estudiados, con r = 0,23 (P < 0.001) y, con el arsénico en el polvo doméstico (n = 209, r = 0,30, P < 0.001). Las asociaciones entre el arsénico urinario y el del suelo en 159 personas, tenía un r de 0,13 con P < 0.105 y con el polvo de la casa r = 0,14 (P < 0.081). Estos resultados validan al arsénico urinario como marcador de la exposición ambiental. También dado su parentesco químico con el fósforo, el arsénico se puede fijar en hueso y dientes.

Concentraciones de arsénico en Escocia y Japón, en diversos tejidos humanos (Kadowaki 1960, Liebscher y Smith 1968), se dan en la siguiente Tabla:

Tejido u órgano	*Concentración en µg por kilo de peso seco*	*Concentración en µg por kilo de peso fresco*
Suprarrenales	30	
Aorta	40	
Sangre	40	
Hueso	50	120 fémur 70 costillas
Cerebro	10-30	
Cabello	460	180
Intestino delgado		20
Intestino grueso		30
Riñón	30-40	
Pulmón	80	50
Músculo	60	30
Uña	280-890	

Tejido u órgano	*Concentración en μg por kilo de peso seco*	*Concentración en μg por kilo de peso fresco*
Ovario	50	
Pancreas	40	20
Próstata	40	
Piel	80	60
Bazo	20	
Estómago	20	
Diente	50	
Timo	20	
Tiroides	40	
Útero	40	

Los arsenicales incluyendo el cacodílico, atraviesan la barrera placentaria rápidamente y se han señalados, lesiones en el feto; las concentraciones de arsénico en la sangre cordonal son equivalentes a las de la sangre materna.

Metabolismo

El arsénico es biotransformado, tanto en animales de laboratorio como en los seres humanos.

El arsénico se une a las proteínas y a los compuestos con grupo sulfhidrilo (a los que se une también el mercurio). Un compuesto importante es el triglutation reducido $(GSH)_3$ con tioles libres, que forma no enzimáticamente, complejos arsénico-glutation As-$(GSH)_3$ cuando el GSH está una concentración de 2 mM o mayor.

El complejo arsénico-glutation, se une a las proteínas MPR asociadas con la multiresistencia, como las MRP1/ABCC1 y la MRP2 humanas, las cuales pueden transportar múltiples xenobióticos, entre ellos a los arsenitos, sin modificarlos, disminuyendo la citotoxicidad del trióxido de arsénico. En cambio, no se une a los arseniatos. Leslie y cols. (2004), confirmaron este mecanismo con membranas de vesículas de células H69AR, de cáncer de pulmón, que sobreexpresan MRP1 y que contienen GSH S-transferasa P1-1 (GSTP1-1), necesaria para transportar el As(III) y arsenicales sintéticos, formándose triglutation-ácido arsénico estable As(GS3). El K(m) aparente del As(GS3) fue 0,32 microM, lo que indica una relativamente alta afinidad. El transporte de As(GS3) por el MRP1, es sensible a la ósmosis y se inhibe por varios aniones orgánicos conjugados y por la antimonita, cuyo (K(i) es 2,8 microM. La adición de GSTP1-1

exógeno a vesículas HeLa-MRP1 carentes del enzima, hace posible el transporte de As(III) GSH-dependientes. La capacidad de transporte en un pH 6,5 a 7 es el doble de la que tiene lugar a un pH mayor, debido a la necesaria formación del As(GS3). Los análogos de GSH que tienen ocupados los grupos SH, que no reducen al L-gamma-glutamil-L-alfa-aminobutiril glicina o el S-metil GSH, no transportan a los arsenitos. En la destoxificación del arsénico juega un papel central el glutation. La depleción celular de glutation reducido con butionina sulfoximina (BSO), potencia la toxicidad del trióxido de arsénico As(III), lo que demuestra que el glutation protege a las células, como las del urotelio humano (Bredfeldt y cols. 2004). La butionina sulfoximina contrarresta la ligera resistencia cruzada al trióxido de arsénico, que el MRP proporciona a las células HL60/AD, que sobreexpresan la MRP1 y que por ello, resisten a la daunorrubicina y a la 1-beta-D-arabinofuranosilcitosina (Seo y cols. 2005).

La dimetilarsina y el arsénico trivalente dimetilado son metabolitos de los arsenicales inorgánicos (Kato y cols. 2003).

Hopenhayn y cols. (2003), en 29 gestantes que vivían en Antofagasta, cuya agua de bebida contenía 40 micro g/L de arsénico inorgánico, encontraron que el arsénico urinario total aumentaba con la duración del embarazo, desde un valor medio de 36,1 microg/L al comienzo del embarazo, para llegar a 54,3 microg/L al final del mismo, aumento que afectaba sobre todo al DMA, mientras que disminuía el arsénico inorgánico y el MMA, es decir que en el embarazo está modificado el patrón de metilación del arsénico, lo cual podría influir en el feto.

La primera lesión que el arsénico inorgánico induce en células V79-Cl3 del hamster chino en división, son las aneuploidias y anomalías nucleares, pero no por una predisposición de los cromosomas. En la exposición crónica al arsénico, el ADN se hipometila (Sciandrello y cols. 2004), lo que aumenta la inestabilidad del genoma, que se prolonga en el linaje de las células expuestas.

Jimi y cols. (2004), estudian células de túbulos renales de rata y otras tolerantes a metales cultivadas con 1-10 micro M de $CdCl_2$ o con 1-2,5 micro M de As_2O_3. Las células tolerantes al cadmio, fueron las Cd-T y a las del arsénico las As-T, y son las que sobreviven a concentraciones tóxicas de cada metal. Tanto el Cd como el As, inducen la toxicidad celular de modo dosis-dependiente, que se acompaña de fragmentación del ADN y disminución del potencial de membrana de las mitocondrias. El glutation intracelular (GSH), aumenta al hacerlo la concentración de Cd y de As. En las células Cd-T y As-T, los niveles de GSH fueron el doble del de las células normales, conservándose la proyección para el otro metal, pero si se adiciona butionina sulfoximina a cultivos tolerantes a metales, se restaura la apoptosis en las Cd-T y As-T. Es decir que primero, aunque el GSH aumenta en NRK52E al adicionar Cd y As puede continuar induciéndose la apoptosis mediada por mitocondrias, segundo, que la protección contra la citotoxicidad inducida por metales es idéntica en los cultivos de Cd-T y As-T, y tercero, aunque el GSH está más alto en las líneas de células tolerantes a metales, la depresión del GSH por butionina sulfoximina induce

apoptosis. Así, la apoptosis inducida por el Cd y por el As se hace por idéntico mecanismo, en el que interviene la oxidación reactiva intracelular del GSH.

El trióxido de arsénico (As_2O_3), a dosis de 1-2 microM, es efectivo para tratar la leucemia promielocítica. Zhou y cols. (2005), inducen apoptosis con esa concentración en las células del linfoma de Raji, pero no en las Jurkat, lo cual está relacionado negativamente con los niveles de glutation-S-transferasa pi (GSTP1), pero no con la expresión y actividad de las GSTpi(1) y con la GSTM(1). El ARNm del GSTP1 y los niveles del GSTP1 son altos en las células Jurkat, siendo indetectables en las Raji. La transfección estable del GSTP1 a células Raji, disminuye la apoptosis inducida por el As_2O_3. La apoptosis inducida por concentraciones terapéuticas del As_2O_3, en las células Raji, esta relacionada con el acumulo de peróxido de hidrógeno intracelular, pero no con la activación JNK. La expresión forzada de la GSTP1 por transfección de células Raji, disminuye significativamente la cantidad basal del peróxido basal y sus niveles, después de tratar con As_2O_3. El peróxido exógeno adicionado, desaparece más rápidamente, lo que está correlacionado con una mayor reducción del glutation en los clones de células Raji que expresan GSTP1, que en los clones que no expresan GSTP1. La sobreexpresión de GSTP1 en los clones de Raji transfectados, también disminuye la retención del As_2O_3. Es decir, el GSTP1 bloquea la apoptosis inducida por el As_2O_3 en células del linfoma, debido a la disminución del peróxido de hidrógeno por su catabolismo y por una menor producción al disminuir la retención intracelular de As_2O_3.

El ratón knockout para el gen de resistencia a múltiples drogas mdr1a/1b(-/-) mice, carece de las glicoproteínas-P, resultando más sensibles que el de tipo silvestre a la toxicidad aguda del arsénico.

Xoie y cols. (2004), expusieron a ratones mdr1a/1b(-/-) y WT a 0-80 ppm de arsénico de arsenicales en el agua de bebida durante 10 semanas. Todos los ratones sobrevivieron a esta exposición, pero los expuestos a concentraciones mayores crecieron menos en ambos tipos de ratones. El arsénico aumentó los niveles de LPO, la glutation S-transferasa (GST) hepática, mucho más en los mdr1a/1b(-/-), que en los WT disminuyó la Cu/Zn superoxido dismutasa en ambos tipos, alteró algo la expresión de los genes que codifican el ciclo celular, GST, la expresión de las proteínas de la fase aguda y enzimas metabólicos. La expresión de la ciclina D1, un potencial oncogen hepático estaba aumentado sólo en los ratones mdr1a/1b(-/-). Con la exposición a agua con 80 ppm el contenido arsenical del hígado fue mayor en los mdr1a/1b(-/-) que en los WT, lo que sugiere que el aumento del acumulo debido a déficit del transporte pueda influir parcialmente en el aumento del efecto tóxico en esos ratones. En resumen, la toxicidad crónica del arsénico, incluyendo la patología hepática y el estrés oxidativo, está aumentada en los ratones mdr1a/1b(-/-), posiblemente debido al mayor acumulo de arsénico motivado por deficiencia en su transporte.

El riñón es un blanco de la toxicidad del arsénico a la par que es importante en la biotransformación y eliminación del arsénico.

Peraza y cols. (2003) utilizan una línea inmortalizada de células epiteliales HK-2, procedentes del túbulo proximal humano, para estudiar el efecto de concentraciones subtóxicas de arsenito de 10 micromol/L o menores y de arseniato inferiores a 100 micromol/L. El efecto se determinó por la salida de LDH de las células expuestas 24 horas. Las concentraciones de arsenito entre 1 y 10 micromol/L y las de arseniato entre 10 y 25 micromol/L, afectan a la MTT procesada por mitocondria. La biotransformación de las concentraciones subtóxicas de arsenito o de arseniato se determinó usando HPLC-ICP-MS para detectar los metabolitos en el medio de cultivo y en los lisados de las células. Después de 24 horas, el análisis del medio reveló que el arsenito apenas se oxidaba a arseniato, mientras que éste se reducía a arsenito y en el lisado celular sólo había arsenito. No se encontraron ni en el medio ni en los lisados, arsenicales pentavalentes metilados, pese a haber estado expuestas las células a arsenicales inorgánicos.

Peraza y cols, encontraron que las MMAV reductasa y la AsIII metiltransferasa, estaban aumentadas en las células HK-2 respecto a células no renales, lo que indica que el riñón es capaz de biotransformar los arsenicales inorgánicos primariamente, reduciendo los arseniatos a arsenitos.

Aún a dosis bajas las mitocondrias son sensibles a la toxicidad arsénico.

Vasken y cols. (2004), sugieren el nuevo mecanismo TMAO, que utiliza al peróxido de hidrógeno para destoxificar a los arsenitos, MMA(III), y DMA(III) basados en experiencias *in vitro*.

El organismo humano, puede transformar al arsénico inorgánico en derivados orgánicos y al pentavalente en trivalente. Después de la absorción, el arsénico se reparte entre los órganos.

Hay una gran variación interpersonal de las especies de arsénico que aparecen en la orina después de la exposición al arsénico. Marnell y cols. (2003), estudiaron cuatro grupos de personas que vivían cerca de Torreón, México, expuestas crónicamente a 9 a 100 microg/L de arsénico por agua de bebida. Además de los dos polimorfismos conocidos de la ácido monometilarsónico reductasa (MMA(V))/hGSTO1, encontraron seis nuevos caracterizados por la delección de tres pares de bases (delGGC) en el primer intrón; una transversión de G a C que determina la substitución de una serina a cisteína en el aminoácido 86; una transversión de G a T y otra de A a T en el intrón 5; una transición de G a A que determina la substitución de glutamato a lisina en el aminoácido 208 y una transición de C a T que causa la substitución en el aminoácido 236 de la alanina a valina. Dos personas en las que el perfil de las especies de arsénico urinario era muy diferente, pues tenían mucho arsénico inorgánico y pocos compuestos metilados, tenían un único polimorfismo en hGSTO1 siendo heterozigotes para E155del y para Glu208Lys. El identificado SNPs, pudiera ser la causa de la gran variabilidad interindividual de la respuesta del hombre a la exposición crónica al arsénico inorgánico.

Los ácidos cacodílico y arsénico son relativamente estables y en vivo no se convierten en arsénico inorgánico.

Metilación

En muchas especies de mamíferos, incluido el hombre, el arsénico primariamente se metila por la alternancia repetitiva de una reducción por la «ácido monometilarsónico (MMA(V)) reductasa», idéntica a la glutation transferasa omega (hGST-O) y por la metilación oxidativa que forma ácido dimetilarsínico (DMA(V)), metabolito predominante en la orina y monometilarsónico MMA(V), por la «arsénico metiltransferasa MMA(V)» y sobre todo por la AsIII metiltransferasa S-adenosilmetionina —dependiente de 42-kDa— descubierta por Thomas y cols. (2004) a la que llamaron cyt19.

Los arsenicales pentavalentes con un estado de oxidación (V), se pueden unir al glutation (GSH) oxidándolo a GSSG y pasando a arsénico trivalente más tóxico, pero metilables enzimáticamente, pasando a las formas más activas los ácidos monometilarsenioso (MMA(III)) y dimetilarsenioso (DMA(III)), fácilmente excretables por el riñón.

La cit19 pertenece a la familia de las S-adenosil-L-metionina, metiltransferasas que catalizan la metil y la dimetilación de proteínas, lípidos y ADN. La cit19 tiene secuencias comunes a otras metiltransferasas, que contiene AsIII metiltransferasa y AsV reductasa. La Cyt19 está codificada en el hombre y en el ratón por el gen ortólogo cyt19. Las metiltransferasas de las especies Homo sapiens, Rattus norwegicus y Mus musculus, metiladoras del arsénico ionorgánico, son semejantes, teniendo la humana 375 aminoácidos, la de la rata 369 y la del ratón 376. Las proporciones de los metabolitos arsenicales se debe a polimorfismos genéticos de los enzimas metiladoras. En el chimpancé Pan troglodytes, que no metila al arsénico, el gen tuvo una delección unos 5.000 años después de haberse separado el linaje Homo-Pan del Pan; la delección, abarca 275 nucleótidos, a partir del 612, causando un «frameshift», que supone una mutación sin sentido por un cordón que causa una parada prematura después del aminoácido 205. El fenotipo del chimpancé es similar al de la delección en el gen de la arsénico-metiltransferasa para el arsénico en estado +3 de oxidación; la proteína que codifica está truncada y es inactiva. La cyt19 unida a la tioredoxin-tioredoxin reductasa, reduce al arsénico y cataliza como metiltransferasa, la transferencia de metilos de la S-adenosil-L-metionina, donante universal de metilo, a sus substratos, en este caso al arsénico triglutation AT, produciéndose monometil y dimetil arsénico y S-adenosil homocisteína. El monometilarsónico diglutation (MADG,) es substrato de la Cyt19, para ulterior metilación a dimetilarsínico glutation (DMAG). El ácido monometilarsenioso MMA(III), producto de la hidrólisis de MADG, no se metila a dimetil arsénico por Cyt19. Estos resultados, sugieren que tanto los complejos As-GSH como el ATG y el MADG, son convertidos por el Cyt19 a MADG y a

DMAG, respectivamente. El MADG y el DMAG, cuando hay menos de 1 mM de GSH, se hidrolizan y oxidan a MMA(V) y DMA(V), respectivamente. El paso de As(III) inorgánico a arsenicales metilados por el Cyt19, se hace por la vía ATG y MADG, más que por la metilación oxidativa del As(III) inorgánico y del MMA(III) (Hayakawa y cols., 2005).

El cyt19 se puede obtener y purificar del hígado de rata, pero se dispone del rrcyt19 que es el cyt19 humano obtenido en ratas por recombinación.

Los reductantes ditiotreitol o tris(2-carboxiletil)fosfina, permiten la catálisis por el rrcyt19. Parejas de sistemas conteniendo el reductante endógeno (tioredoxina/tioredoxina reductasa/NADPH, glutarredoxina/glutation/glutation reductasa/NADPH, o ácido lipoico/tioredoxin reductasa/NADPH) efectúan la catálisis.

El Folbp1, es decir, el «folate binding protein-1», media en la toma celular del folato, vía por la que las células obtienen cofactores de folatos. A la luz de la relación entre la bioquímica de los folatos y la biotransformación del arsénico, Spiegelstein y cols. (2003), encuentran que el déficit de folato de la dieta, disminuye la cantidad excretada de arsénico, tanto en ratones Folbp1 nullizygous «Folbp1(-/-)» como en los silvestres. Los ratones Folbp1(-/-), excretan más ácido dimetilarsínico que los silvestres durante el déficit de folatos, pero no cuando se ingieren folatos en cantidad normal.

El glutation solo, no permite la función catalítica de los rrcyt19; su adición a mezclas reaccionantes, conteniendo otros reluctantes, aumenta la tasa de metilación del arsénico. La aurotioglucosa, un inhibidor de la tioredoxin reductasa, reduce la tasa de metilación del arsénico por el rrcyt19 en reacciones apoyadas por la tioredoxina. La adición al citosol del hígado de cobaya, que contiene poca arsénico-metiltransferasa endógena, a mezlas reactivas conteniendo rrcyt19 demuestran que los reductantes endógenos en el citosol, apoyan la actividad del enzima. Las mezclas reaccionantes, que contienen rrcyt19, tienen compuestos metilados de AsIII o de AsV, lo que sugiere que el ciclo del As entre los estados de oxidación es un componente de la vía que produce arsenicales metilados. Esta enzima, puede usar reductantes endógenos para reducir arsenicales pentavalentes a trivalentes, lo que es necesario para ser metilados.

Se pensó que la metilación del arsénico (al facilitar su excreción), tendría un efecto protector, pero estudios epidemiológicos y experimentales, demuestran que las especies intermedias metiladas tienen una elevada toxicidad y que algunos de los efectos adversos de la exposición crónica se deben a los metabolitos metilados. Las personas cuyo fenotipo es metilador del arsénico inorgánico, son más sensibles al arsénico caso de estar expuestos a este elemento.

Meza y cols. (2005) investigan la asociación entre los niveles de los metabolitos arsenicales urinarios con los genes, PNP, GSTO, y CYT19, en 135 personas expuestas al arsénico en el valle Yaqui de Sonora, México, cuya agua tiene entre 0,0055 a 0,9433 ppm de arsénico. En el estudio inicial, tres de los 23 sitios

polimórficos del gen CYT19 estaban asociados significativamente con la razón dimetilarsénico(V) a monometilarsénico(V) en la población. El análisis de la asociación reveló que se debía básicamente a la fuerte asociación en los niños de 7-11 años, sin que hubiera asociación con los adultos de 18 a 79 años. La existencia de una fuerte asociación genética regulada por el desarrollo entre el CYT19 y el metabolismo del arsénico tiene interés para la farmacogenética, para la toxicología y la Salud Pública.

La metilación del arsénico inorgánico, la captación de las formas metiladas, y su reducción son muy lentas. Es decir, que las formas metiladas reducidas, contribuyen poco a la carcinogénesis salvo que las aporten la circulación. El antimonio trivalente, es similar en potencia y eficacia, mientras que el pentavalente no tiene prácticamente efecto. La conversión por oxidación del antimonio pentavalente al trivalente no se detecta en los queratinocitos. Es pues importante para sus efectos biológicos, la reducción intracelular de los metaloides.

La reciente introducción terapéutica de arsenicales en leucemias promielocítica agudas, ha proporcionado información sobre su metabolismo y excreción en el hombre. El arsénico de la orina excretada en las primeras 24 horas después de haber inyectado 10 mg de As_2O_3As(III), está en el 27,6 ± 6,1 como ácido monometilarsenioso MMA(III), el 2,8±2.0 como dimetilarsenioso DMA(III), el 22,8 ± 8,1 como monometilarsónico MMA(V) y el 43,7±13,3 como dimetilarsínico DMA(V), según vieron Wang y cols. (2004), en cuatro pacientes tratados con una inyección venosa diaria de As_2O_3; si no se conserva la orina con dietilditiocarbamato que estabiliza a las especies trivalentes de arsénico, se transforman estas en los metabolitos MMA(V) y DMA(V). La relativamente baja fracción de especies metiladas de arsénico en estos leucémicos, respecto a lo que ocurre con población no leucémica expuesta a mucho menos arsénico, hace pensar que los elevados niveles de As(III) inhiban la metilación.

Kato y cols. (2003) vieron que la inyección intraperitoneal de yoduro de dimetilarsinoso (DMI) y de trimetilarsina (TMA), determinaba la producción de arsénico trivalente dimetilado y de dimetilarsina.

En los medios de cultivo de células expuestas a 0,5 a 25 microM de arsenito, se encuentran derivados monometilados tri y pentavalentes.

La administración oral de 500 µg de arsénico como arsenito sódico, monometilarsonato o como cacodilato (dimetilarsínico), una vez al día durante cinco consecutivos a 4 voluntarios comprometidos a no comer alimentos marinos esos días, demostró que la tasa de excreción menor era la del As metaloide, luego la del ácido dimetilarsínico U (o arseniato) DMA y la mayor para el ácido monometil arsónico (o arseniato) MMA. A los 4 días, se había excretado el 46, el 78 y el 75% de la ingesta, respectivamente (Buchet y cols., 1981). El DMA, se excreta sin modificar, el 13% del MMA y el 75% del arsénico inorgánico se metilan, la tercera parte como MMA y dos terceras partes como DMA. Crecelius en 1977, demostró en un voluntario que había ingerido vino con 63 µg de arsénico inorgáni-

co, que este se podía metilar dando ácido monometil arsónico y dimetil arsínico (o cacodílico). Esto, fue confirmado por Tam y cols. (1979), en seis voluntarios a los que dieron 0,01 µg de arsénico marcado radiactivamente.

El hombre metaboliza al arsénico por metilación oxidativa, que lo transforma en pentavalente y se excreta por orina; las variaciones en el metabolismo del arsénico modifican la sensibilidad a los efectos tóxicos del arsénico, incluyendo la carcinogénesis.

Los derivados metilados urinarios, indican la capacidad de metilación personal, que entre otros factores depende del sexo.

Loffredo y cols. (2003) encontraron en las orinas de poblaciones de México, China, y Chile, que el arsenical más abundante era el DMA, con clara diferencia según el sexo. La razón del MMA y DMA respecto al arsénico inorgánico y la del MMA respecto al DMA, se distribuía bimodalmente. De las diferencias étnicas de las tres poblaciones dedujeron que hay un polimorfimsmo funcional de los genes codificadores de proteínas que participan en la metilación del arsénico.

Transporte trasplacentario

Jin y cols. (2006) proporcionan a ratonas durante su preñez, agua para beber con arsenitos y arseniatos inorgánicos. Las especies trivalentes de arsénico MMA, y DMA, aumentaron en el hígado en relación con la concentración de arsenito y de arseniato del agua; en el cerebro el aumento sólo tenía lugar para el DMA. En el hígado y cerebro de los ratoncillos recién nacidos, el contenido de As y de DMA aumentaban al hacerlo la concentración de arseniato o de arsenito del agua que bebía la madre. Los contenidos de arsénico del hígado y cerebro de madres y recién nacidos, fueron significativamente menores en el grupo que bebía agua con 10 ppm de As(V), que en el que bebía 10 ppm de As(III). La razón de los niveles de As inorgánico o de DMA, entre el cerebro y el hígado del ratón recién nacido fueron superior a 1, mientras que en las madres fueron bastante menores de 1. El iAs se distribuyó y metabolizó principalmente en el hígado de la madre. El As(III), en bajos niveles puede ser mucho más absorbido y metabolizado en el hígado que el As(V). Tanto el iAs como el DMA, pasan la placenta y atraviesan fácilmente la inmadura barrera hematoencefálica. Comparado con lo que ocurre en el hígado del recién nacido, el DMA es un metabolito orgánico prevalente en el cerebro, que es un órgano lipídico, hasta que madure la barrera hematoencefálica.

PATOGENIA

La toxicidad de los arsenicales depende de las especies (el arsenito sódico es tres veces más tóxico que el arseniato sódico sobre animales y células cultivadas) y de la cantidad acumulada en los tejidos y por tanto, del balance entre

lo ingresado y lo excretado. Se acumula en las mitocondrias de los hepatocitos, células renales, etc.

Su efecto en las células, debe estar relacionado con su forma química y con la concentración que alcanza en estas, que depende del balance entre el arsénico ingresado y del excretado.

Las células R15 resisten 10 veces más al arsenito sódico (As(III)), que las CL3 de un adenocarcinoma pulmonar humano de las cuales proceden. Las células R15 acumulan menos arsénico que las CL3, es decir, que ingresan menos o que excretan más As(III). Lee y cols. (2006), encontraron que la resistencia se debía a que la expresión de la proteína MRP2 estaba aumentada cinco veces, mientras que las proteínas MRP1 y MRP3, también asociadas con el aumento de la resistencia a múltiples substancias, al promover la salida de arsénico de las células, seguían expresándose igual en las R15 que en las CL3. Las aquagliceroporinas (AQPs), medían la entrada de As(III) en las células. Lee y cols., no encontraron diferencias en la expresión del ARNm de las AQP7 y de la AQP9, determinada por RT-PCR, mientras que la expresión del ARNm del AQP3 es la mitad en las R15 que en las CL3 La concentración celular de arsénico aumenta con el verapamil y con la ciclosporina A, inhibidores de los transportadores de la resistencia a múltiples drogas, que reducen significativamente la salida de arsénico de las R15 (Lee y cols., 2006).

Cuando se interfiere con ARN la expresión de la AQP3 en las células CL3, acumulan menos arsénico y se hacen más resistentes al As(III). Inversamente la sobrexpresión del AQP3 en las células de 293T de riñón de embrión humano, aumenta el acumulo de arsénico y, las células se hacen más susceptibles al As(III) que las 293T transfectadas con sólo el vector. Es decir, que el AQP3 interviene en el acumulo celular del As(III).

La toxicidad de los arsenicales trivalentes, depende de su fijación en las substancias que tienen grupos tiol-SH disponibles, cuya función inhiben, como la cisteína-cistina, el glutation, la ATPasa, la ADN-polimerasa necesaria para la incorporacion de nucleótidos al ADN y al ARN. También inactiva a las deshidrogenasas, entre ellas a la succino-deshidrogenasa y a la pirúvico-deshidrogenasa de la fase anaerobia del metabolismo celular, que intervienen en los procesos de oxirreducción y en el metabolismo intermediario de glúcidos y lípidos, que causa la polineuritis. El arsénico, se fija en los tioles de los ácidos lipoico y dihidrolipoico, indispensables en la descarboxilación oxidativa del pirúvico, deteniendo la secuencia normal en el acetilcoenzima A, desacoplando la «fosforilación oxidativa» relacionada con la ATPasa, al sustituir competitivamente por su similitud, al fosfato por arseniatos, que forman un éster inestable que se hidroliza rápidamente. Es el proceso denominado «arsenolisis».

La reducción de la actividad metabólica, favorece la esteatosis, especialmente la hepática. Interactúa con dos grupos sulfhidrilos del ácido lipoico, formando un anillo estable de seis miembros:

$$SH\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}CH(SH)\text{-}(CH_2)_4\text{-}COOH + R\text{-}As = O \Rightarrow S\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}CH(S)\text{-}(CH_2)_4\text{-}COOH$$

El arsénico inhibe al ácido levulínico sintetasa y a la hemo sintetasa, a la protrombina y al fibrinógeno, favoreciendo la presentación de hemorragias.

La administración oral diaria de 3 y de 6 mg/kg de trióxido de arsénico al Mus musculus, durante 30 días, reduce las proteínas, el glucógeno y el ácido ascórbico en hígado y riñón, a la succinico dehidrogenasa y a la fosforilasa hepáticas dosis-dependiente (Verma y cols., 2004). La fosfatasa ácida disminuye con 3 mg/kg, pero con 6 mg/kg aumenta. Las fosfatasas ácida y alcalina renales disminuyen. La administración oral de 0,5 y 1 mg/kg al día durante 45 días, de trióxido de arsénico a ratones macho, reduce (Rao y cols., 2004) la superoxido dismutasa, la catalasa y el glutation, en los hemisferios cerebrales y en el cerebelo, lo que indica la existencia de estrés oxidativo causado por la formación de especias reactivas de oxígeno, inducidas por el arsénico que aumentan la peroxidación lipídica en esos órganos.

Las drogas se metabolizan por el citocromo P450 1A1 (Cyp1a1), del NAD(P)H, de la quinona oxidoreductasa (QOR) y de la glutation-S-transferasa Ya (GST Ya), cuyos genes están regulados por la activación de receptores arilhidrocarbonados (AhR) por ligandos. El arsénico puede unirse a esos ligandos, que al interactuar molecularmente, pueden romper la coordinada regulación de los enzimas metabolizadoras de las drogas dependientes de los AhR. Elbekai y cols. (2004), estudian los efectos de los metales pesados sobre los genes regulados por AhR; para ello tratan a células del hepatoma murino Hepa 1c1c7, con concentraciones crecientes de As^{3+} (1-10 microM), de Cd^{2}+ (1-25 microM) y de Cr^{6+} (1-25 microM), con o sin los siguientes ligandos: AhR: 2,3,7,8-tetracloro-dibenzo-p-dioxina (0.1 nM), 3-metilcolantreno (0,25 microM), beta-naftoflavona (10 uM), o benzo[alfa]pireno (1 microM). Los ligandos AhR , el As^{3+} o el Cd^{2+} solos, aumentan la actividad catalítica y los niveles de mRNA de todos los genes reguladores de AhR. La co-administración de cualquiera de los tres metales con un ligando de AhR, inhibe la inducción de la actividad de Cyp1a1 por los ligandos de AhR, pero potencian la expresión de la mRNA y de la proteína. Además, todos los metales aumentan la QOR y GST Ya y los niveles de mRNA, pero modulan su inducción por los ligandos de AhR. Generalmente, el Cr^{6+} inhibe, mientras que el As^{3+} y el Cd^{2+} potencian la inducción de QOR y de GST Ya y los niveles de mRNA. Los tres metales, aumentan la expresión de la hemo-oxigenasa-1, que coincide con los cambios en las fases I y II de la acción de la enzima. Estos resultados, muestran la capacidad de los metales de alterar la de los ligandos del AhR de inducir la bioactivación de la fase I y la destoxificación de la fase II, que pueden influir en la carcinogenicidad y mutagenicidad de los ligandos del AhR.

Concentraciones bajas, del orden de 0,5 a 25 microM de arsenito, perturban varios procesos moleculares, entre ellos el acumulo de proteínas conjugadas con

ubiquitina, y la viabilidad de células cultivadas, y dosis mayores llegan a matar a la célula.

En las mitocondrias, el arsénico sufre cambios en su estado de oxidación y las especies trivalentes se reducen a pentavalentes y estas se oxidan a trivalentes. En este proceso interviene la metilación.

La toxicidad del arseniato *in vivo* se debe sobre todo a su transformación por reducción a arsenito, lo que requiere varios días para que se presenten los efectos biológicos. En los cultivos celulares, el arseniato es casi tan eficaz como el arsenito, pero requiere mucho más tiempo para producir el efecto máximo.

CICLO DEL ARSÉNICO EN LA NATURALEZA

Bioacúmulo

Proceso de depósito de un tóxico, que se elimina o metaboliza en menor cantidad que la que ingresa o se sintetiza, por lo que va aumentando su concentración orgánica en función de las cantidades ingresadas o formadas y de la duración de la exposición. Así, muchas plantas acumulan metales, el mercurio como metilmercurio, propiedad que se ha aprovechado en minería. El arsénico se acumula en los escarabajos.

Kostal y cols. (2004), sobreexpresaron en la Escherichia coli, la proteína metaloreguladora ArsR, de alta afinidad y selectividad hacia el arsenito, para aumentar el bioacumulo del arsénico, pero eso disminuye mucho el crecimiento bacteriano. La incorporación del polipéptido ELP153AR, de tipo elastina, como elemento de fusión al ArsR duplica el crecimiento de la E. Coli, sin comprometer la capacidad de acumular arsenito. Las células Resting, que sobreexpresan ELP153AR acumulan 5 y 60 veces más arseniato y arsenito que las controles sin sobreexpresión de ArsR, sin que se observara acumulo de Cd^{2+} ni de Zn^{2+}, confirmando la especificidad del ArsR. La alta afinidad del Arar permite retirar las 50 ppb de arsenito que contenía el agua. Esto proporciona una tecnología útil para adaptarse al límite de 10 ppb de las nuevas normas de la Environmental Protection Agency (EPA) de USA.

Ritchie y cols. (2004) encontraron que un extracto de lisado de Pseudomonas sp. catalizaba la bioconversion del dimetilarsinoilacetato a arsenobetaina y a dimetilarseniato. La S-adenosilmetionina, donante de metilo, aumenta la formación de arsenobetaina. Es decir, que en la biosíntesis de la arsenobetaina a partir de la dimetilarsinoiletanol, la oxidación (es decir la formación del grupo carboximetilico del dimetilarsinoilacetato) precedía a la reducción y a la metilación en el átomo de arsénico. La presencia de enzimas capaces de metilar al dimetilarsinoilacetato en una bacteria aislada del mejillón Mytilus edulis, aclara el posible papel directo de las procariotas en la biosíntesis de arsenicales orgánicos en animales marinos.

El río Tinto, muy ácido y con gran carga de As, Cu, Cr, y Zn, es un modelo de ambiente hostil para la vida, pese a lo cual se desarrollan en él, numerosas eucariotas. Cánovas y cols. (2003) aislaron un hongo filamentoso que llamaron Aspergillus sp. P37, poliresistente al cobre, al cromo y al arsénico, capaz de desarrollarse con 200 mM de arsénico, unas 15.000 ppm, concentración 20 veces superior a la que soportan las Escherichia coli, Saccharomyces cerevisiae y el Aspergillus nidulans, y 200 veces superior a la que tolera el Aspergillus niger. Altas concentraciones de arsénico, producen vacuolas, lo que se piensa que se debería a la tolerancia. Concentraciones letales para otros microorganismos no alteraban al Aspergillus sp. P37. El hongo podría utilizarse para descontaminar de arsénico, ya que lo absorbe de los cultivos.

Los organismos vivos del agua y fangos que contienen arsénico en sus diversas formas, han desarrollado para sobrevivir tolerancia al arsénico por diferentes posibles mecanismos, de forma semejante a como las bacterias se comportan con los antibióticos. Por eso las especies y cepas resistentes, se aíslan en lugares en los que las concentraciones del arsénico son elevadas. Los mecanismos estructurales o inducidos por el arsénico, posibles para la resistencia al metaloide son:

1.º Transformando las especies de arsénico haciéndolas no absorbibles y por tanto inertes para los microorganismos.

2.º Conviviendo con simbiontes protectores.

3.º Convirtiendo a la especie arsenical absorbida en inactiva para procesos esenciales a la vida del microorganismo.

4.º Desarrollando mecanismos que no son inhibidos por el arsénico.

Los mecanismos de resistencia, se deben a proteínas codificadas por genes denominados genéricamente «asnR» y, cada uno de ellos por las letras «asn» seguidas de una letra mayúscula para diferenciarlos. Los genes arnR no son específicos de las especies bacterianas que los portan.

La exposición a 100 y 140 ppm de anhídrido arsenioso en la mitad de la fase logarítmica durante 20 minutos, disminuye el tamaño y cambia la morfología de las colonias y la de la célula, su función endocitósica que comprende la fagocitosis y la pinocitosis y disminuye la síntesis del ADN y de proteínas, llegando a matar al Dictyostelium discoideum, un hongo del cieno. En teoría, sería posible que el microorganismo expuesto al arsénico se fuera haciendo más sensible a este, en cuyo caso desaparecería si permanece en ese medio. Los perfiles de resistencia a metales como el cadmio y el arsénico permiten identificar bacterias como a las Listerias.

El detergente bromuro de cetiltrimetilamonio, convierte a bacterias que resisten a 2,10-2 M de arsenito, en susceptibles, lo que señala que la permeabilidad interviene en la resistencia (Arima y col., 1964).

Suresh y cols. (2004) aislaron un bacilo resistente a radiaciones y al arsénico del agua de un acuífero fuertemente contaminado por arsénico del distrito de Chakdah de Bengala occidental de la India. Es un bacilo Gram negativo, inmóvil que no forma esporos y tiene un pigmento rojo. El péptidoglicano de la pared contiene el diaminoácido ornitina, el MK-8 es la más importante menaquinona, los C(15 : 1) y C(16 : 1) los más importantes ácidos grasos y la proporción molecular de G+C sobre las cuatro bases es de 65,8, datos que permiten clasificarlo dentro del género Deinococcus. Suresh y cols., consideran que la cepa Wt/1a(T) es una nueva especie del género Deinococcus, el Deinococcus indicus sp. nov cuya cepa tipo es la Wt/1a(T). El ARN tiene una homología del 95% con el del Deinococcus grandis, pero sólo del 14% con el D. grandis IAM 13005(T). La cepa Wt/1a(T) es más resistente al arseniato y al arsenito que la IAM 13005(T); del D. grandis, tiene arginina dihidrolasa, utiliza diversas fuentes de carbono y tiene diferencias en la composición lipídica y en la de sus ácidos grasos.

Los microorganismos aerobios, del agua y del cieno, si disponen de suficiente oxígeno oxidan al arsénico y al hierro (III) del agua, coprecipitándolos, rebajando la concentración de esos metales en el agua. Casiot y cols. (2003) aislaron en los efluentes de las minas francesas de Carnoul, cuyo pH era 2,73-3,37 a dos cepas de Thiomonas ynys, que cataliza la oxidación del arsénico y otra no identificada que además cataliza la del hierro. Esos efluentes, tenían entre 1 a 3,5 mmol/L^{-1} de arsénico disuelto, predominando los arsenitos, y 20 a 40 mmol/L^{-1} de hierro; la coprecipitación en los primeros 30 min. quitaba del 20 al 60% del arsénico.

La cepa NRC-1 del Halobacterium sp. tiene genes homólogos a los arsR situados en el largo replicón extracromosómico pNRC100 (arsADRC y arsR2M) y en el cromosoma (arsB). Wang y cols. (2004), construyeron Halobacterium knockouts. La delección del cluster del gen arsADRC en la cepa Deltaura3 del Halobacterium NRC-1, aumenta la sensibilidad al arsenito y a la antimonita pero no al arseniato. En cambio los knockout del gene cromosómico arsB no tienen aumentada significativamente la sensibilidad al arsenito ni al arseniato. Los knockout para el gen arsM son sensibles al arsenito, lo que sugiere un segundo nuevo mecanismo de resistencia al arsénico en el que participaría una arsenito(III)-metiltransferasa. Estos resultados, indican que el Halobacterium sp. strain NRC-1 contiene un sistema de extrusión del arsenito y de la antimonita con significativas diferencias respecto a bacterias semejantes. La resistencia al arsenito y a la antimonita están reguladas en el tipo silvestre por la exposición inductora a una concentración subletal del metaloide. El arsA, arsD, arsR, arsM, arsC, y el arsB, pero no el arsR2, son inducibles por el arsenito y por la antimonita.

La Euglena mutabilis, es un protozoo acidófilo que se desarrolla en el drenaje ácido de la mina de Carnoul, cuyo pH es de 2,5 a 4,7, que contiene por litro 1,9-4,9 g de sulfato, 0,7-1,7 g de hierro y 0,08-0,26 g de arsénico, en su mayoría como

arsenito. A comienzos del invierno, varía mucho el caudal, de modo que los sulfatos superan los 4,9 g/L, a lo que se debería la disminución del protozoo desde octubre a diciembre, sin que influya la concentración de arsénico y/o su especiación. El arsenito, se oxida a arseniato en el laboratorio en unos días si está presente la Euglena mutabilis en el agua o en medio de cultivo sintético rico en As(III), sin que forme derivados metilados MMA ni DMA. El protozoo, bioacumula As en sus células (336 ± 112 microg As/g de peso seco), siendo de arsenito inorgánico 105 ± 52 y de arseniato 231 ± 112 microg. Un gramo de peso seco de la Euglena cultivada en un medio con 250 mg/L de As(III), adsorbe 57 mg como As(V). El acumulo intracelular y la adsorción a la superficie de la Euglena aumentan al hacerlo la concentración de As(III) en el medio, pero disminuye el factor de concentración en la célula en relación con el arsénico soluble.

El Yap8p, es un Saccharomyces cerevisiae de la familia Yap. Se activa por el arsénico, no en la transcripción sino en el transporte nuclear (Menezes y cols., 2004), gracias a la región de la proteína exportadora del cromosoma, para cuya localización y transactivación se requieren las cistinas 132, 137 y 274.

El arsenito sódico es tres veces más tóxico que el arseniato sódico sobre animales y células cultivadas. El arseniato actúa por su similitud con el fósforo al que sustituye. La toxicidad del arseniato *in vivo* se debe sobre todo a su transformación por reducción a arsenito, lo que requiere varios días para que se presente los efectos biológicos. En los cultivos celulares el arseniato es casi tan eficaz como el arsenito, pero requiere mucho más tiempo para producir el efecto máximo.

La purin nucleósido fosforilasa de los queratinocitos, no parece importante en la reducción del arseniato lo que indica que en estas células predomina otra vía. La metilación del arsénico inorgánico, la captación de las formas metiladas, y su reducción son muy lentas. Es decir, que las formas metiladas reducidas contribuyen poco a la carcinogénesis, salvo que las aporten la circulación. El antimonio trivalente es similar en potencia y eficacia, mientras que el pentavalente no tiene prácticamente efecto. La conversión por oxidación del antimonio pentavalente al trivalente no se detecta en los queratinocitos. Es pues, importante para sus efectos biológicos, la reducción intracelular de los metaloides.

En las plantas, al sintetizarse la fitoquelatina se producen como intermediarios péptidos tiónicos, que confieren tolerancia celular a tóxicos como el arsénico, el mercurio y el cadmio, que transportan a esos metales a largas distancias, entre los órganos de la planta.

Li y cols. (2006) expresaron el gen S1pt:ECS de la gamma-glutamilcistein sintetasa bacteriana (ECS), en los brotes de la mutante deficiente en gamma-glutamilcistein sintetasa, sensible a los metales pesados. El gen S1pt:ECS restaura completamente la tolerancia para el mercurio y parcialmente la del cadmio y aumenta la tolerancia al arseniato. El tratamiento con arsénico aumenta 6 a 100 veces las concentraciones en la raíz de la gamma-glutamilcisteina, de los péptidos tiónicos PC2 y PC3, que tiene la mutante, siendo equivalentes a la concen-

tración que tiene el tipo silvestre. Los niveles de brotes y raíces del glutation (GSH), son de dos a cinco veces mayores que los que tienen las plantas silvestres tratadas o no con metales. Así, la gamma-glutamilcisteina y quizás el glutation reducido son eficaces transportadores desde las yemas a las raíces.

DESCONTAMINACIÓN DEL SUELO DE ARSÉNICO

Los suelos contaminados se pueden decorticar hasta unos 30 cm, según la profundidad a la que haya llegado el arsénico, llevando la tierra extraída a vertederos controlados.

La descontaminación se basa en inmovilizar al As(III) soluble, en arseniato insoluble que queda fijado en el terreno, sin que se haya eliminado el arsénico del mismo.

Zeng (2003), obtuvo adsorbentes binarios de óxido de hierro (III) granulados. El paso clave en este método, es la formación simultánea de una solución de oxi-hidróxido (OFeOH) y una solución de silicato en un reactor, en el que se pueden formar eventualmente complejos Fe-Si. La sílice, aumenta la fuerza adsorbente del granulado, pero reduce la adsorción de arsénico. La relación molar óptima de Si/Fe es de 0,33.

Hamon y cols. (2004), desarrollaron un método que combina el intercambio isotópico y la espectrometría de masas con la cromatografía, para conocer los mecanismos que controlan la movilidad y la especiación del arsénico en los sistemas suelo-agua. Estudian dos suelos contaminados con arsénico soluble, en Eaglehawk y en Tavistock cuyas condiciones redox y microbiológicas eran conocidas y en los que una alta proporción del arsénico estaba en forma fija.

La incubación de los suelos en condiciones anaerobias modifica la concentración del arsénico soluble de cada suelo, pero no la especiación ni la proporción de las formas lábiles respecto al arsénico total.

Se calcula, que se necesitan ocho años para reducir el arsénico extraible por ácido de un suelo, para que quedara al nivel aceptable de 40 mg/kg.

Narváez y cols. (2005) encontraron que el clorhídrico molar adicionado a la décima parte de su volumen de sedimento, extrae en cuatro horas, más arsénico que el agua desionizada, que el bicarbonato sódico 0,3 mol/L, el oxalato amónico 0,3 mol/L, o el carbonato sódico 0,3 mol/L. El HCl, produce una conversión significativa de las especies de arsénico As(V), As(III), MMA y DMA; con el oxalato amónico, el As(V) va pasando a As(III) y con el carbonato sódico el As(III) pasa a As(V). A medida que aumenta el tiempo de contacto entre el sedimento y el extractante, aumenta el As(V) y disminuye el As(III), lo que es atribuido a que los constituyentes de la matriz sedimentaria favorecen la oxidación. Las especies metiladas no presentan conversión significativa con ninguno de los agentes extractores.

DESCONTAMINACIÓN DEL AGUA

Si no se puede disponer de agua con poco arsénico por razones técnicas, políticas o económicas, hay que intentar extraer el metaloide del agua disponible.

Los métodos tradicionales de depuración del agua por floculación, sedimentación y tratamiento químico reducen el arsénico del agua. Su aplicación al agua de pozo de Bangladesh, logró niveles medios de 1,2 microg/L (Souter y cols., 2003). Cheng y cols. (2004) descontaminaron por filtración con arena y adición de unos 1,5 g de sulfato férrico y 0,5 g de hiploclorito cálcico, aguas que contenían 190-750 microg/L de As, entre 0, 4 a 20 mg/L de hierro, en cuya superficie se acompleja el arsénico y 0,2 a 1,9 mg/L de fósforo; el 99% de 72 muestras de agua, quedó con menos de 50 microg/L de arsénico, lo que supone el criterio adoptado para el agua potable de Bangladesh. Lombi y cols. (2004), añadieron un 2% (w/w) de dos cienos, los WTS-A, WTS-B, de dos limos rojos (RM), y de yeso rojo (RG), ricos en oxi-hidróxidos de hierro a aguas muy contaminadas con arsénico y con cobre, para reducir la biodisponibilidad de esas sustancias. Como esas adiciones aumentaban el pH del suelo hasta 6, emplearon como controles, suelo adicionado con limo al mismo pH y suelo sin tratar. Todos los tratamientos, mejoraron la biomasa microbiana del suelo y el crecimiento de centeno (Lolium multiflorum Lam. cv. Avance), pero sólo el cieno WTS-A, mejoró el desarrollo de la lechuga (Lactuca sativa L. cv. Tom Thumb). El tratamiento, no alteró significativamente la mineralización del suelo por la adición de nitrógeno amoniacal, mientras que el test de extracción basado en la fisiología (PBET) demostró que la bioaccesibilidad del As fue menor del 5%, disminuyendo sólo con el tratamiento con los fangos WTS-A. Rebajar el As del agua incluida en los poros de la tierra, y el arsénico extraíble, sólo se logra con los WTS y con el yeso rojo. En cambio, las concentraciones de cobre en el agua de los poros de la tierra y el extraible, disminuye más de un 84% con todos los tratamientos. En los coloides del agua de los poros de la tierra, no se produce intercambio isotópico entre el As y el Cu. El suelo sin tratar, tenía menos del 4% de arsénico intercambiable isotópicamente, que disminuía un 50%, con los tratamientos. El pool lábil de Cu era el 34% de todo el cobre, y el cobre intercambiable isotópicamente y el soluble dependían mucho del pH del suelo. La acidificación de suelos tratados mostró que el As lábil y el cobre aumentaron en los suelos tratados respecto a los no tratados.

La descontaminación química del agua es costosa y produce una abundante carga de desechos tóxicos. Por ello, Huang y cols. (2004) usaron helechos recientemente identificados como plantas, que acumulaban mucho arsénico del agua.

Del agua, el arsénico puede pasar a las raíces de las plantas. Los helechos Pteris vittata y Pteris cretica cv. Mayii, cultivados hidropónicamente, absorben arsénico. Huang y cols. (2004) adicionaron al agua 20 a 500 microg L^{-1} de arsénico[73] para detectar al arsénico fácilmente. Con una concentración inicial de

200 microg L^{-1}, el P. vittata redujo en 24 horas la concentración a 2,8 microg L^{-1}, es decir, el 98,6%, y a la concentración inicial de 20 microg L^{-1}, quedaba a las 6 horas, 7,2 microg L^{-1} y 0,4 microg L^{-1} a las 24 horas, con resultados similares el P. cretica que permite obtener un agua con menos de 10 microg L^{-1}. Aquellos helechos absorben tanto arsénico, porque al poco de haberse absorbido por las raíces se trasloca enseguida el arsénico a los tallos, lo que no ocurre con el helecho N. exaltata. Los arsenicales pentavalentes y sobre todo los trivalentes son tóxicos para las microalgas disminuyendo su crecimiento. Entre las microalgas, el cultivo mixto de las especies verde-azules Oscillatoria-Lyngbya son las más eficaces en quitar el arsénico; un 64% a los 21 días de incubación, y sólo el 60% cuando son incubadas en un medio con 0,1 mg/L de arsénico trivalente. La cantidad máxima absorbida tiene lugar en la fase exponencial de crecimiento, que a veces se extiende a la estacionaria (Samal y cols., 2004).

La fitoremediación del arsénico del agua es una idea relativamente nueva mediante el empleo del helecho Pteris vittata L., vulgarmente helecho chino. Tu y cols. (2004), encontraron que una planta desarrollada hidropónicamente en 600 mL de agua, reduce la concentración de arsénico de 46 a menos de 10 microg L^{-1} en tres días, y si se sigue usando la planta sigue captando arsénico pero a menor velocidad (desde 46 a 20 microg L^{-1}) en los tres días siguientes. La edad de la planta aumenta poco el rendimiento, pero sí el tamaño del vegetal. La adición de un suplemento nutritivo sin fosfatos, tiene poco efecto en la captación de arsénico y, la de fosfatos reduce significativamente la afinidad para el arsénico, llegando a inhibir su captación. Sathishkumar y cols. (2004) purifican de arsénico el agua por medio de bolitas de micelios de Aspergillus fumigatus.

Hoy se dispone de nuevas técnicas, que pueden rebajar muchos los niveles arsenicales del agua, unos químicos, que producen una abundante carga de desechos tóxicos y otros físicos, como la ósmosis inversa, la nanofiltración, el intercambio iónico, y la electrodiálisis, todos ellos caros y de funcionamiento complicado, cuya eficiencia depende del grado de disociación del As.

Al seleccionar un método, hay que tener en cuenta el volumen de agua a tratar, la concentración inicial de arsénico y la deseada, el pH del agua, la concentración de sulfatos, de otras sales y xenobióticos, que además de su toxicidad, pueden alterar el proceso depurador, el caudal a tratar y las variaciones estacionales del agua disponible. También, se deben conocer los aspectos de ingeniería necesarios a la captación y a la distribución del agua, así como la disponibilidad y costo de la energía eléctrica y la conveniencia de descontaminar toda el agua servida por una red central o para abastecimientos medios o pequeños o a fracciones poblacionales, con contadores y tarifas políticas que graven los consumos excesivos y hasta distribuir por bidones o botellas o saquitos de plástico, el agua para beber y cocinar.

La constante de disociación del As^{+5} que tiene carga negativa, es mayor que la del As^{+3}, por lo que es más eficiente transformar el As^{+3} soluble en As^{+5} insoluble y atóxico que se separa fácilmente. Por eso, inicialmente se debe preoxi-

dar con cloro o con hipocloritos sódico o cálcico, más manejables y prácticos para instalaciones pequeñas, que depuran microbiológicamente el agua, pero dejan en esta productos de oxidación de compuestos orgánicos, algunos de ellos cancerígenos (la precloración elimina casi igual al As^{+3} y al As^{+5}). También se emplean los permanganatos sódico y el potásico, el cloruro férrico, el peróxido de hidrógeno, el ozono y las enzimas del Theobacillus ferroxidans. El óxido de cobre, el carbón activado y la radiación UV catalizan la oxidación aún a temperatura ambiente, aunque lentamente.

La oxidación del arsenito a arseniato se produce según las siguientes reacciones:

$$H_3AsO_3 + H_2O + [Ox] \Rightarrow H_2AsO_4^- + 3H^+$$
$$H_3AsO_3 + H_2O + [Ox] \Rightarrow HAsO_4 + 4H^+$$

El As (V) está a menudo, en forma de arseniato férrico, al combinarse con el hierro del agua o con el adicionado para favorecer la precipitación. El precipitado de arseniato se separa por:

1.º COAGULACIÓN-FILTRACIÓN. Es el método de la depuración habitual del agua de bebida, que reduce, además de los microorganismos en un 99,8%, al arsénico del agua, permitiendo tratar aguas de diversa composición. Cada agua tiene sus pecualiaridades, que deben tenerse en cuenta al seleccionar el coagulante más apropiado, la dosis a emplear y los otros reactivos necesarios a cada coagulante. El As (V) coagula, se adsorbe y coprecipita en los hidróxidos de aluminio y de hierro, obtenidos en el agua al hidrolizarse sales de Al(III) y de Fe (III). Es un método muy eficiente para quitar el arsénico del agua. Los minerales con alto contenido de óxidos de hierro y manganeso (hematita, ferromanganeso y dióxido de manganeso), tienen gran capacidad asorbente de los arseniatos. El tipo y la dosis del coagulante, afectan la eficiencia del proceso que es mayor en los valores intermedios de pH.

El proceso de oxidación-coagulación, es aplicable a aguas superficiales con alta turbiedad, donde además del arsénico deben quitarse otros contaminantes. La planta de tratamiento, consiste de un estanque de ingreso, coaguladores y filtros primarios y secundarios, en donde se presedimenta el agua para separar el arsénico particulado; se airea y preclora, para oxidar al As(III) a As (V); el agua se ablanda y coagula, para quitar al arsénico trivalente y se sedimenta y filtra, para separar el particulado. En general, la eficacia disminuye con la turbiedad del agua, por lo que se debe eliminar esta antes de quitar el arsénico.

Una vez oxidado, el As^{+5} se debe adsorber en los aglomerados o flocs, formados por la coagulación de los coloides disueltos o suspendidos en la masa de agua al precipitar masivamente iones de hidróxidos de hierro de aluminio e incluso de itrio y de lantano, cuyas fuerzas de atracción superficial fijan al arsénico. Los aglomerados se pueden separar por sedimentación, que elimina la mayor parte del arsénico y por filtración.

El porcentaje de arsénico separado suele ser independiente de su concentración inicial, pero cuando su concentración en el agua cruda es superior a 1,0 mg/L, la eficacia disminuye a medida que lo hace la concentración inicial, particularmente, si se usa sulfato de aluminio.

Influyen en la eficiencia del proceso, además de las características fisicoquímícas del agua, especialmente la concentración inicial del arsénico, el tipo y la dosis del coagulante del ablandamiento con sosa, y el pH del agua tratada. El rendimiento del sulfato de aluminio, es ligeramente menor que el del sulfato férrico. A un pH de 7,6 o menor, ambos coagulantes tienen la misma eficiencia en la remoción; sin embargo el sulfato férrico, remueve mejor a un pH menor de 7,6. Con dosis mayores de 20 mg/L de cloruro férrico o de 40 mg/L de sulfato de aluminio, se alcanza elimina más del 90% de As^{+5} eliminado. Bajas dosis de coagulantes, disminuyen la remoción del As^{+5} .

El ablandamiento por cal, por sí solo, pueden llegar a no alcanzar los niveles establecidos.

2.º ADSORCIÓN. Para el arsénico, se utilizan compuestos con afinidad química que interactúan electrostáticamente con el arsénico y con sus especies hidrolizadas en el agua. La separación de un contaminante (soluto) por un sólido (sorbente), se debe a las interacciones intermoleculares formadas en el sistema soluto-superficie del sorbente. La energía libre de adsorción es la suma de las energías químicas, electrostáticas y la de solvatación o hidratación.

Los arseniatos coprecipitan o se absorben, sobre hidróxidos de hierro, involucrando reacciones superficiales altamente específicas. La mejor adsorción del As(V) sobre el $Al(OH)_3$ y sobre el $Fe(OH)_3$ tiene lugar en el pH de 4 a 7. Como la superficie del hidróxido es anfótera, puede captar y desprender protones (desorción).

Para diseñar una instalación, hay que conocer las características fisicoquímicas del adsorbente, para obtener el coeficiente de absorción del contaminante en estado de equilibrio con el adsorbente.

En una planta de tratamiento de adsorción/filtración, se regula el pH del agua cruda de acuerdo con el hidróxido utilizado, se oxida el As (III) a As (V) con un oxidante y se hace pasar el flujo de agua cruda por dos o más filtros colocados en serie. Los filtros están formados por mallas metálicas o por otra superficie inerte, como arena, recubiertos con los adsorbentes, especialmente con los óxidos de hierro, que fijan enérgicamente al arsénico, de modo que apenas se produce la desorción. Los filtros se presentan en columna; suelen estar patentados y no se conocen siempre los hidróxidos utilizados. Los hidróxidos metálicos y sus soportes, actúan simultáneamente como filtro y adsorbente. Con esta técnica se separa un 75% del arsénico inicial.

Cuando se haya sobrepasado la capacidad máxima de filtración de la columna, se lavan y regeneran los filtros, separando los metales por un proceso de

desorción inducido por un pH adecuado, pasando hidróxido sódico al 5% y luego ácido sulfúrico al 1%.

El agua residual se lleva a un sedimentador en el que los sólidos se asientan rápidamente y forman el lodo, cuyo volumen es un 5% del volumen de regenerante utilizado. El sobrenadante contiene arsénico, cuya cantidad depende de la frecuencia de regeneración.

Estos filtros, pueden actuar en presencia de altas concentraciones iónicas de fondo, excepto las de fosfatos, que reducen mucho la capacidad de adsorción del arsénico. Se aconseja su uso para la remoción de As en aguas blandas, con alto contenido de sulfatos o clururos, para las que no son efectivas otras técnicas. Obtener un m^3 de agua cuesta unos 0,35 euros.

El Instituto Mexicano de Tecnología del Agua demostró la gran capacidad de los minerales ricos en óxidos de hierro y manganeso (hematita, ferromanganeso y dióxido de manganeso) para separar los arseniatos.

SULFATO DE ALUMINIO. La separación del arsénico coprecipitado con el hidróxido de aluminio (alúmina), producido en el agua por adición de sulfato de aluminio, depende del pH, lográndose la máxima para el As (V) con un pH < 7,0. Más eficaz para separar el As^{+5} que el As^{+3}, por lo que se debe oxidar preliminarmente. El sulfato de aluminio, coagula bien en un pH bajo entre 5 y 7,5 y si el agua tiene pocos minerales la coagulación es mejor a un pH de 5,7 a 6,6. Por eso, se debe postalcalinizar el agua con carbonato sódico o con cal, salvo las que tengan un pH poco alcalino (6,4 a 7,2) o muy alcalinas (7,2 a 7,8). El uso de sulfato de aluminio, es aplicable a aguas cuyas concentraciones de arsénico no sean muy elevadas, ya que la capacidad de adsorción del gel de hidróxido de aluminio, es tres veces menor que la del gel de hidróxido de hierro, por lo que se necesita emplear dosis muy elevadas, del orden de los 100 mg/L. Los coágulos de hidróxido de aluminio son finos y tardan en sedimentar.

PRECIPITACIÓN CON HIERRO. El arsénico se adsorbe mejor en los hidróxidos de hierro que en la alúmina. Los resultados obtenidos usando arena recubierta con óxidos de hierro son notables, sin apenas desorción. Su principal desventaja es la complejidad del procedimiento de acondicionamiento del medio.

El arsénico coprecipita naturalmente con el hierro del agua, según Gallagher y cols. (2004), que estudiaron diez aguas de USA, con diferentes razones As(III)/As(V), de las que seis tenian suficiente hierro para coprecipitar con el arsénico. La conservación del agua durante 75 días redujo un 40% la concentración de arsénico nativo al formarse precipitados de Fe/As. En esos precipitados, la proporción de As(V) respecto a la del As(III) era superior a la distribucion original. Una vez eliminado el precipitado de Fe/As de la solución usando filtros de 0,45 y 0,2 microm, la concentración restante de arsénico (As(III) + As(V)) fue relativamente constante. La adición de ácido acético, impide la formación del precipitado de Fe/As, que se produce en aguas no tratadas, aunque en una muestra bajó 4,3 ng/g y en otra 7,8 ng/g la concentración de As(III), es decir

quedó en el 10% de la distribución inicial. El tratamiento con EDTA/acético, elimina los precipitados de Fe/As.

La cantidad necesaria de hidroxido o de sal de hierro depende del agua cruda a tratar, y de la filtrabilidad de lo flóculos. Tienen gran especificidad por el As y sus costos no son muy elevados.

La absorción del As(V) en el óxido amorfo de hierro, u óxido férrico hidratado (HFO) y en la goetita elimina el 50-75% del arsénico total en las primeras 24 horas, por cinéticas de primer orden; a pH inferior a 5-6. El pH en el que el As(V) y el As(III), se absorben en igual grado, depende de la razón sólido/solución y del tipo y del área de superficie específica de los minerales, siendo bajo en presencia de fosfatos, los cuales compiten con los lugares de absorción (Dixit y cols., 2003).

Daus y cols. (2004) obtuvieron estas secuencias de las cinéticas de absorción del arseniato, en baño y en columna, para cinco adsorbentes.

SULFATO FERROSO. El coagulante más usado es el sulfato ferroso heptahidratado ($FeSO_4.7H_2O$), que se puede utilizar con aguas turbias, o duras, poco coloreadas, pudiendo coagular en una amplia gama de pH. Más soluble que el sulfato férrico, en aguas muy bicarbonatadas, deja menos hierro disuelto. Es relativamente barato. Los flóculos que genera de hidróxido de hierro insoluble, son muy densos, adsroben mucho y sedimentan fácilmente, razón por la cual el tamaño de los tanques de sedimentación pueden ser relativamente pequeños.

Se utilizan como oxidantes cloro o hipocloritos, para pasar el hidróxido ferroso poco adsorbente a hidróxido férrico muy adsorbente, asegurando la completa oxidación. Si se prealcaliniza la dosis de cal, no se debe elevar el pH a más de 8, pues habría que aumentar demasiado la dosis de coagulante. Si bien, la elevación del pH del agua no redisuelve el coágulo de hidróxido férrico, encierra el peligro de una cesión más rápida del arsénico al envejecer el coágulo. En todos los casos, debe procederse a la filtración del agua coagulada, para evitar el contacto permanente con el coágulo sedimentado.

El uso de este tipo de coagulante, ofrece la ventaja de que durante el proceso de oxidación del sulfato ferroso con el cloro, una sobredosis del cloro actuará simultáneamente como desinfectante.

El sulfato ferroso con cloro, forma cloruro y sulfato férricos (caparrosa clorada); 30 a 40 mg/L de sulfato ferroso clorado, a pH 7,5, elimina totalmente el arsénico:

$$6FeSO_4.7H_2O + 3Cl_2 \Rightarrow 2FeCl_3 + 2Fe_2(SO_4)_3 + 42H_2O$$

(1 mg de sulfato ferroso requiere 0,23 mg de cloro para oxidarse)

El sulfato ferroso clorado es un coagulante muy eficiente para las aguas arsenicales. Coagula entre los pH de 6,5 a 8, es decir, para la mayoría de las aguas,

incluso las freáticas. Concentraciones elevadas de sulfatos y cloruros no modifican la capacidad adsorbente del coágulo.

SULFATO FÉRRICO. El sulfato férrico reacciona con el hidróxido ferroso o con los bicarbonatos cálcicos, dando hidróxido férrico:

$$Fe(SO4)_3 + 3Ca(OH)_2 \Rightarrow Fe(OH)_3 + 3CaSO_4$$

o bien,

$$Fe(SO4)_3 + 3Ca(HCO_3)_2 \Rightarrow 2Fe(OH)_3 + 3CaSO_4 + 6CO_2.$$

A medida que aumenta el pH del agua, disminuye la adsorción del arsénico, por lo que no se debe prealcalinizar. El sulfato ferroso clorado coagula en valores de pH entre 6,5 y 8,0, mientras que el sulfato ferroso requiere valores entre 9 y 11. Además, en un pH elevado, la desadsorción del arsénico del coágulo de óxido de hierro hidratado, es mucho más rápida.

Una vez formados los coágulos, se debe corregir el pH, pues si se prealcalinizara, requeriría más coagulante, ya que el aumentar el pH disminuye la adsorción de As por el coágulo de hidróxido de hierro.

CLORURO FÉRRICO. El cloruro férrico es mucho más efectivo que el sulfato de aluminio para precipitar al arsénico y es independiente del pH, en el rango de 5,5 a 7,0. La coagulación con cloruro férrico es más eficiente para el As^{+5} que para el As^{+3}, por lo que se debe oxidar previamente. En el agua se hidroliza según:

$$FeCl_3 + 3H_2O \Rightarrow Fe(OH)_3 + 3HCl$$

y si se adiciona hidróxido cálcico:

$$2FeCl_3 + 3Ca(OH)_2 \Rightarrow 3CaCl_2 + 2Fe(OH)_3.$$

PRECIPITACIÓN CON SALES DE MAGNESIO. Las sales de magnesio con cal, llevando el pH del agua aproximadamente a 12, forman un precipitado de hidróxido de magnesio que adsorbe el As contenido en el agua.

ABLANDAMIENTO CON CAL. El ablandamiento, es el sistema de rebajar la dureza del agua mediante la adición de hidróxido cálcico (cal apagada) $Ca(OH)_2$, al agua. Este método tiene un alto rendimiento para eliminar concentraciones de As^{+3} o de As^{+5} de 50 µg/L. Con un pH superior a 10,5 se elimina más del 90% del arsénico. Si el pH baja, el rendimiento disminuye a menos del 20%. Para que el agua sólo tenga 1µg/L, se necesita un tratamiento secundario así como si el agua tiene contaminantes, que modifican el proceso. El ablandamiento con cal produce muchos lodos residuales, que hay que transportar y/o tratar. La técnica del ablandamiento puede ser muy compleja para pequeños equipos.

OTROS ADSORBENTES DEL ARSÉNICO. Genc-Fuhrman y cols. (2004) vieron que el barro rojo neutralizado con agua del mar patentado «Bauxsol ac-

tivado» adsorbe los arseniatos del agua, en 3 horas y en 6 los arsenitos; en el pH de 4,5 adsorbe prácticamente todo el arsénico (V) y al de 8,5 el As(III), variando la eficacia según la concentración inicial del arsénico, siendo conveniente oxidar primero el As(III) a As(V). Otro adsorbente barato del arsénico es el cemento Portland. Kundu y cols. (2004), encontraron que quitaba el 95% de la concentración inicial de 0,2 mg/L de arseniatos y el 80% de la de arsenitos. La isoterma de Freundlich daba una mayor correlación que la de Langmuir. Se han utilizado subproductos de la fabricación de acero para tratar los efluentes de las minas con elevadas concentraciones de arsénico, entre ellos el polvo evaporado en frio, lejías y escorias, que reducen la concentración de arsénico desde la inicial de 25 mg/l, a menos de 0,5 de As(V) o de As(III) en 72 horas, es decir, más que el hierro cerovalente, y en menor grado el polvo precipitado electrostáticamente. Altas concentraciones de calcio a pH de 12, logrables por solucion de hidróxido cálcico, puede promover la formación de compuestos estables de calcio y arsénico. Cuando el pH inicial se ajusta a 4, aumenta la reducción del arsénico, probablemente por adsorción en los óxidos de hierro (Ahn y cols., 2003).

Para las aguas subterráneas, cuya agua es de mejor calidad, no es adecuado el tratamiento convencional por la complejidad de la operación, la cantidad del coagulante, los volúmenes del lodo producido y el costo. En estos casos, por lo general, el intercambio iónico o la adsorción sobre la alúmina activada resultan más factibles; no obstante, el costo de las resinas o de la alúmina activada, es alto aún para el tratamiento de pequeñas cantidades de agua, por lo que deben buscarse alternativas factibles de aplicación en pequeños sistemas de abastecimiento.

Se está ensayando la coagulación convencional con sales metálicas de sulfato de aluminio o cloruro férrico, junto con polímeros catiónicos para mejorar los resultados.

3.º ELECTROCOAGULACIÓN. ELECRODIÁLISIS. Investigadores de la Universidad Autónoma de México investigan la elecctrocoagulación, mediante una pila de electrolísis con electrodo de hierro, en el que, mejor que en los de titanio o aluminio, se deposita el arsénico. Esta técnica, reduce la concentración de arsénico de la fase acuosa a menos de 10 microg/L^{-1}. La eliminación del arsénico, aumenta con la densidad de la corriente entre los 0,65 y 1,53 $mAcm^{-2}$ (Ratna y cols., 2004), sin que se influya por el pH entre 6 y 8. La electrocoagulación, es más eficiente que la coagulación química con cloruro férrico para el As(III), que se oxida a As(V) y similar para el As(V), llegando a eliminar más del 90% de arsénico del agua, sin necesitar de adicionar sustancias químicas al agua que pueden cambiar sus propiedades, aunque se puede separar el As(V) por adsorción/complexación con un hidróxido metálico producido en el proceso. Si se emplea para el agua superficial requiere prefiltración.

4.º INTERCAMBIO IÓNICO. El intercambio de iones mejora los resultados de la coagulación-filtración. Hay que tener en cuenta, los efectos de la competencia entre iones y hasta que punto puede ser reciclada el agua residual (se trata de una solución saturada de sales).

Existe una secuencia en la selectividad para el intercambio de determinados iones. Los sulfatos, el selenio, el flúor y los nitratos y el conjunto de los sólidos disueltos, compiten con el arsénico y pueden afectar al intercambio. Las aguas con más de 120 mg de sulfatos por litro o de sólidos totales disueltos (TDS), superiores a 500 mg/L, no son adecuadas para el intercambio iónico. Las que tienen altos niveles de hierro o de TDS, pueden ser sometidas a un pretratamiento. Los sólidos disueltos y el hierro precipitado pueden comatar los filtros.

El tratamiento con series de columnas, podría mejorar la capacidad de retención de arsénico y permitir una menor frecuencia de regeneración.

El intercambio iónico, es un método de tratamiento de «punto de entrada», aplicable a pequeños abastecimientos como edificios o aún viviendas para reducir el arsénico. Inicialmente, se inyecta un oxidante, generalmente el cloro, para asegurar la oxidación del As(III) a As(V). Un tanque de retención, permite el adecuado tiempo de contacto entre el As y el oxidante.

ALÚMINA ACTIVADA. El óxido de aluminio, calentado a 800° C, es un intercambiador de iones, que se presenta en granulos, de los que un gramo despliega una superficie de 200-300 m^2, según el proceso de producción (alúmina F-1). Esta enorme superficie, confiere al producto una alta capacidad de adsorción de los iones del agua, necesitando un pH de 5,5 a 6,5, es decir bajo, para cargar positivamente a la alúmina, muy selectiva para el As^{+5} ($H_2AsO_4^-$), sobre el H_3AsO_3 (As^{+3}). También, retiene a los ácidos húmicos, al fluor, a los fluoruros y a otros sólidos disueltos, para cuya eliminación del agua es muy usada. En este proceso, influye en la separación del arsénico el pH, el estado de oxidación del arsénico, los iones competitivos, el tiempo de contacto, así como la disposición de los regenerantes y el tipo de alúmina usada. Los fosfatos y el selenio, el cloro y menos los sulfato, pueden competir por los sitios de adsorción, como muestra la siguiente relación: $OH^- > H_2AsO_4^- > Si(OH)_3O^- > F^- > HSeO_3^- > TOC > SO_4^{2-} > H_3AsO_3$. La presencia de muchos contaminantes obliga a aumentar la longitud y la carga de los cartuchos. La presencia de iones de calcio mejora la adsorción del As, porque carga positivamente la superficie de la alúmina. Es aplicable a abastecimientos domésticos, haciendo pasar el agua por un cilindro que contiene la alúmina activada, aunque la necesaria adición de acético dificulta su aplicación; el cartucho debe ser sustituido periódicamente o bien se debe regenerar la alúmina una vez agotada su capacidad de adsorción, lo que no es rentable, pues en cada regeneración se pierde un 5-10% de su capacidad. Si se sigue utilizando, superada la masa máxima de contaminante adsorbida, el filtro libera contaminantes en lugar de separarlos. Los sulfatos reducen la eficiencia del proceso. La regeneración se hace con sosa, enjuagando con ácido y lavando bien el cartucho. En los aparatos, se pueden depositar y crecer bacterias, por lo que se deben desinfectar periódicamente y depurar bacteriológicamente al agua tratada.

Los sustitutos de la alúmina F-1 no han dado buenos resultados; el trabajo y mantenimiento de los cartuchos y su regeneración pueden hacer complejo y

peligroso su uso en pequeños abastecimientos, y la regeneración disminuye el rendimiento. En las áreas rurales, se están desarrollando sistemas de tratamiento del arsénico usando arcillas naturales y activadas, seguidos de filtración. Como oxidante se usa el hipoclorito de calcio. Con está técnica se logra una remoción de arsénico de más del 95%.

Produce subproductos, principalmente salmuera, y 10 a 50 veces más concentrados de contaminantes que el agua cruda.

Útil para pequeños sistemas de agua subsuperficial, con pocos sulfatos y sólidos disueltos, y como un tratamiento secundario para la filtración y otros métodos más efectivos. Los costos de instalación son elevados.

La pérdida de un 15-20% del caudal, puede suponer problemas si el agua es escasa, y hasta obligar al reciclaje, incrementando costos.

LAS ARCILLAS NATURALES ACTIVADAS tienen interés en el medio rural, clorando el agua con hipoclorito cálcico, que oxida al As (III) para después de pasar por la arcilla, filtrar. Con esta técnica se logra una remoción de arsénico de más del 95%.

INTERCAMBIO IÓNICO POR RESINAS. Es un proceso físico y químico, en el cual los iones de una especie dada son desplazados de un material insoluble de intercambio (resina), por otros iones que se encuentran en solución. Separa efectivamente al arsénico en valores de pH entre 8 y 9. No obstante, el selenio, fluoruro, nitrato y sólidos disueltos totales, compiten con el arsénico y afectan a la duración del proceso. Las consideraciones que se tiene en este proceso, comprende el pH, iones competitivos, tipo de resina, alcalinidad, concentración de arsénico en el afluente, disposición de la resina y los regenerantes usados, efectos secundarios de la calidad del agua y los parámetros de diseño de la operación.

La resina básica de intercambio iónico adsorbe los iones con la siguiente preferencia: $HCrO4^- > CrO_4^{2-} > ClO_4^- > SeO_4^{2-} > SO_4^{2-} > NO_3^- > Br^- > (HPO_4^{2-}, HAsO_4^{2-}, SeO_3^{2-}, CO_3^{2-}) > CN^- > NO_2^- > Cl^- > (H_2PO_4^{2-}, H_2AsO_4^-, HCO_3^-) > OH^- > CH_3COO^- > F^-$.

Dado que la resina aniónica es envenenada con cloro, hierro, manganeso y con la mayoría de sustancias orgánicas, que pueden encontrarse presentes en el agua, debe removérselos previamente con un filtro GAC (carbón activado granulado), que los adsorbe.

El paso final, es la instalación de una unidad intercambiadora de aniones de base fuerte de tipo II. Generalmente se trata de resinas de poliestireno. En ella, es removido el As, junto a sulfatos, nitratos y nitritos. La regeneración se realiza con cloruro de sodio. Los períodos de tiempo entre regeneraciones consecutivas se calculan utilizando los parámetros utilizados en los sistemas de remoción de nitratos.

Durante la regeneración del lecho de resinas, se produce una solución residual, que podrá presentar una alta concentración de As y otros contaminantes. Puede presentar altos costos para ser tratada o dispuesta.

A partir de diferentes investigaciones, se ha llegado a la conclusión de que la solución residual puede ser reutilizada como regenerante hasta 25 veces, para minimizar el volumen de residuo generado.

Una vez instalado, el costo de operación para la mayoría de tipos de aguas es bajo. La reducción del As es del 95-97%.

Debe tenerse en cuenta, que no se obtiene ningún efecto de ablandamiento del agua al utilizar resinas aniónicas. Sólo se logra la remoción de arsénico, nitratos y nitritos.

INTERCAMBIO DE IONES POR MEDIO DE JABONES. Los jabones son combinaciones de ácidos grasos superiores, es decir los que componen los aceites y grasas más comunes con cationes alcalinos o alcalinotérreos, sustituibles estos por cationes trivalentes de Fe (III) o Cr (III), formando jabones metálicos, apenas solubles.

El estearato de hierro (III) inocuo, o el estearato sódico y $FeCl_3$ en cantidades estequiométricas, son utilizables como corrector-depurador del agua. Parte del estearato de hierro, pasa a estearato de arsénico en proporción a la concentración de hierro respecto al arsénico disuelto en el agua; hay que optimizar la cantidad de estearato de hierro añadida, teniendo en cuenta que es un reactivo caro y que su exceso aumenta el precipitado, de modo que cada agua requiere una concentración óptima del estearato. Puede ser rentable, si la concentración de arsénico es alta. Se debe hacer la precipitación en dos fases, una para reducir su concentración hasta 0,775 mg/L y con el filtrado repetir la operación. Se mezcla bien el agua a tratar con estearato de hierro, en una cantidad en la que el hierro sea 100 a 300 veces superior a la del arsénico del agua y, después de unos minutos de reposo se filtra por algodón, dejando secar al precipitado sin manejarlo, dado su elevado contenido en arsénico, que podrá recuperar la industria química especializada. El agua así tratada queda con unos 0,010 mg/L de As.

El método es sencillo, aplicable a todo tipo de abstecimiento; fácil de manejar, genera pocos residuos. No aportar carga salina a las aguas tratadas; al contrario, la naturaleza del reactivo/filtro, hace que los sólidos y sales totales del sistema acuoso en tratamiento puedan reducirse en condiciones adecuadas de uso. El proceso, se adapta perfectamente al uso combinado con otros tratamientos y/o reactivos o en su reemplazo.

Si bien algunos sistemas acuosos naturales pueden presentar un grado de complejidad elevado, es dudoso el surgimiento de incompatibilidades serias.

5.º ÓSMOSIS INVERSA O HIPERFILTRACIÓN. Es el proceso de separación de contaminantes inorgánicos, tales como el plomo, antimonio, bario, berilio, cadmio, cromo, cobre, flúor, selenio y talio, compuestos orgánicos inclu-

so los sintéticos y radionúclidos, disueltos en el agua. No es útil para eliminar los compuestos orgánicos volátiles.

Se basa en forzar el paso del agua a través de una membrana semipermeable por la acción de una presión hidrostática superior a la osmótica.

Si se separan dos líquidos con diferentes concentraciones de una misma sal disuelta por una membrana semipermeable, el solvente de la solución más diluida pasa a través de la membrana hacia el compartimento con la solución más concentrada, cuyo volumen aumenta. La diferencia de altura de la columna hidrostática generada por ese movimiento, es el valor correspondiente a la presión osmótica. Si se aplica a la solución concentrada una presión ligeramente superior a la presión osmótica, se invierte el sentido del flujo del solvente a través de la membrana. La presión osmótica es proporcional a la diferencia de concentraciones de las dos soluciones, según la ley de Raoult.

En la práctica, hace falta aplicar una presión entre 5 y 20 veces superior a la presión osmótica, es decir, unas 14 a 65 atmósferas.

La membrana, es el elemento separador del soluto del solvente en el que está disuelto. Las membranas deben tener un alto poder separador, llamado «rechazo de membrana», que indica la relación entre la concentración del contaminante del agua tratada y la concentración del mismo en el agua sin tratar. Las membranas obtenidas sintéticamente, constan de una capa densa microporosa que rechaza el soluto a la vez que limita el flujo del solvente y, de una capa soporte esponjosa de poro mucho más abierto. Se suelen fabricar con diferentes polímeros, como el acetato de celulosa y las poliamidas.

La planta de tratamiento está dividida en tres secciones:

1. Sección de pretratamiento con ácido sulfúrico y con reactivos antiincrustantes, para impedir la colmatación de las membranas con partículas y con sustancias adsorbidas. Influye mucho en los costos de instalación y operación. Deben acoplarse con una oxidación para que el As (III) pase a As (V), menos tóxico y que es retenido mejor por la membrana.
2. Sección de sistema hidráulico y de bombeo para proporcionar la presión necesaria para un caudal adecuado. Las bombas y su utilización son muy costosas.
3. Sección modular o de separación. Consta del conjunto de módulos ordenados para obtener el caudal y la calidad del agua deseada.

La ósmosis inversa se emplea mucho actualmente para desalar el agua, ya que permite recuperar un 75%, de agua, variando la proporción con la salinidad del agua cruda. Es hoy la tecnología más adecuada para separar el arsénico, teniendo una eficacia superior al 95% para separar el arsénico disuelto; aún mejorable si se opera a presiones ideales. Esto ha llevado a sugerir mezclar aguas

tratadas con agua cruda para el consumo, para disponer de más caudal sin superar los valores de As permisible, pero naturalmente esto daría lugar a una menor calidad del agua. El rendimiento disminuye con la turbidez del agua, por lo que está más indicado para quitar el arsénico de aguas limpias como las subterráneas y, si se usa para el agua superficial debe filtrarse; también disminuyen el rendimiento el cloruro sódico, el hierro, el manganeso y la sílice del agua. Más de 25 mg/L de sulfatos, inhiben el funcionamiento de las membranas y la cloración las deteriora. Al no ser las membranas específicas para el arsénico, permite quitar del agua a otras muchas sustancias, como los carbonatos de calcio y de magnesio y sulfatos que producen mal olor, mejorando mucho su calidad química. Es una técnica cara.

La ósmosis inversa desperdicia mucho agua, lo que es un problema en donde esta es escasa, y el agua de desecho contiene muchas sales.

El costo del tratamiento depende de la instalación, del caudal a tratar, de la concentración del arsénico y de otros contaminantes, del rendimiento deseado, del pretratamiento empleado, del costo de la energía, que suele ser de 15 kW y de la calidad de los filtros, de modo que puede suponer unos 0,25 euros por m^3 de agua tratada. Dadas su características, la ósmosis inversa, se adapta bien a los métodos POU, es decir, a abastecimientos domésticos; un estudio efectuado en el pueblo de San Isidro, de 200 habitantes, en Nuevo México (EE.UU), demostró su utilidad, eliminando el 86% del arsénico total, a un coste aceptable.

6.º NANOFILTRACIÓN. Es un procedimiento de ósmosis inversa, en el que los poros de la membrana semipermeable tienen 0,005 a 0,001 micrones, lo que permite que una presión hidrostática baja deje pasar solventes, sales monovalentes, iones metálicos y moléculas orgánicas de 200 a 1.000 de pm. Puede separar hasta el 80% del As^{+3} y, sobre todo del As^{+5}, disueltos en el agua y, aún da mayor rendimiento si se reciclan las soluciones residuales. Como requiere aguas con escasas partículas sólidas o coloidales suspendidas, no es adecuado para las aguas superficiales. La remoción depende de los parámetros de la operación, de las propiedades de la membrana y del estado de oxidación del arsénico. Es un método caro, aunque la presión es menor que la necesaria en la ósmosis inversa, por el gasto de energía. Automatizable, por lo que es adecuada para pequeños abastecimientos. Dado el pequeño diámetro del poro se colmata fácilmente. Con una reducción del 65%, de la concentración inicial de arsénico, se pierde el 35% del agua tratada, lo que debe tenerse en cuenta si hay escasez de agua.

El desarrollo de nuevas membranas de nanofiltración (NF) con alta selectividad y permeabilidad, a bajas presiones de operación (bajo costo) son efectivas para extraer iones divalentes, entre ellos el $HAsO_4^{2-}$. Útil para grupos familiares que residan en zonas alejadas y que no dispongan de un suministro adecuado. Bajo costo de instalacion y mantenimiento.

Los coagulantes señalados se hidrolizan formando hidróxidos, sobre los cuales el As^{+5} se adsorbe y coprecipita con otros iones metálicos. De acuerdo con

la literatura, aguas naturales con gran cantidad de coloides requieren de altas concentraciones de coagulantes para lograr eficiencias de remoción semejantes a las señaladas en la siguiente Tabla:

Coagulante	Arseniato(As^{+5})	Arsenito (As^{+3})
Remoción (%) pH	Remoción (%) pH	
Sulfato férrico $Fe_2(SO4)_3$	100 < 9,0	20 < 9,0
Sulfato de alumina $Al_2(SO_4)_3$	90 < 7,0	50 < 7,0

Probablemente, los mecanismos que rigen la remoción del arsénico (soluto) por las arcillas y/o hidróxidos metálicos (sorbentes) dependan de interacciones moleculares del sistema arsénico/agua/hidróxido-arcilla, donde se establecen enlaces, que permiten que las superficies activas complejen al arsénico presente en el agua por reacciones químicas intermoleculares entre el arsénico y la superficie activa, y entre el arsénico y el agua. Para favorecer la adsorción, se debe asegurar el mayor contacto posible entre las dos fases, por ello resulta de fundamental importancia las reacciones entre el arsénico y la superficie, mediante enlaces coordinados formados por hidrólisis, complejación superficial, intercambio de ligantes y enlace de hidrógeno.

También son de importancia las interacciones eléctricas en la superficie (electrostática y de polarización) y las interacciones del arsénico con el agua (dependientes del pH y pE del medio).

RESIDUOS DE LA DESCONTAMINACIÓN ARSENICAL DEL AGUA

La descontaminación mediante coagulación, intercambio iónico, especialmente con alúmina activada, la ósmosis inversa y la nanofiltración, generan gran cantidad de residuos con alto contenido arsenical, difíciles de manejar, ya que no es posible su incineración ni su destrucción. Sólo se pueden evacuar por el alcantarillado los barros, cienos o lodos, que puedan contener en algunos instantes, al menos 0,5 mg (aunque para algunos el límite debe ser 1 mg) de arsénico por litro, pues el arsénico dificulta la depuración biológica de los mismos y luego contamina el suelo y el agua. Tampoco se deben infiltrar en el subsuelo.

La EPA (norma de Estados Unidos) considera residuos peligrosos los lodos, que contienen más de 5 mg de arsénico por litro, mientras que en Argentina para llevarlos al alcantarillado se exige que no llegue a 0,1 mg/L. Caso de superarlos, se debe estabilizar, inmovilizar al arsénico o encapsular a los lodos o trasferirlos a la industria química especializada, que en el futuro podrá recuperar al arsénico.

Los lodos se pueden deshidratar, por ejemplo, en lechos de secado y, si pasan los tests de lixiviado, se pueden emplear para relleno en vertederos controlados, lo que obliga a disponer de suficiente terreno cercano, sin riesgo de contaminar las aguas freáticas. Los residuos de los intercambiadores con resinas no se deben incinerar, pero se puede obtener arsénico de ellos. Las SALMUERAS, muy importantes en las plantas de ósmósis inversa, tienen una alta carga de arsénico y deben ser sometidas a postratamientos, extrayendo el arsénico de la salmuera con hidróxidos metálicos, y agregando la salmuera tratada al permeado inicial.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (1993): In: ATSDR Toxicological Profile for Arsenic. Atlanta, GA. US Department of Health and Human Services, Public Health Services.

AHSAN, H.; CHEN, Y.; PARVEZ, F.; ZABLOTSKA, L.; ARGOS, M.; HUSSAIN, I.; MOMOTAJ, H.; LEVY, D.; CHENG, Z.; SLAVKOVICH, V.; VAN GEEN, A.; HOWE, G. R., GRAZIANO, J. H: Arsenic Exposure from Drinking Water and Risk of Premalignant Skin Lesions in Bangladesh: Baseline Results from the Health Effects of Arsenic Longitudinal Study. *Am J Epidemiol.* 19 de abril de 2006.

AMBROSI, L., AMICARELLI, V. I. (1982): La cronistoria degli avvenimiento. *La medicina del lavoro,* **3:** 271.

AMICARELLI, V., DOMPI, M. (1982): Il processo tecnologico. *Med. Lavoro, Suppl.* al n. 3, 276-277.

APOSHIAN, HV., APOSHIAN, M. M. (1992): Meao-2,3-dimercaptosuccinic acid: Chemical, pharmacological and toxicological properties of arsenic orally efective metal chelating agent. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **30:** 279-306.

ARGUMOSA, J. A. (1948): *Rev. Clín. Esp.* **31:** 267.

— (1952): Intoxicación arsénico profesional. *Rev. Clín. Esp.* 44: 155.

ARIMA, K., BEPPU, M. (1964): *J Bacteriol.* **88:** 143.

AYOTTE, J. D.; BARIS, D.; CANTOR, K. P.; COLT, J.; ROBINSON, G. R. JR.; LUBIN, J. H.; KARAGAS, M.; HOOVER, R. N.; FRAUMENI, J. F. JR., SILVERMAN, D. T. (2006): Bladder cancer mortality and private well use in New England: an ecological study. *J Epidemiol Community Health.* **60:** 168-72.

BAADER, E W. (1952): Elefantiasis en un obrero de la fundición de arsénico de Reichenstein (Silesia). *Med Seg en el Trabajo* **1:** 7.

BAKER, E. L.; HAYES, C. G., LANDRIGAN, P. J., y cols. (1977): A notion wide survey of heavy metals absorption in children living near primary copper lead and zinc smelters. *Am J Epidemiol* **106:** 267-73.

BASHIR, S.; SHARMA, Y.; IRSHAD, M.; GUPTA, S. D., DOGRA, T. D. (2006): Arsenic-induced cell death in liver and brain of experimental rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* **98:** 38-43.

BASU, A.; GHOSH, P.; DAS, J. K.; BANERJEE, A.; RAY, K., GIRI, A. K. (2004): Micronuclei as biomarkers of carcinogen exposure in populations exposed to arsenic through drinking agua in West Bengal, India: a comparative study in three cell types. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* **13:** 820-7.

BASU, A.; KUMAR, S., MUKHERJEE, S. (2003): Arsenic reduction from aqueous environment by agua lettuce (Pistia stratiotes L.). *Indian J Environ Health.* **45:** 143-50.

BATES, M. N.; REY, O. A.; BIGGS, M. L.; HOPENHAYN, C.; MOORE, L. E.; KALMAN, D.; STEINMAUS, C., SMITH, A H. (2004): Case-control study of bladder cancer and exposure to arsenic in Argentina. *Am J Epidemiol.* **159:** 381-9.

Beane Freeman, L. E.; Dennis, L. K.; Lynch, C. F.; Thorne, P. S., Just, C. L. (2004): Toenail arsenic content and cutaneous melanoma in Iowa. *Am J Epidemiol.* **160:** 679-87.

Berbel-García, A.; González-Aguirre, J. M.; Botia-Paniagua, E.; Orts-Castro, E.; López-Zuazo, I.; Rodríguez-García, J. L., Gil-Madre, J. (2004): Acute polyneuropathy and encephalopathy caused by arsenic poisoning. *Rev Neurol.* **38:** 928-30.

Blot, W. J.; Brown, L. M.; Pottern, L. M., Fraumeni, J. F. (1986): Lung Cáncer Mortality among Men living near an Arsenic-emitting smelter. *American J. of Epidemiology* **124:** n.º 1.

Bohrer, D.; Becker, E.; Nascimento, P. C.; Morschbacher, V.; de Carvalho, L. M.; da Silva, Marques, M.: Arsenic release from glass containers by action of intravenous nutrition formulation constituents. *Int J Pharm.* 16 de abril de 2006.

Brown, M.; Pottern, M., Blot, W. J. (1984): Lung cancer in relation to environmental pollutants emitted from industrial sources. *Environ Res* **34:** 250-61.

Brown, M. M.; Rhyne, B. C.; Goyer, R. A., Fowler, B. A. (1976): Intracellular efectos of chronic arsenic administration on renal proximal tubule cells. *J. Toxicol Environ Health* **1:** 505.

Buchet, J. P., Lauwerys, R. (1994): Consommation de poissons et exposition á l'arsenic. *Arch Public Health.* **52:** 171-174.

Buchet, J. P.; Lauwerys, J. P., Roels, H. (1980): Comparison of several methods for the determination of arsenic compounds in water and in uine. Their application for the study of arsenic metabolism and for the monitoring of workers exposed to arsenic. In: *Arch Occup Environ Health* **46:** 11-29.

— (1981): Comparison of the Urinary Excretion of Arsenic Metabolites Después a Single Oral Dose of Sodium Arsenite Monomethylarsonate, or Dimethylarsinate in Man*. *Int Arch Occup Environ Health* **48:** 71-79.

— (1981): Urinary Excretion of Inorganic Arsenic and its Metabolites later repeated Ingestion of Sodium Metaarsenite by Volunteers. *Int Arch Occup Environ Health* **48:** 111-118.

Cai, Y.; Su, J., Ma, L. Q. (2004): Low molecular weight thiols in arsenic hyperaccumulator Pteris vittata upon exposure to arsenic and other trace elements. *Environ Pollut.* **129:** 69-78.

Cánovas, D.; Durán, C.; Rodríguez, N.; Amils, R., de Lorenzo, V. (2003): Testing the limits of biological tolerance to arsenic in a fungus isolated from the River Tinto. *Environ Microbiol.* **5:** 133-8.

Carepo, M. S.; Azevedo, J. S.; Porto, J. I.; Bentes-Sousa, A. R.; Batista, J. da, S., Silva, A. L., Schneider, M. P. (2004): Identification of Chromobacterium violaceum genes with potential biotechnological application in environmental detoxification. *Genet Mol Res.* **3:** 181-94.

Casiot, C.; Bruneel, O.; Personne, J. C.; Leblanc, M., Elbaz-Poulichet, F. (2004): Arsenic oxidation and bioaccumulation by the acidophilic protozoan, Euglena mutabilis, in acid mine drainage (Carnoulas, France). *Sci Total Environ.* **320:** 259-67.

Cebrian, M. E.; Albores, A., Aguilar, M. y cols. (1983): Chronic Poisoning in the north of Mexico. *Hum Toxicol.* **2:** 121-133.

Chen, Y., Ahsan, H. (2004): Cancer burden from arsenic in drinking water in Bangladesh. *Am J Public Health.* **94:** 741-4.

Cheng, Z.; Van Geen, A.; Jing, C.; Meng, X.; Seddique, A., Ahmed, K. M. (2004): Performance of a household-level arsenic removal system during 4-month deployments in Bangladesh. *Environ Sci Technol.* **15, 38:** 3442-8.

Chiu, H. F.; Ho, S. C.; Wang, L. Y.; Wu, T. N.; Yang, C. Y.; Chiu, H. F.; Ho, S. C.; Wang, L. Y.; Wu, T. N., Yang, C. Y. (2004): Does arsenic exposure increase the risk for liver cancer. *J Toxicol Environ Health A.* **67:** 1491-500.

CHOU, W. C.; JIE, C.; KENEDY, A. A.; JONES, R. J.; TRUSH, M. A., DANG, C. V. (2004): Role of NADPH oxidase in arsenic-induced reactive oxygen species formación and cytotoxicity in myeloid leukemia cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* **101:** 4578-83.

CLARK, I. D., RAVEN, K. G. (2004): Sources and circulation of water and arsenic in the Giant Mine, Yellowknife, NWT, Canada. *Isotopes Environ Health Stud.* **40:** 115-28.

DEL PRADO, C. (1852): *Revista Minera,* **6.**

DÍAZ, Z.; COLOMBO, M.; MANN, K. K.; SU, H.; SMITH, K. N.; BOHLE, D. S.; SCHIPPER, H. M.; MILLER, W. H. JR. (2005): Trolox selectively enhances arsenic-mediated oxidative stress and apoptosis in APL and other malignant cell lines. *Blood.* **105:** 1237-45.

DOIGNON, J.; PARANT, M.; LARCHE-MOCHEL, M. y cols. (1983): Enquete épidemiologique sur l'arsenicisme urinaire chez de viticultaires manipulant de l'arsenite de sodium. *Arch Mal Prof.* **44:** 138.

DONE, A. K., PEARL, A. J. (1971): Acute toxicities of arsenic herbicides. *Clin. Toxicol.* **4:** 343.

DONG, R.; FORMENTIN, E.; LOSSESO, C.; CARIMI, F.; BENEDETTI, P.; TERZI, M., SCHIAVO, F. L.: Molecular cloning and characterization of a phytochelatin synthase gene, PvPCS1, from Pteris vittata L. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 2005 May 26 [Epub ahead of print].

DURANT, J. L.; IVUSHKINA, T.; MACLAUGHLIN, K.; LUKACS, H.; GAWEL, J.; SENN, D., HEMOND, H. F. (2004): Elevated levels of arsenic in the sediments of an urban pond: sources, distribución and water quality impacts. *Agua Res.* **38:** 2989-3000.

ELBEKAI, R. H., EL-KADI, A. O. (2004): Modulation of aryl hydrocarbon receptor-regulated gene expression by arsenite, cadmium, and chromium. *Toxicology.* **1, 202:** 249-69.

ENGEL, R. R., SMITH, J. H. (1994): Arsenic in drinking water and mortality from vascular disease: An ecological analysis in 30 countries in the United States. *Arch. Environ Health* **49:** 418-428.

ENTERLINE, P. E.; HENDERSON, V. L., MARSH, G. M. (1987): Exposure to Arsenic and respiratory. *Cancer Amerlcan J of Hygiene* **125:** 929-38.

EPA (1984): Health assessment document for inorganic arsenic. Final report research Triangle Park. NC: US Environmental Protection Agency, Environmental Criteria and Assessment Office, 2 1 3 22, 9 1 4 4. EPA 600/8 83 021 F.

EPA (1987): Special Report on Ingested Inorganic Arsenic: Skin Cancer and Nutritional Essentiality. Risk Assessment Form. Washington, DC: H.S. Environmental Protection Agency.

FATTORINI, D.; ALONSO-HERNÁNDEZ, C. M.; DÍAZ-ASENCIO, M., MUNOZ-CARAVACA, A. (2004): Pannacciulli. Chemical speciation of arsenic in different marine organisms: Importance in monitoring studies. *Mar Environ Res.* **58:** 845-50.

FATTORINI, D.; BOCCHETTI, R.; BOMPADRE, S., REGOLI, F. (2004): Total content and chemical speciation of arsenic in the polychaete Sabella spallanzanii. *Mar Environ Res.* **58:** 839-43.

FERNÁNDEZ APERRIBA, A. (1954): Un caso de atrofia muscular con retracción tendinsa consecutiva a una polineuropatía. *Medicamenta*.

FEUSSNER, J. R.; SHELBURNE, J. D.; BREDEHOEFT, S., COHEN, H. J. (1979): Arsenic Induced Bone Marrow Toxicity Ultrastructural and Electron Probe Analysis. *Blood.* **63:** 820.

FIFTH REPORT OF THE MEDICAL OFFICER (1863): (Dr. Guy) to the Privy Council.

FISHER, S.; HOLLEY, H. L., FEIN, G. (1947): Agranulocytosis folloming intensive arsenotherapy for syphilis. *Arch Derniatol* **55:** 57.

FOLWACZNY, M.; HEYM, R.; MEHL, A., HICKEL, R. (2004): The efectoiveness of InGaAsP diode laser radiation to detect subgingival calculus as compared to an explorer. *J Periodontol*. **75:** 744-9.

FORD, T.; JAY, J.; PATEL, A.; KILE, M.; PROMMASITH, P.; GALLOWAY, T.; SANGER, R.; SMITH, K., DEPLEDGE, M. (2005): Use of ecotoxicological tools to evaluate the health of New Bedford Harbor sediments: a microbial biomarker approach. *Environ Health Perspect.* **113:** 186-91.

Fowler, B A., Weissberg, J. B. (1974): Arsine poisoning. *N. Engl. J. Med.* **291:** 1171-11.
Fuertes, M. (1884): *Minerología asturiana.* Oviedo.
Fujino, Y.; Guo, X.; Liu, J.; Matthews, I. P.; Shirane, K.; Wu, K.; Kasai, H.; Miyatake, M.; Tanabe, K.; Kusuda, T., Yoshimura, T. (2005): Chronic arsenic exposure and urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in an arsenic-affected area in Inner Mongolia, China. *J Expo Anal Environ Epidemiol.* **15:** 147-52.
Fytianos, K., Christophoridis, C. (2004): Nitrate, arsenic and chloride pollution of drinking water in Northern Greece. Elaboration by applying GIS. *Environ Monit Assess.* **93:** 55-67.
Gailer, J.; Ruprecht, L.; Reitmeir, P.; Benker, B., Schramel, P. (2004): *Appl. Organometal. Chem.* **18:** 670-675.
Gallagher, P. A.; Schwegel, C. A.; Parks, A.; Gamble, B. M.; Wymer, L., Creed, J. T. (2004): Preservation of As(III) and As(V) in drinking water supply samples from across the United States using EDTA and acetic acid as a means of minimizing iron-arsenic coprecipitation. *Environ Sci Technol.* **15; 38:** 2919-27.
Genc-Fuhrman, H.; Tjell, J. C., McConchie, D. (2004): Adsorption of arsenic from water using activated neutralized red mud. *Environ Sci Technol.* **38:** 2428-34.
Genicot, Y. de M. (2004): Use of PFGE to characterize clonal relationships among Belgian clinical isolates of Listeria monocytogenes. *J Med Microbiol.* **53:** 399-402.
Gentry, P. R.; Covington, T. R.; Mann, S.; Shipp, A. M.; Yager, J. W., Clewell, H. J. (2004): Physiologically based pharmacokinetic modeling of arsenic in the mouse. *J. Toxicol Environ Health A.* **67:** 43-71.
Ghen, C. J.; Chuang, Y. C., You, S. L. y cols. (1986): A retrospective study on malignant neoplasms of bladder, lung and liver in Taiwan. *Brit. J Cancer* **53:** 399-405.
Gongalsky, K. B.; Chudnyavtseva, I. I.; Pokarzhevskii, A. D.; Samonov, A. E., Slobodyan, V. Y. (2004): Arsenic bioaccumulation by beetles in an arsenic-rich region. *Bull Environ Contam Toxicol.* **72:** 1115-21.
Ghosh, A. K.; Bhattacharyya, P., Pal, R. (2004): Efect of arsenic contamination on microbial biomass and its activities in arsenic contamined soils of Gangetic West Bengal, India. *Environ Int.* **30:** 491-9.
Greaves, W. W.; Rom, W. N., Lyon, J. L., y cols. (1981): Relationship entre lung Cancer and distance of residence from non-ferrous smelter stack eff1uent. *Am J Ind Med* **2:** 15-23.
Guatelli, M. A.; Gallego, N. A., Neira, N. (1971): Estudio del contenido de arsénico en alimentos marinos a nivel de consumo. *Anales Real Academia de Farmacia* **37:** 117.
Guha Mazumder, D. N.; Das Gupta, J.; Chakraborty, A. K.; Chatterjee, A.; Das, D., Chakraborti, D. (1982): Environmental pollution and chronic arsenicosis in South Calcutta. *Archives of Environ. Health.* **70:** 485.
Guo, H. R. (2004): Arsenic level in drinking water and mortality of lung cancer (Taiwan). *Cancer Causes Control.* **15:** 171-7.
Gupta, D. K.; Tohoyama, H.; Joho, M., Inouhe, M. (2004): Changes in the levels of phytochelatins and related metal-binding peptides in chickpea seedlings exposed to arsenic and different heavy metal ions. *J Plant Res.* **117:** 253-6.
Hamon, R. E.; Lombi, E.; Fortunati, P.; Nolan, A. L., McLaughlin, M. J. (2004): Coupling speciation and isotope dilution techniques to study arsenic mobilization in the environment. *Environ Sci Technol.* **38:** 1794-8.
Hartwell, D.; Hardy, R. W.; Harris, B. S. y cols. (1983): Heavy metal exposure in populations living around zinc and copper, smelters. *Arch Environ Health* **38:** 284-95.
Hayakawa, T.; Kobayashi, Y.; Cui, X., Hirano, S. (2005): A new metabolic pathway of arsenite: arsenic-glutathione complexes are substrates for human arsenic methyltransferase Cyt19. *Arch Toxicol.* **79:** 183-91.

HERRERA POMBO, J. L.; RODRÍGUEZ MIÑÓN, J. L., ARRIETA, F. y cols. (1970): Un caso, de intoxicación arsenical confundible con otras melanodermias como el Addison. *Bol. Fund. Jímenez Díaz,* vol. 2, núm. 2.

HUANG, J. W.; POYNTON, C. Y.; KOCHIAN, L. V., ELLESS, M. P. (2004): Phytofiltration of arsenic from drinking water using arsenic-hyperaccumulating ferns. *Environ Sci Technol.* **38:** 3412-7.

HUSSAM, A.; HABIBUDDOWLA, M.; ALAUDDIN, M.; HOSSAIN, Z. A.; MUNIR, A. K., KHAN, A. H. (2003): Chemical fate of arsenic and other metals in groundagua of Bangladesh: experimental measurement and chemical equilibrium model. *Environ Sci Health Part A Tox Hazard Subst Environ Eng.* **38:** 71-86.

IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Volume 23 Some Metals and Metallic Compounds. WHO IARC. Lyon (1980).

ISLAM, F. S.; GAULT, A. G.; BOOTHMAN, C.; POLYA, D. A.; CHARNOCK, J. M.; CHATTERJEE, D., LLOYD, J. R. (2004): Role of metal-reducing bacteria in arsenic release from Bengal delta sediments. *Nature.* **430:** 68-71.

JAKOBSSON, B.; SÖDERBERG, H. A., GUNNAR, F. (1993): Biológical monitoring of arsenic, lead and cadmium in occupationally and environmentally exposed pregnant women. *Scand J Work Environ Health* **19:** 503.

JARUP, L., PERSHAGEN, G. (1991): Arsenic Exposure, Smoking, and Lung Cancer in Smelter Workers-A Case-Control Study. *Am J Epidemiol.* **134:** 545-51.

JAVELAUD, B.; MICHAL, G., LAUZE, J. (1983): De l'arsenicisme externe: effets de la contamination externe par les poussilbres arsenicales sur la peau et les muqueuses: a propos de 496 maladies professionnelles observées de 1943 à 1979 dans une fonderie de mispickel et d'une revue de la litterature. *Arch. mal. prof.* **44:** 183-192.

JIMI, S.; UCHIYAMA, M.; TAKAKI, A.; SUZUMIYA, J., HARA, S. (2004): Mechanisms of cell death induced by cadmium and arsenic. *Ann N Y Acad Sci.* **1011:** 325-31.

JIN, Y.; XI, S.; LI, X.; LU, C.; LI, G.; XU, Y.; QU, C.; NIU, Y., SUN, G.: Arsenic speciation transported through the placenta from mother mice to their newborn pups. *Environ Res.* 31 de enero de 2006.

KAGEY, B. T.; BUMGARNER, J. E.; CREASON, J. P. (1977): Arsenic levels in maternal-fetal tissue sets, in Hemphill OD (ed): Trace Substances in Environmental Health XI. Columbia: University of Missouri Press. 252-256.

KANNAN, G. M., FLORA, S. J. (2004): Chronic arsenic poisoning in the rat: treatment with combined administration of succimers and an antioxidant. *Ecotoxicol Environ Saf.* **58:** 37-43.

KAYAJANIAN, G. (2003): Arsenic, cancer, and thoughtless policy. *Ecotoxicol Environ Saf.* **55:** 139-42.

KOCAR, B. D., INSKEEP, W. P. (2003): Photochemical oxidation of As(III) in ferrioxalate solutions. *Environ Sci Technol.* **37:** 1581-8.

KHALIL, S.; LUCIANO, J.; CHEN, W., LIU, A. Y. (2006): Dynamic regulation and involvement of the heat shock transcriptional response in arsenic carcinogenesis. *J Cell.*

KIMURA, A.; ISHIDA, Y.; WADA, T.; YOKOYAMA, H.; MUKAIDA, N., KONDO, T. (2005): MRP-1 expression levels determine strain-specific susceptibility to sodium arsenic-induced renal injury entre C57BL/6 and BALB/c mice. *Toxicol Appl Pharmacol.* **203:** 53-61.

KOCAR, B. D.; GARROTT, R. A., INSKEEP, W. P. (2004): Elk exposure to arsenic in geothermal waterheds of Yellowstone National Park, USA. *Environ Toxicol Chem.* **23:** 982-9.

KOSTAL, J.; YANG, R.; WU, C. H.; MULCHANDANI, A., CHEN, W. (2004): Enhanced arsenic accumulation in engineered bacterial cells expressing ArsR. *Appl Environ Microbiol.* **70:** 4582-7.

KREPPEL, H.; BAUMAN, J. W., LIU, J., y cols. (1993): Induction of metallothionein by arsenics in mice. *Fund Appl. TbXicol.* **20:** 184-189.

Kubota, R.; Kunito, T.; Agusa, T.; Fujihara, J.; Monirith, I.; Iwata, H.; Subramanian, A.; Tana, T. S., Tanabe, S. (2006): Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in inhabitants chronically exposed to arsenic in groundwater in Cambodia. *J Environ Monit.* **8:** 293-9.

Kundu, S.; Pal, A.; Ghosh, S. K.; Mandal, M., Pal, T. (2004): Removal of arsenic from water using hardened paste of Portland cement. *Environ Technol.* **25:** 301-9.

Lafontaine, A. (1982): L'Arsenic, l'envionement et la santé. *Arch Belh de Med Soxc Hyg Med du Travail.* **30:** 222.

Lamm, S. H.; Engel, A.; Kruse, M. B.; Feinleib, M.; Byrd, D. M.; Lai, S., Wilson, R. (2004): Arsenic in drinking water and bladder cancer mortality in the United States: an analysis based on 133 U.S. counties and 30 años of observation. *J Occup Environ Med.* **46:** 298-306.

Lange, J. H. (2004): Arsenic exposure levels during cleanup of fly ash and dermatitis in an air sampling technician. *Bull Environ Contam Toxicol.* **72:** 1098-100.

Lech, T., Trela, F. (2005): Massive acute arsenic poisonings. *Forensic Sci Int.* **151:** 273-7.

Lee, T. C.; Ho, I. C.; Lu, W. J., Huang, J. D.: Enhanced expression of multidrug resistance-associated protein 2 and reduced expression of aquaglyceroporin 3 in an arsenic-resistant human cell line. *J Biol Chem.* 3 de mayo de 2006.

Li, Y.; Dankher, O. P.; Carreira, L.; Smith, A. P., Meagher, R. B.: The shoot-specific expression of gamma-glutamylcysteine synthetase directs the long-distance transport of thiol-peptides to roots conferring tolerance to mercury and arsenic. *Plant Physiol.* 31 de marzo de 2006.

Liao, W. T.; Chang, K. L.; Yu, C. L.; Chen, G. S.; Chang, L. W., Yu, H. S. (2004): Arsenic induces human keratinocyte apoptosis by the FAS/FAS ligand pathway, which correlates with alterations in nuclear factor-kappa B and activator protein-1 activity. *J Invest Dermatol.* **122:** 125-9.

Liu, Z.; Styblo, M., Rosen, B. P. (2006): Methylarsonous acid transport by aquaglyceroporins. *Environ Health Perspec.* **114:** 527-31.

Loffredo, C. A.; Aposhian, H. V.; Cebrian, M. E.; Yamauchi, H., Silbergeld, E. K. (2003): Variability in human metabolism of arsenic. *Environ Res.* **92:** 85-91.

López-Abente, G.; Aragonés, N.; Ramis, R.; Hernández-Barrera, V.; Pérez-Gómez, B.; Escolar-Pujolar, A., Pollan, M. (2006): Municipal distribution of bladder cancer mortality in Spain: possible role of mining and industry. *BMC Public Health.* **27; 6:** 17.

Lu, S. N.; Chow, N. H.; Wu, W. C.; Chang, T. T.; Huang, W. S.; Chen, S. C.; Lin, C. H., Carr, B. I. (2004): Characteristics of hepatocellular carcinoma in a high arsenicoism area in Taiwan: a case-control study. *J Occup Environ Med.* **46:** 437-41.

Lu, W. J.; Tamai, I.; Nezu, J. I.; Lai, M. L., Huang, J. D.: Organic anion transporting polypeptide-C mediates arsenic uptake in HEK-293 cells. *J Biomed Sci.* 15 de febrero de 2006.

Manley, S. A.; George, G. N.; Pickering, I. J.; Glass, R. S.; Prenner, E. J.; Yamdagni, R.; Wu, Q., Gailer, J. (2006): The Seleno Bis(S-glutathionyl) Arsinium Ion Is Assembled in Erythrocyte Lysate. *Chem Res Toxicol* **19:** 601-607.

Martínez, V.; Creus, A.; Venegas, W.; Arroyo, A.; Beck, J. P.; Gebel, T. W.; Surralles, J., Marcos, R. (2005): Micronuclei assessment in buccal cells of people environmentally exposed to arsenic in northern Chile. *Toxicol Lett.* **155:** 319-27.

Mehargm, A A., Rahman, M. M. (2003): Arsenic contamination of Bangladesh paddy field soils: implications for rice contribution to arsenic consumption. *Environ Sci Technol.* **37:** 229-34.

Menezes, R. A.; Amaral, C.; Delaúnay, A.; Toledano, M., Rodrigues-Pousada, C. (2004): Yap8p activation in Saccharomyces cerevisiae under arsenic conditions. *FEBS Lett.* **566:** 141-6.

MEZA, M. M.; KOPPLIN, M. J.; BURGESS, J. L., GANDOLFI, A. J. (2004): Arsenic drinking water exposure and urinary excretion among adults in the Yaqui Valley, Sonora, Mexico. *Environ Res.* **96:** 119-26.

MEZA, M. M.; YU, L.; RODRÍGUEZ, Y. Y.; GUILD, M.; THOMPSON, D.; GANDOLFI, A. J., KLIMECKI, W. T. (2005): Developmentally restricted genetic determinants of human arsenic metabolism: association between urinary methylated arsenic and CYT19 polymorphisms in children. *Environ Health Perspect.* **113:** 775-81.

MILHAM, S., STRONG, T. (1974): Human arsenic exposure in relation to a copper smelter. *Environ Res* **7:** 176-82.

MILIAN PARIS MÉDICAL (1921).

MINGANTI, V.; CORNARA, L.; PIANA, M.; CORALLO, A., MARIOTTI, M. G. (2004): Arsenic biomonitoring using a hyperaccumulator fern (Pteris vittata). *J Environ Monit.* **6:** 23-5.

MITCHEL, R. A.; CHANGE, B. F.; HUANG, C. H., DE MASTER, E. G. (1971): Inhibition of mitochondrial energy-linked functions by arsenate. *Biochemistry.* **10:** 2049-2054.

MUKHOPADHYAY, S., CHATTERJEE, S. (2003): Efect of arsenic on cell growth of the cellular slime mould, Dictyostelium discoideum. *Indian J Exp Biol.* **41:** 1300-5.

NARVÁEZ, J.; RICHTER, P., TORAL, M. I. (2005): *Extracción simple de especies de arsénico desde sedimentos para especiación. Estudios de estabilidad de agentes extractantes.*

OHTSUKA, R.; SUDO, N.; SEKIYAMA, M.; WATANABE, C.; INAOKA, T., KADONO, T. (2004): Gender difference in daily time and space use among Bangladeshi villagers under arsenic hazard: application of the compact spot-check method. *J Biosoc Sci.* **36:** 317-32.

OOMEN, A. G.; ROMPELBERG, C. J.; VAN DE KAMP, E.; PEREBOOM, D. P.; DE ZWART, L. L., SIPS, A. J. (2004): Efect of bile type on the bioaccessibility of earth contaminants in an *in vitro* digestion model. *Arch Environ Contam Toxicol.* **46:** 183-8.

OTERO-REY, J. R.; LÓPEZ-VILARINO, J. M.; MOREDA-PINEIRO, J.; ALONSO-RODRÍGUEZ, E.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; LÓPEZ-MAHIA, P., PRADA-RODRÍGUEZ, D. (2003): As, Hg, and Se flue gas sampling in a coal-fired power plant and their fate during coal combustion. *Environ Sci Technol.* **37:** 5262-7.

PATTERSON, T. J.; NGO, M.; ARONOV, P. A.; REZNIKOVA, T. V.; GREEN, P. G., RICE, R. H. (2003): Biológical activity of inorganic arsenic and antimony reflects oxidation state in cultured human keratinocytes. *Chem Res Toxicol.* **16:** 1624-31.

PETERS, H. A.; WILLIAM, A.; CROFT, P. H. L.; EDWIN, A.; WOOLSON, P. H. D., DARCEY, B. A., OLSON, M. A. (1984): Seasonal arsenic exposure from burning chromium copper arsenate treated Wood. *JAMA* **251:** 2393-2396.

PHILLIPS, D. J. H. (1990): Arsenic in aquatic organisms: a review, emphasizing chemical speciation. *Aquatic Toxicol.* **16:** 151-186.

PELISSIER-ALICOT, A. L.; SALERIO, G.; MARQUET, P.; PANTEIX, G., LEONETTI, G. (2003): Acute poisoning caused by intravenous arsenic. *Presse Med.* **32:** 1849-51.

PENNEAU, D.; NEVEUR ROBERT, M.; CHABASSE, D.; LORIOT, J., PROTEAU, J. (1981): Circonstance originale d'arsenicisme chronique collectif. *Archives maladies proffesionelles* **42:** 35.

PEPLOW, D., EDMONDS, R. (2004): Health risks associated with contamination of ground water by abandoned mines near Twisp in Okanogan County, Washington, USA. *Environ Geochem Health.* **26:** 69-79.

PERSHAGEN, G. (1984): Lung cancer mortality among men living near an arsenic emitting smelter. *Am J Epidemiol.* **122:** 684-94.

PINEDA-ZAVALETA, A. P.; GARCÍA-VARGAS, G.; BORJA-ABURTO, V. H.; ACOSTA-SAAVEDRA, L. C.; VERA AGUILAR, E.; GÓMEZ-MUNOZ, A.; CEBRIÁN, M. E., CALDERÓN-ARANDA, E. S. (2004): Nitric oxide and superoxide anion production in monocytes from children exposed to arsenic and lead in region Lagunera, Mexico. *Toxicol Appl Pharmacol.* **198:** 283-90.

Qin, J.; Rosen, B. P.; Zhang, Y.; Wang, G.; Franke, S., Rensing, C. (2006): Arsenic detoxification and evolution of trimethylarsine gas by a microbial arsenite S-adenosylmethionine methyltransferase. *Proc Natl Acad Sci USA.* **103:** 2075-80.

Raab, A., Feldmann, J. (2005): Arsenic speciation in hair extracts. *Anal Bioanal Chem.* **381:** 332-8.

Rao, M. V., Avani, G. (2004): Arsenic induced free radical toxicity in brain of mice. *Indian J Exp Biol.* **42:** 495-8.

Rader, K. J.; Dombrowski, P. M.; Farley, K. J.; Mahony, J. D., Di Toro, D. M. (2004): Efect of thioarsenite formación on arsenic(III) toxicity. *Environ Toxicol Chem.* **23:** 1649-54.

Ratna Kumar, P.; Chaudhari, S.; Khilar, K. C., Mahajan, S. P. (2004): Removal of arsenic from water by electrocoagulation. *Chemosphere.* **55:** 1245-52.

Rhine, E. D.; Phelps, C. D., Young, L. Y. (2006): Anaerobic arsenite oxidation by novel denitrifying isolates. *Environ Microbiol.* **8:** 899-908.

Richmond, W. R.; Loan, M.; Morton, J., Parkinson, G. M. (2004): Arsenic removal from aqueous solution via ferrihydrite crystallization control. *Environ Sci Technol.* **38:** 2368-72.

Ritchie, A. W.; Edmonds, J. S.; Goessler, W., Jenkins, R. O. (2004): An origin for arsenobetaine involving bacterial formación of an arsenic-carbon bond. *FEMS Microbiol Lett.* **235:** 95-9.

Robinson, B.; Duwig, C.; Bolan, N.; Kannathasan, M., Saravanan, A. (2003): Captation of arsenic by New Zealand watercress (Lepidium sativum). *Sci Total Environ.* **301:** 67-73.

Romero, F. M.; Armienta, M. A., Carrillo-Chávez, A. (2004): Arsenic sorption by carbonate-rich aquifer material, a control on arsenic mobility at Zimapan, México. *Arch Environ Contam Toxicol.* **47:** 1-13.

Rouskanen, J.; Que Hee, S. S.; Ayer, H.; Boyle, J. R.; Webster, S.; Jbara, J.; Mantel, T. D., Willeke, K. (1990): Contamination in a experimental gallium arsenide etch. system. *American Industrial Hygiene Association J.,* **51:** 8-13.

Salazar, A. M.; Calderón-Aranda, E.; Cebrián, M. E.; Sordo, M.; Bendesky, A.; Gómez-Muñoz, A.; Acosta-Saavedra, L., Ostrosky-Wegman, P. (2004): p53 expression in circulating lymphocytes of non-melanoma skin cancer patients from an arsenic contaminate region in Mexico. A pilot study. *Mol Cell Biochem.* **255:** 25-31.

Sakurai, T.; Ohta, T.; Tomita, N.; Kojima, C.; Hariya, Y.; Mizukami, A., Fujiwara, K. (2006): Evaluation of immunotoxic and immunodisruptive effects of inorganic arsenite on human monocytes/macrophages. *Int Immunopharmacol.* **6:** 304-15.

Samal, A. C.; Bhar, G., Santra, S. C. (2004): Biological process of arsenic removal using selected microalgae. *Indian J Exp Biol.* **42:** 522-8.

Sánchez-Rodas, D.; Oliveira, V.; Sarmiento, A. M.; Gómez-Ariza, J. L., Nieto, J. M. (2006): Preservation procedures for arsenic speciation in a stream affected by acid mine drainage in southwestern Spain. *Anal Bioanal Chem.* **384:** 1594-9.

Sebastian, S.; Sokolskajam E., Luban, J. (2006): Arsenic counteracts human immunodeficiency virus type 1 restriction by various TRIM5 orthologues in a cell type-dependent manner. *J Virol.* **80:** 2051-4.

Senn, D. B., Hemond, H. F. (2004): Particulate arsenic and iron during anoxia in a eutrophic, urban lake. *Environ Toxicol Chem.* **23:** 1610-6.

Seo, T.; Urasaki, Y.; Takemura, H., Ueda, T. (2005): Arsenic trioxide circumvents multidrug resistance based on different mechanisms in human leukemia cell lines. *Anticancer Res.* **25:** 991-8.

Sizova, O. I.; Liubun, E. V.; Kochetkov, V. V.; Validov, ShZ, Boronin, A. M. (2004): Efect of natural and genetically modified rhizospheric Pseudomonas aureofaciens bacteria on accumulation of arsenic by plants. *Prikl Biokhim Mikrobiol.* **40:** 78-82.

Smith, G. H., Lloyd, O. L. (1986): Earth Arsenic in Armadale, Scotland. *Arch Environ Helth* **41:** 126.

SMITH, A. H.; HOPENHAYN-RICH, C., BATES, M. N. y cols. (1992): Cancer risks from arsenic in drinking water. *Environ Health Perspect* **97:** 259-267.

SOBEL, W.; BOND, G. G., BALDWIN, C. L. y cols. (1988): An update of rcspiratory cancer of occupational exposure to arsenics. *American J of Industrial Med.* **13:** 263.

SOUTER, P. F.; CRUICKSHANK, G. D.; TANKERVILLE, M. Z.; KESWICK, B. H.; ELLIS, B. D.; LANGWORTHY DE; METZ, K. A.; APPLEBY, M. R.; HAMILTON, N.; JONES, A. L., PERRY, J. D. (2003): Evaluation of a new water treatment for point-of-use household applications to remove microorganisms and arsenic from drinking water. *J Water Health.* **1:** 73-84.

SOTO-PEÑA, G. A.; LUNA, A. L.; ACOSTA-SAAVEDRA, L.; CONDE, P.; LÓPEZ-CARRILLO, L.; CEBRIÁN, M. E.; BASTIDA, M.; CALDERÓN-ARANDA, E. S., VEGA, L. (2006): Assessment of lymphocyte subpopulations and cytokine secretion in children exposed to arsenic. *FASEB J.* **20:** 779-81.

SOUTER, P. F.; CRUICKSHANK, G. D.; TANKERVILLE, M. Z.; KESWICK, B. H.; ELLIS, B. D.; LANGWORTHY DE; METZ STARA, J. F.; KELLO, D., DURKIN, P. (1980): Human health hazards associated with chemical contamination of aquatic environment. *Environ Health Perspect* **34:** 145-148.

STERLING, R. O., HELBLE, J. J. (2003): Reaction of arsenic vapor species with fly ash compounds: kinetics and speciation of the reaction with calcium silicates. *Chemosphere*. **51:** 1111-9.

STYBLE, M.; DELNOMDEDIEV, M., THOMAS, D. J. (1995): Biological mechanisms and toxicological consequences of the methylation of arsenic, in Goyer, R. A., Cherian, M. G. (editores).

SUN, G. (2004): Arsenic contamination and arsenicsis in China. *Toxicol Appl Pharmacol.* **198:** 268-71.

SURESH, K.; REDDY, G. S.; SENGUPTA, S., SHIVAJI, S. (2004): Deinococcus indicus sp. nov., an arsenic-resistant bacterium from an aquifer in West Bengal, India. *Int J Syst Evol Microbiol.* **54** (Pt 2): 457-61.

TAKAHASHI, Y.; MINAMIKAWA, R.; HATTORI, K. H.; KURISHIMA, K.; KIHOU, N., YUITA, K. (2004): Arsenic behavior in paddy fields during the cycle of flooded and non-flooded periods. *Environ Sci Technol.* **38:** 1038-44.

TAPIO, S.; DANESCU-MAYER, J.; ASMUSS, M.; POSCH, A.; GOMOLKA, M.; HORNHARDT, S. (2005): Combined efects of gamma radiation and arsenite on the proteome of human TK6 lymphoblastoid cells. *Mutat Res.* **581:** 141-52.

TELLO, E. E. (1963): Les Epitheliomes d'origine arsenicale. *Rev Fac Cienc Méds de Córdoba* (Argentina).

— (1972): El problema de los hidroarsenicales. *Rev Fac Cienc Méd. Córdoba.* **30:** 29.

THOMAS, D. J.; AGUAS, S. B., STYBLO, M. (2004): Elucidating the pathway for arsenic methylation. *Toxicol Appl Pharmacol.* **198:** 319-26.

TSENG, C. H. (2003): Abnormal current perception thresholds measured by neurometer among residents in blackfoot disease-hyperendemic villages in Taiwan. *Toxicol Lett.* **146:** 27-36.

— (2004): The potential biological mechanisms of arsenic-induced diabetes mellitus. *Toxicol Appl Pharmacol.* **197:** 67-83.

TSENG, W. P. (1977): Efects and dose response relationships of skin cancer and blackfoot disease with arsenic. *Environ Health Perspect* **19:** 109-119.

TSOU, T. C.; TSAI, F. Y.; YEH, S. C., CHANG, L. W.: ATM/ATR-related checkpoint signals mediate arsenite-induced G(2)/M arrest in primary aortic endothelial cells. *Arch Toxicol.* 28 de abril de 2006.

VAHTER, M.; FRIBERG, L.; RAHNSTER, B.; NYGREN, A., NOLINDER, P. (1986): Airborne arsenic and urinary excretion of metabolites of inorganic arsenic among smelter workers. *Int Arch Occup Environ Health* **57:** 79-91.

Van Tongeren, J. H. M.; Kurst, A.; Majoor, C. L. H., Schillings, P. H. M. (1965): Folic acid deficiency in chronic arsenic poisoning. *Lancet* **1:** 784.

Vasken, A. H.; Zakharyan, R. A.; Avram, M. D.; Sampayo-Reyes, A., Wollenberg, M. L. (2004): A review of the enzymology of arsenic metabolism and a new potential role of hydrogen peroxide in the detoxication of the trivalent arsenic species. *Toxicol Appl Pharmacol.* **198:** 327-35.

Verma, R. J.; Vasu, A., Saiyed, A. A. (2004): Arsenic toxicity in mice and its possible amelioration. *J Environ Sci* (China). **16:** 447-53.

Westhoff, D. D.; Samaha, R. J., Barnes, A. (1975): Arsenic Intoxication as a Cause of Megaloblastic Anemia. *Blood.* **45:** 241.

Wilhelm, M.; Pesch, B.; Wittsiepe, J.; Jakubis, P.; Miskovic, P.; Keegan, T.; Nieuwenhuijsen, M. J., Ranft, U. (2005): Comparison of arsenic levels in fingernails with urinary As species as biomarkers of arsenic exposure in residents living close to a coal-burning power plant in Prievidza District, Slovakia. *J Expo Anal Environ Epidemiol.* **15:** 89-98.

Yang, W.; Ge, J. B.; Liu, H. L.; An, Y.; Liu, X. B.; Tian, Y.; Qu, X. F.; Li, W. M., Huang, Y. L. (2006): Arsenic trioxide eluting stents to prevent restenosis of injured iliac arteries in rabbits. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi.* **34:** 14-8.

Yih, L. H.; Hsueh, S. W.; Luu, W. S.; Chiu, T. H., Lee, T. C. (2005): Arsenite induces prominent mitotic arrest via inhibition of G2 checkpoint activation in CGL-2 cells. *Carcinogenesis.* **26:** 53-63.

Zhao, R.; Zhao, M.; Wang, H.; Taneike, Y., Zhang, X.: Arsenic speciation in moso bamboo shoot - A terrestrial plant that contains organoarsenic species. *Sci Total Environ.* 18 de abril de 2006.

Zhou, L.; Jing, Y.; Styblo, M.; Chen, Z., Waxman, S. (2005): As_2O_3 induced apoptosis in lymphoma cells: involvement of hydrogen peroxide catabolism. *Blood.* **105:** 1198-203.

V. Riesgos sanitarios de los contaminantes y residuos químicos, medicamentosos y ambientales en los alimentos

BERNABÉ SANZ PÉREZ



Doctor en Veterinaria. Catedrático de Bromatología y Microbiología de los Alimentos (Universidad Complutense de Madrid). Vicepresidente de la Sociedad Española de Bromatología. Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia.

Para mejorar la cantidad y la calidad de las cosechas y del rendimiento del ganado de abasto, y con el fin de disponer de alimentos suficientes para atender, convenientemente, a la nutrición de toda la población humana, ha sido necesario desarrollar una agricultura y ganadería intensivas. Su progreso ha requerido el empleo de semillas selectas, plaguicidas, promotores del crecimiento animal, fertilizantes sintéticos, quimoterápicos y biocidas muy variados. Hoy son miles los productos de estas clases registrados en el mundo desarrollado.

Otros factores importantes a este respecto son los deseos de ganaderos y zootecnistas de mejorar los índices de conversión del pienso de los animales de granja y la demanda de los consumidores de carne tierna, jugosa y con bajo contenido graso —característica esta última que también se busca en la leche, en los huevos y en sus productos derivados— y que ha llevado, igualmente, al empleo en alimentación animal de otras sustancias químicas (Sanz, 2002).

Finalmente, debe tenerse presente que los manifiestos avances industriales de los últimos decenios han llevado aparejado un aumento de las contaminaciones ambientales, cuyos residuos se encuentran real o potencialmente presentes en los alimentos. Como veremos en este capítulo son muchas las concausas

responsables de que las sustancias citadas dejen en los alimentos de origen animal y vegetal contaminantes y residuos.

CONTAMINANTES Y RESIDUOS

En algunos ambientes existe un cierto confusionismo entre contaminantes y residuos, por lo que conviene diferenciarlos desde el principio. **Contaminante** es toda sustancia que, como consecuencia de las actividades humanas, llega al medio o ambiente y de forma directa o indirecta pone en peligro la salud del hombre, su bienestar y el de los animales y recursos biológicos terrestres. En cambio, **residuo** es cualquier producto extraño al organismo (xenobiótico) que, por alguna circunstancia, llega *in vivo* al organismo animal o vegetal y permaneciendo en sus tejidos pasa, después del sacrificio o de la recolección, a formar parte de los alimentos que de ellos derivan, constituyendo un riesgo para la salud. Como se deduce de estas definiciones, el concepto de contaminante es más amplio que el de residuo; además, muchos de los contaminantes se añaden deliberadamente al medio para destruir ciertas formas de vida perjudiciales.

Atendiendo a su naturaleza biológica o inerte, los contaminantes se dividen en dos apartados:

— Biológicos o bióticos: Microorganismos, toxinas microbianas, zooparásitos, fitotoxinas, excretas, y restos de insectos, aves, roedores, etc.

— Químicos o abióticos: Plaguicidas, metales pesados, residuos medicamentosos, productos industriales, etc.

Aunque algunas de estas sustancias han acompañado siempre a los ingredientes de los alimentos, sólo en los últimos treinta años se ha profundizado y progresado en el conocimiento de sus mecanismos de absorción, acumulación, metabolismo y excreción; esto ha sido posible gracias a los avances realizados no sólo en las técnicas analíticas, cuya sensibilidad y precisión se han multiplicado en las últimas décadas, sino también por los progresos en las metodologías bioquímicas, farmacológicas y toxicológicas. Algunos de los productos usados inicialmente para el progreso agrícola y ganadero presentaban una serie de inconvenientes para el medio ambiente y cadenas tróficas que sólo se detectaron bastantes años después. De otra parte, en bastantes zonas afroasiáticas (sobre todo en las tropicales) de no haberse utilizado ciertos plaguicidas, prohibidos en el mundo desarrollado, hubiera sido imposible la explotación animal, tal es el caso, entre otros, del DDT y el lindane.

Algunos residuos se encuentran de forma natural en los alimentos y su concentración es tan baja que su detección sólo ha sido posible en los últimos años gracias a los recientes progresos analíticos (Al-Saleh, 1994); son los conocidos como *residuos naturales*. En su mayoría proceden del reino mineral, pero hay algunos (micotoxinas, saxitoxina y otros) que, como se ha señalado, son de naturaleza biológica y que aquí no estudiaremos.

Los residuos naturales del reino mineral proceden de las rocas y del suelo a partir del cual los absorben los vegetales, como las hortalizas y frutas que consumimos. Vía pastos y piensos llegan también a los alimentos de origen animal. Cuando la incorporación al organismo humano acaece sin la intervención directa del hombre, constituyen los llamados *residuos geogénicos,* entre los que predominan los metales, cuyos minerales, aún superando en ciertas zonas las concentraciones consideradas normales de los terrenos de labor, permiten, sin embargo, el crecimiento de las cosechas que, a lo largo de la evolución, se han adaptado a estos terrenos. En contraste con los geogénicos, los residuos denominados *antropogénicos* se incorporan a los alimentos por la intervención humana que los hace llegar a la biosfera desde los depósitos minerales naturales. Por ejemplo, debido a las actividades mineras las tierras próximas a esas explotaciones alcanzan niveles de contaminación muy superiores a los considerados normales; en ocasiones las áreas contaminadas son muy extensas.

Sin embargo, debe reconocerse que los residuos químicos más preocupantes proceden de sustancias producidas o sintetizadas por el hombre, muchas de las cuales no se encontraban antes en la naturaleza.

RESIDUOS QUÍMICOS DE LAS PRÁCTICAS AGRARIAS

Plaguicidas

Dentro de los contaminantes químicos o abióticos (que según se ha dicho serán los únicos que se estudiarán aquí), destacan los plaguicidas que se usan profusamente en la moderna agricultura. Según la OMS (1974), son «productos empleados para destruir o repeler los seres que intervienen en la transmisión de enfermedades, que destruyen la producción vegetal y animal o que originan molestias dificultando el bienestar humano». En 1986 la FAO definió como plaguicida a «toda sustancia o mezcla de sustancias empleada para prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluidos los vectores de enfermedades humanas y animales, las especies vegetales y animales nocivas —que dañan o interfieren la producción, procesado, almacenamiento, transporte y *marketing* de los alimentos—, así como las condiciones agrícolas, la madera y sus productos y los piensos y las que se administran a los animales para el control de insectos, arácnidos u otra plaga corporal».

También forman parte de los plaguicidas, los reguladores del crecimiento vegetal, desfoliantes, desecantes, y los productos que previenen la caída prematura de la fruta en maduración, así como las sustancias aplicadas a los cultivos, antes o después de su recolección, para prevenir su deterioro en el almacenamiento y transporte (Al-Saleh, 1994). El Consejo de Europa (1984) da una definición muy parecida a la de la FAO.

La mayor parte de los preparados comerciales de plaguicidas contienen, además del ingrediente activo, un menstruo o vehículo y a veces sustancias que

facilitan su absorción. En ocasiones estas sustancias inertes han ejercido efectos mayores que los ingredientes activos. Tal es el caso del tetracloruro de carbono y del cloroformo, que son tóxicos respectivamente para el hígado y el SNC.

Insecticidas

Son, junto con los herbicidas, los plaguicidas más numerosos, más utilizados y mejor estudiados. La gran cantidad de insecticidas a la venta se debe a la necesidad de contar con productos eficaces y específicos frente a los insectos, al mismo tiempo que inocuos para el hombre y sus animales útiles pero, sobre todo, a la capacidad de los insectos de desarrollar resistencias. Recordemos, a este respecto, que si de 1956 a 1961 se pasó de 28 especies de insectos resistentes a 81, hoy superan ya las 250. Entre los insectos que más fácilmente desarrollan resistencia figuran las moscas, los mosquitos (en especial *Culex fatigans)* y las cucarachas. Pero los insectos no son las únicas plagas que desarrollan resistencia, también ratas y ratones lo han hecho frente a ciertos raticidas (Last, 1980).

Los insecticidas se clasifican en cuatro grupos principales: 1) minerales, 2) orgánicos de síntesis (que incluyen los órganoclorados, órganofosforados y carbamatos), 3) aceites minerales, y 4) otros. Aquí sólo trataremos de unos pocos de los muchos insecticidas disponibles.

Los **órganoclorados de síntesis** comenzaron a usarse de forma masiva en plena II Guerra Mundial. El primero de ellos, el DDT, lo descubrió, en 1874 en Alemania, Zeidler, un estudiante de doctorado, pero sus propiedades insecticidas no se conocieron hasta los trabajos de Paul Mueller, iniciados en 1931 y que le valieron el premio Nobel de Química nueve años más tarde. Fue fabricado bajo control del gobierno estadounidense e incluido en una concentración del 10% en polvos, jabones y colonias para evitar las pediculosis de los soldados que participaron en las batallas del Pacífico (Forget, 1991).

El primer insecticida clorado, utilizado con gran éxito frente a muchas especies de insectos, ha sido el DDT (Diclorodifeniltricloroetano); después se han sintetizado otros hasta un total de 25-30. Son sustancias muy tóxicas para los insectos, muy estables químicamente, altamente lipófilas, con baja biodegradabilidad y ligeramente volátiles, por lo que en el medio ambiente permanecen muchos años sin degradarse. Todos se caracterizan por su gran contenido de cloro que se une al anillo del benceno, un hidrocarburo; de aquí el nombre de hidrocarburos clorados que también reciben en ciertas ocasiones. Químicamente se clasifican en cuatro grupos: aromáticos halogenados, ciclodienos, ciclopafinas y terpenos clorados (Kaloyanova Simeonova, 1983).

En los años 1950 a 1960 el DDT alcanzó su máxima popularidad y se utilizó mucho pero, afortunadamente, su empleo casi ha desaparecido lo que se debe fundamentalmente a tres razones a saber:

1. Porque muchos insectos desarrollan pronto resistencia frente a este insecticida.
2. Porque debido a su gran espectro insecticida destruye también a ciertos insectos beneficiosos e indirectamente a las aves y peces insectívoros, y
3. Por el impacto que tuvo el libro de Rachel Carson, *Silent spring* (Primavera silenciosa) en la opinión pública, que se manifestó contraria al uso extensivo del DDT.

Pienso que es oportuno recordar que la *Environmental Protection Agency* (*EPA*), organismo encargado de la protección del medio en los EE.UU., se fundó en 1968, bajo la presión de los lectores del libro de la Doctora Carson.

El DDT, tanto por contacto como por ingestión, es tóxico letal para muchos insectos cuyo SNC ataca ocasionándoles hiperexcitabilidad, convulsiones, parálisis y finalmente muerte (Forget, 1991). Por su gran estabilidad en el medio ambiente no lo destruyen los microorganismos, ni la luz, ni la oxidación, por lo que persiste sin degradarse hasta 25 y más años. Por su persistencia y liposolubilidad, muchas especies concentran el DDT de su entorno en sus tejidos grasos; a ello se han atribuido la muerte y los problemas reproductivos de ciertas especies piscícolas y aviares como el salmón de New Brunswick y el halcón peregrino (Carson, 1962).

Por estas razones el empleo del DDT y de otros insecticidas clorados del mismo grupo se prohibió en EE.UU. en 1972 y en España en 1975. Aunque el almacenamiento y persistencia de los insecticidas clorados en el tejido adiposo se explica por su lipofilia, otros factores que desempeñan un rol importante a este respecto son la estructura química del compuesto de que se trate y la competencia por los sitios de unión de los tejidos grasos (Bickel, 1984).

Los insecticidas **órganofosforados** son ésteres, amidas o derivados tiólicos de los ácidos fosfórico, fosfónico, fosfotióico y fosfonotióico que, en su mayoría son ligeramente hidrosolubles (OMS, 1986). Mantenidos a temperaturas altas se oxidan a fosfatos que son mucho más volátiles y tóxicos.

A las dosis que se emplean corrientemente se hidrolizan a derivados hidrosolubles que carecen de toxicidad. Su riesgo tóxico se limita, por tanto, a un período de tiempo muy breve a pesar de que su semivida a pH neutro varíe, desde unas pocas horas (diclorvos) a varias semanas (paratión). Al pH de los suelos poco ácidos (entre 4 y 5) las semividas aumentan mucho (Al-Saleh, 1994). Los insecticidas órganofosforados se absorben por todas las vías (dérmica, respiratoria, gastrointestinal y conjuntival). Su intoxicación aguda se explica tanto en los insectos como en los mamíferos, por la inhibición de la acetilcolinesterasa, lo que da lugar al acúmulo de concentraciones tóxicas de acetilcolina.

Mientras algunos insecticidas órganofosforados, como el TEPP (tetraetilpirofosfato), inhiben directamente la acetilcolinesterasa, otros, como paratión y

malatión, tienen una acción anticolinesterasa muy débil hasta que el sistema enzimático microsómico del hígado los transforma en derivados más tóxicos (Warren y col., 1963; Zavon, 1971).

Los **carbamatos** tienen una triple aplicación: los ésteres actúan como insecticidas, los derivados del ácido tiocarbámico como fungicidas y un grupo muy amplio posee propiedades herbicidas (OMS, 1986). Como los insecticidas órganofosforados, ejercen su efecto tóxico inhibiendo la acetilcolinesterasa, sin embargo, puesto que esta acción es reversible, son menos tóxicos. Prácticamente su destino metabólico es el mismo en vegetales, insectos y mamíferos; se absorben por todas las vías, como los órganofosforados.

Sus metabolitos son menos tóxicos que el producto del que proceden, pero hay excepciones notables que mantienen la misma toxicidad, superando, a veces, la del precursor. Los carbamatos se metabolizan a moléculas más hidrosolubles y polares mediante varias reacciones: La primera es de tipo oxidativo e introduce en el compuesto un grupo hidroxilo que sirve de sitio de conjugaciones secundarias que rinden sustancias que se excretan por las heces y orina. En ciertos casos los metabolitos oxigenados, como el 5-hidroxiproposur y el 5-hidroxicarbaril, son tóxicos y poseen actividad anticolinesterasa (Oonithan y Casida, 1968; Black y col., 1973).

Las **piretrinas,** obtenidas de las flores del piretro [*Pyrethrum (Chrysanthemum) cinerariaefolium*], se han utilizado como insecticidas desde hace muchos años; para ello se desecan y molturan hasta consistencia pulverulenta. El polvo contiene del 1 al 3% de producto activo, que está formado por piretrinas y de las que se conocen seis tipos distintos. Salvo para sus especies diana (insectos domésticos) son muy poco tóxicas para otros animales, incluidos la especie humana y los animales de granja. De aquí que formen parte de la mayoría de los insecticidas usados en el hogar (Knox y col., 1983). Se metabolizan rápidamente y no dejan residuos.

Las piretrinas sintéticas, conocidas como **piretroides,** se fabricaron por primera vez en 1950, teniendo como modelos los ésteres naturales (Shibamoto y Bjeldanes, 1996). Son más eficaces que las piretrinas y como ellas no dejan residuos.

Los tubérculos de *Derris* y sobre todo de *D. elliptica,* se han empleado desde tiempo inmemorial para la pesca fluvial en sus zonas de producción (Murphy, 1980) debido a que causan parálisis en los peces por su contenido de rotenona y de otros trece derivados; todas estas sustancias son insecticidas. Se ha calculado que la dosis letal para un hombre de 70 Kg varía entre 10 y 100 gramos. En el suelo se degradan rápidamente y su acumulación es mínima. En la actualidad han dejado de usarse como insecticidas y su empleo en la pesca está prohibido.

Herbicidas

Los herbicidas rivalizan con los insecticidas en número y en ventas y como éstos, algunos son muy poco tóxicos para la especie humana y para los animales de renta y otros pueden ocasionarles graves intoxicaciones (Murphy, 1980).

Se ha calculado que las pérdidas mundiales de los cultivos vegetales útiles, debidas a plagas y malas yerbas, suponen alrededor del 35-50% de su rendimiento potencial. Aproximadamente el 9-10% de estas pérdidas están causadas por las malas yerbas. Por ello son tantos los herbicidas usados en agricultura para defender los cultivos y mejorar su rendimiento. Consecuentemente en los productos alimenticios de origen vegetal hay cantidades vestigiales (o traza) de los mismos. Los clorofenoxiácidos son herbicidas muy populares, entre los que sobresalen los ácidos 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) y 2,4,5-triclorofenoxiacético (2,4,5-T) que son dos potentes desfoliantes que se hicieron muy famosos en la Guerra de Vietnam por formar parte del conocido agente naranja. Ambos ácidos son muy tóxicos para las plantas, pero en los mamíferos su toxicidad es bastante baja. De todos modos conviene recordar que si bien en las plantas se conocen suficientemente sus mecanismos de acción, no sucede así en la especie humana, pues aunque se ha visto que no se acumulan en nuestro organismo, el mecanismo íntimo de su acción toxica todavía presenta lagunas.

En los animales de laboratorio las dosis subletales originan debilidad muscular y a medida que se aumentan dan lugar a rigidez de extremidades, ataxia, parálisis y coma mortal.

Los clorofenoxiésteres se hidrolizan fácilmente a sus correspondientes ácidos que, en algunos casos, son tan hidrosolubles que se excretan directamente por la orina. Puesto que no se acumulan en los tejidos de los mamíferos tampoco dejan residuos. No obstante, se ha comprobado que las formulaciones de herbicidas a base de los ésteres clorofenoxi son teratógenas en muchas especies animales. Se admite (Jiménez Gómez y Lleó Morilla, 1998) que ello se debe a su contaminación con tetraclorodibenzo-*p*-dioxina (TCDD).

Fungicidas

Son un conjunto de sustancias muy heterogéneas. Su toxicología no se ha estudiado tan a fondo como la de otros plaguicidas. En cambio, su micotoxicidad ha sido revisada con gran detalle y sus mecanismos de acción son bien conocidos (Lukens, 1971). La mayoría de estos productos no son tóxicos para la especie humana, pero los funguicidas mercuriales preocuparon mucho en la década de 1960, ya que se produjeron grandes mortandades de aves granívoras en los países escandinavos, debido a que en los campos sembrados de cereales consumieron las semillas tratadas con funguicidas mercuriales. En Iraq, para la elaboración de harina panificable, se utilizó trigo tratado del mismo modo que

debía usarse únicamente para la sementera. Esto produjo diversas defunciones y alteraciones neurológicas permanentes entre quienes comieron el pan elaborado con tal harina (Haq, 1963).

El parecido estructural de dos funguicidas (captán y felpet) con la talidomida hizo pensar en su posible teratogenicidad, lo que puso de manifiesto, entre otros, Roben (1970), experimentando con cricetos hembras gestantes a las que administró 500 mg de fungicida/kilogramo de peso.

El pentaclorofenol, que se ha usado como funguicida, insecticida, herbicida y conservante de la madera (Murphy, 1980), ha producido diversas intoxicaciones accidentales (algunas con muertes) al emplearse sin seguir las instrucciones de uso de los envases y prospectos. La dosis letal en animales de experimentación varía entre 30 y 100 mg/Kg de peso vivo. Busser (1975) ha señalado que muchas muestras de pentaclorofenol comercial estaban contaminadas con dibenzotoxinas y dibenzo furanos.

RESIDUOS MEDICAMENTOSOS

Forman un grupo muy complejo de sustancias, que se administran a los animales con fines terapéuticos o profilácticos, como favorecedores del desarrollo animal o como aditivos del pienso para estimular su consumo, al hacerlo más atractivo al paladar animal y consecuentemente, al mejorar el rendimiento cárnico de los animales de abasto. Otros agentes farmacológicos, cuyos residuos se incluyen en este grupo, son los sincronizadores del celo y los tranquilizantes que se aplican a los animales para facilitar su manejo y reducir el estrés del transporte.

Antibacterianos

Comprenden, además de los antibióticos, una gran variedad de fármacos sintéticos que poseen una acción farmacológica parecida pero cuya eliminación es más lenta al prolongarse su efecto terapéutico (Van Schothorst y Nouws, 1987).

Antibióticos

Tanto los polipeptídicos, como los betalactámicos, se eliminan rápidamente y no dejan residuos (Hapke y Grahwit, 1987).

Dentro de los antibióticos aminoglucósidos, la kanamicina es la que se elimina más lentamente. Aplicada diariamente a las vacas (5 mg/kg de peso durante tres días) origina residuos que todavía se detectan a los 35 días de su última aplicación.

Los antibióticos macrólidos, cuyos representantes más característicos en medicina veterinaria son eritromicina, espiramicina y tilosina (Martín y col., 1992), dejan residuos musculares que desaparecen unos siete días después de su aplicación (Loliger, 1978). Algo semejante sucede con las tetraciclinas cuyos residuos no persisten más de cinco a siete días después de su administración (Schothorst y Nouws, 1987).

Sin embargo, el cloranfenicol, otro antibiótico muy usado en medicina veterinaria, está prohibido en los EE.UU. porque origina anemia aplástica en la especie humana (Page, 1981). El Comité conjunto de la FAO/OMS de expertos en aditivos alimentarios de 1988 aconsejó que no se estableciese ningún nivel aceptable de residuos de este antibiótico.

El empleo de los antibióticos por los ganaderos y cuidadores de los animales, lo mismo como agentes terapéuticos que como mejorantes del rendimiento animal, ha ocasionado una serie de problemas:

— Cambios de la flora bacteriana intestinal y, en consecuencia, disbiosias que pueden ser graves en personas especialmente sensibles (Tannock, 1988).

— Fenómenos alérgicos en individuos predispuestos a esta patología (Steele y Beran, 1984).

— Desarrollo de cepas microbianas resistentes (Holmberg y col., 1984; Levy, 1987).

— Destrucción o inhibición de microorganismos tecnológicamente importantes, por ejemplo, cultivos iniciadores (Wilson, 1994).

— Posible aparición de nuevos tipos de alteración alimentaria al destruirse la flora responsable de la «alteración normal» y ser sustituida por otra.

El uso de antibióticos en terapéutica animal debe hacerse siempre bajo control veterinario y sólo cuando sean verdaderamente necesarios. En sus envases deberían figurar siempre los tiempos de suspensión medicamentosa, que tendrían que ser observados con meticulosidad. En el caso de antibióticos de uso mamario deberían llevar un colorante que denunciase su presencia en la leche. Por lo que se refiere a su incorporación a los piensos, práctica prohibida por la legislación española, quizá sea conveniente recordar que las mejores respuestas animales se han conseguido en los que se mantienen en condiciones higiénicas deficientes; de aquí que mejorándolas sería innecesario el empleo de antibióticos.

Algunos investigadores (Tropilo, 1985 y Kuivinen y Slanina, 1986) han estudiado el efecto del calor en la acción antimicrobiana de los antibióticos y han comprobado que el tratamiento culinario de los alimentos, utilizado corrientemente, no inactiva los residuos de los antibióticos más sensibles. En cambio el tratamiento térmico de los alimentos enlatados sí que los destruye, lo que no

obsta para que otros (neomicina y estreptomicina) resistan bien estas temperaturas (Moats, 1988). Se ha comprobado igualmente que aunque desaparezca la actividad antimicrobiana de los antibióticos, bajo el efecto térmico, los productos resultantes de su degradación por el calor siguen originando reacciones alérgicas en las personas sensibles (Sullivan y col., 1981).

Sulfonamidas

Cuando las sulfonamidas se acetilan en el organismo aumentan su solubilidad y son fácil y rápidamente excretadas por los riñones. Sin embargo, al suministrar sulfatiazol a los cerdos (25 g/Kg de peso), se detectan residuos durante cinco días después de la administración (Hapke y Grahwit, 1987).

En el caso de los nitrofuranos y de sus metabolitos, al ser cancerígenos en los animales de experimentación, su nivel de tolerancia en los alimentos es cero (Cohen y Sagí, 1979).

Antiparasitarios

Se utilizan tanto externa como internamente para combatir protozoos, helmintos y artrópodos. Los más usados son los coccidiostáticos (sulfamidas, nitrofuranos, derivados pirimidínicos, quinolonas, etc.) que requieren períodos de suspensión medicamentosa para evitar la presencia de residuos en los huevos y en la carne. Otros antiparasitarios internos de gran interés son los benzoimidazoles, imidazoltiazoles, tetrahidroxipirimidinas y avermectinas, que son antihelmínticos muy eficaces (Taylor y Hunt, 1989), pero cuyos residuos persisten en la musculatura animal hasta los siete-catorce días después de suspendido el tratamiento.

Entre los antiparasitarios externos figuran los insecticidas que han sido tratados más atrás.

Tranquilizantes

Los atarácticos o tranquilizantes, junto con algunos narcóticos, se han suministrado en ciertas ocasiones a los animales de abasto (principalmente cerdos) para evitar el estrés y sus consiguientes pérdidas de peso, durante su transporte al matadero. No es mucha la información disponible sobre la presencia de residuos de estos fármacos en la carne (Hapke y Grahwit, 1987), pero dado que se administran pocas horas antes del sacrificio animal, esta práctica está totalmente prohibida en la UE, EE.UU. y Canadá.

Promotores del crecimiento

Bajo el nombre de estimulantes o promotores del crecimiento se incluyen una serie de sustancias muy heterogéneas entre las que destacan los antibióticos (ya tratados en un punto anterior), los compuestos hormonales anabolizantes, los finalizadores cárnicos y los agentes de reparto.

Compuestos hormonales anabolizantes

Estas sustancias, en general, ejercen un efecto manifiesto en el metabolismo, que se traduce en un aumento de las funciones anabólicas (sintéticas) y en una inhibición de las catabólicas (Hoffman y Evers, 1986), por ello el balance entre formación y degradación de los componentes corporales está a favor de la síntesis (Wiggins y col., 1976). La *ratio* de nutrientes del pienso retenidos en el organismo, por una parte y de los excretados, por otra, se modifica en favor de los primeros; de aquí que se incremente el peso de los animales y su ganancia ponderal por Kg de pienso consumido. Se ha comprobado que, por término medio, el aumento de peso de los vacunos tratados con estos anabolizantes, respecto de los testigos, es de un 15%, lo que supone de 20 a 30 Kg más por canal.

El mecanismo íntimo de acción de las hormonas anabolizantes varía de unas a otras, lo que no impide que aunque los andrógenos y estrógenos ejerzan efectos independientes, éstos sean aditivos en lo concerniente al aumento de las proteínas del músculo. Los andrógenos, uniéndose a sus receptores, actúan directamente en las fibras musculares, mientras que la acción de los estrógenos es, posiblemente, de carácter general al estimular la síntesis proteica. Se piensa que los estrógenos estimulan, igualmente la actividad del hipotálamo y de la prehipófisis aumentando en esta última la secreción de hormona del crecimiento (Roche, 1983). En la Tabla 1 se muestran los principales grupos de hormonas anabolizantes.

Los andrógenos, estrógenos y progestágenos, tanto naturales como sintéticos, no están exentos de riesgos. En ratas y ratones se han producido experimentalmente tras la implantación de pastillas de testosterona, tumores uterinos, adenocarcinoma de próstata y cáncer de vejiga. Otros posibles peligros son: exacerbación del cáncer de mama y de próstata y virilización de las hembras, sobre todo en período fetal y lactante. Ciertos progestágenos, como la 18-norprogesterona y la propia progesterona han ocasionado tumores ováricos en ratones hembras a los que se habían implantado subcutáneamente tabletas de estas hormonas.

TABLA 1. *Principales grupos de hormonas anabolizantes*

Grupos	*Ejemplos*
Compuestos naturales:	
— Andrógenos	Testosterona y sus ésteres
— Estrógenos	17β-estradiol y sus ésteres
— Progestágenos	Progesterona
— Hormona del crecimiento (HC)	Somatotropina, Liberadores de HC, Somatomedina, Somatostatina, Somatocrinina.
Compuestos xenobióticos:	
— Derivados del Estilbeno	Dietilestilbestrol (DES), Hexestrol, Dienestrol.
— Xenobióticos no estilbénicos	Melengestrol, Zeranol, Trembolona

El DES produce teratogénesis, cáncer vaginal y carcinogénesis transplacentaria en la especie humana. En 1971 se demostró que de ocho mujeres jóvenes (15-22 años) que padecían adenocarcinoma vaginal, siete eran hijas de mujeres que habían sido tratadas con DES en su primer trimestre de embarazo por amenaza de aborto o por otros problemas ginecológicos. Después se vería que también estaba implicado en el llamado adenocarcinoma de células claras del cuello de la matriz (Herbst y Cole, 1978). La casuística fue aumentando y se puso de manifiesto que era cancerígeno en varias especies animales (Glatt y col., 1979; Rudiger y col., 1979; Mc Lachalan y col., 1982). Su empleo está prohibido en EE.UU. desde 1979 y en la UE desde 1981 (Martín y col., 1992).

Dentro de los xenobióticos no estilbénicos destaca la trembolona que, en sus acciones, se parece mucho a la testosterona. Se vende como acetato y una vez ingerida se hidroliza rindiendo trembolona base. Sus metabolitos se excretan como conjugados del ácido glucurónico y del sulfúrico. Richold (1983) y Barrand y col. (1984) la consideran promotor cancerígeno. No obstante, la FDA ha establecido un límite máximo de residuos de 50 partes por millardo (Farber, 1991).

Todos los resultados alcanzados con los xenobióticos, que acabamos de exponer, se han conseguido con dosis muy superiores a las utilizadas corrientemente como anabolizantes. Son muchos los zootecnistas que piensan que los riesgos del empleo de estas sustancias son mínimos (Rico, 1990) y algunos concluyen que no suponen peligro alguno para la población humana *si* se aplican convenientemente, *si* se controlan y respetan los tiempos de espera o suspensión medicamentosa y *si* se vigilan las concentraciones residuales. Como se ve son demasiados los condicionantes de los que depende la inocuidad.

El empleo de compuestos hormonales se prohibió en España en 1977, se reconsideró en 1984 (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 1984) y aunque en principio se autorizó la utilización del 17-β-estradiol, progesterona,

testosterona, trembolona y zeralenol, se prohibieron definitivamente en 1987 (Ministerio de Relaciones con las Cortes y de Secretaría de Gobierno, 1987).

En 1997, Lone publicó una revisión exhaustiva sobre esteroides naturales y xenobióticos en la que estudia con detalle cuanto atañe a su empleo en producción animal, así como su farmacocinética, metabolismo, modo de acción y epidemiología.

La hormona del crecimiento y sustancias afines son polipéptidos segregados por la hipófisis que constan de 190-199 aminoácidos. Regulan importantes procesos metabólicos relacionados con el crecimiento y la lactación animal (Fraga y Blas, 1991). La acción de la hormona del crecimiento lleva anejo el aumento de la secreción de somatomedinas. Sus efectos últimos son una mayor retención de nitrógeno, menor concentración de urea sanguínea con menor excreción urinaria de esta sustancia y concentraciones mayores de glucosa e insulina sanguíneas. Se han administrado al ganado vacuno lechero por su poder estimulante de la lactopoyesis (Hammon, 1991) y a los lechones para conseguir canales menos grasas (Martin y col., 1992).

La autorización en EE.UU. del empleo de la somatotropina bovina para aumentar la producción láctea de las vacas lecheras y su prohibición en la UE dio lugar a una gran polémica que todavía continúa. La FDA estadounidense ha señalado, basándose en los estudios toxicológicos disponibles, que el empleo de BST en el ganado vacuno no conlleva riesgos para la salud humana (Daughaday y Barbano, 1990; Grossman, 1990; Guest, 1990). Se trata de una proteína que la digieren la pepsina y la tripsina por lo que carece de actividad por vía bucal. Además es una de las sustancias mejor estudiadas toxicológicamente (Juskevich y Guyer, 1990).

Su empleo en los animales disminuye el consumo de pienso que se acompaña de una menor deposición de grasa en la canal, de un aumento de la síntesis proteica y por lo tanto de un mayor crecimiento (Beerman, 1989; Kopchick y Cioffi, 1991). Tanto si se administra *per os,* como parenteralmente no deja residuos.

Finalizadores cárnicos

Los llamados más correctamente *productos antitiroideos,* son sustancias que inhiben la síntesis de hormona tiroidea (tiroxina) y en consecuencia dan lugar en los animales a un síndrome de hipotiroidismo caracterizado por apatía, engrosamiento de la piel, edemas duros subcutáneos, retención de agua (mixedema), hipertrofia tiroidea, aumento de peso, debilidad muscular e hipertrofia cardiaca.

Como finalizadores se emplean dos tipos de derivados: tiocianatos o sulfocianuros y tioureas. Ambos compuestos se metabolizan y eliminan del organismo rápidamente, por lo que su empleo como promotores del crecimiento animal no conlleva riesgo alguno para los consumidores de la carne. Sin embargo, esta

práctica constituye un fraude alimentario dado que el incremento de peso de los animales se debe fundamentalmente a la retención de agua en los tejidos. El fraude se detecta fácilmente observando el tamaño y el peso de tiroides que están muy aumentados.

Su empleo se prohibió en España en 1977 *(BOE* 12-03-1977) y de nuevo diez años más tarde (Ministerio de Relaciones con las Cortes y de Secretaría de Gobierno, 1987). La Directiva 81/602/CEE, DOCE del 1-08-1981, prohíbe el empleo de los antitiroideos como promotores del crecimiento en todos los países de la UE.

Agentes de reparto

Los agentes de reparto, β-agonistas o antagonistas β-adrenérgicos son los últimos productos que se han incorporado a la ya larga lista de promotores del crecimiento o anabolizantes (Fiems, 1987). Se trata de sustancias obtenidas por síntesis química que se ligan a receptores y actúan como los mediadores biológicos naturales; se parecen por lo tanto, a la adrenalina y noradrenalina, no sólo por su mecanismo de acción, sino por su estructura química, pues como ellas poseen estructura betafeniletanolamina. Dependiendo de los radicales en las posiciones 3, 4 y 5 del anillo y de los sustitutos de *R* de la cadena (Figura 1), se obtienen una serie de compuestos como clenbuterol, cimaterol, salbutamol, metaproterol, terbutalina, mabuterol, tolubuterol, etc., cuyos tres primeros se han usado como promotores del crecimiento. Los β-agonistas se han empleado en medicina humana y animal como antiasmáticos (salbutamol) y como relajantes del miometrio (Del Bono y col., 1977; Wolfe, 1983; Schmitz y col., 1990).

Como anabolizantes los betaagonistas actúan en los receptores responsables de los efectos lipolítico e ionotrópico positivo y también en los receptores β-res-

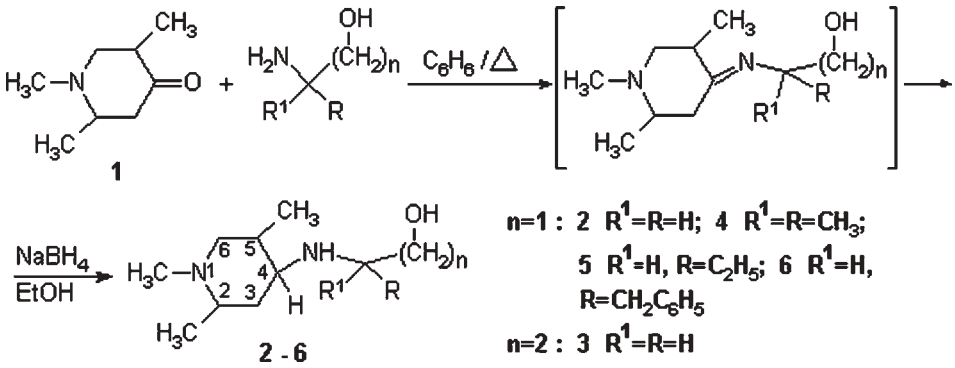


FIGURA 1. *Síntesis de las aril etilenaminas.*

ponsables de la estimulación de la glucogenólisis. En el metabolismo de los carbohidratos, los β-agonistas originan en el hígado la desintegración de los depósitos de glucógeno hepático, por activación de la fosfatasa, dando lugar a una rápida glucogenólisis. En el tejido muscular estimulan la degradación del glucógeno a glucosa y de ésta a ácido láctico (con gran requerimiento de oxígeno) siguiendo la vía de Embden Meyerhoff (Timmerman, 1987).

Sus efectos en el metabolismo de las grasas son difíciles de definir: por una parte actúan indirectamente en la deposición grasa, al aumentar el ritmo metabólico y el gasto energético de los animales tratados y al disiparse con la termogénesis parte de la energía ingerida, así se evita la formación de grasa. Por otra, se produce un efecto directo basado en el aumento de los niveles de AMP cíclico en el tejido adiposo (Ricks y col., 1984). El ATP se transforma en AMP cíclico que activa una proteinaquinasa que por fosforilación estimula una lipasa intracelular que transforma los triglicéridos en ácidos grasos y glicerol (Fain y García-Sainz, 1983). Así pues, se produce un aumento de la lipólisis.

En cuanto al metabolismo de las proteínas, se ha observado en los animales tratados con β-agonistas un aumento notable de la retención de nitrógeno (medido por la excreción de creatinina), en comparación con los testigos sin tratar (Emery y col., 1984). El efecto anabólico se limita casi exclusivamente al músculo esquelético y se debe más a la hipertrofia que a la hiperplasia de las fibras musculares, lo que se aprecia especialmente en el cuarto trasero, esto es, en los cortes comerciales de carne más demandados (Baker y col., 1984).

La ventaja práctica del empleo de los β-agonistas como agentes de reparto estriba en que son activos *per os* y por tanto pueden administrarse mezclados con el pienso (Sanz, 2000). En algunos casos también se suministran en forma de implantes subcutáneos de liberación retardada (Hanraban, 1987).

Puesto que los β-agonistas son sustancias muy activas y de uso terapéutico generalizado, se dispone de bastantes datos sobre su toxicidad aguda pero de muy pocos sobre la crónica y sobre el comportamiento de sus residuos. Si bien no se ha confirmado, se piensa que algunos β-agonistas podrían ocasionar efectos teratógenos y mutágenos. Mientras no se disponga de un conocimiento más profundo de su toxicología animal no podrá garantizarse su seguridad. Como señalan García y col. (1987): «para que el control de los residuos sea efectivo se requiere la existencia de un marco legal de referencia que establezca los criterios a seguir».

Esto fue lo que llevó a cabo la Directiva 96/23/CEE (DOCE del 3-5-1996). Esta Directiva indica las sustancias a investigar y su muestreo para controlar los residuos en los animales de granja, en sus carnes, en la leche, en los huevos y en la miel.

Aditivos de los piensos

Los aditivos de los piensos son sustancias que se les añaden, sin intención de aumentar su valor nutritivo, sino para que los ingieran los animales con más fruición, lo que se traduce en una mayor ingesta de los mismos y en consecuencia en un mejor rendimiento cárnico.

Se trata generalmente de colorantes (carotenoides), antioxidantes, conservantes, sustancias aromáticas y mezclas de los mismos. Sus residuos son inexistentes por las pequeñas cantidades adicionadas y sobre todo porque se metabolizan y excretan rápidamente.

RESIDUOS DE CONTAMINANTES AMBIENTALES

La industria moderna utiliza una variedad enorme de sustancias químicas naturales y sintéticas, en un rango de productos muy variado y en continuo crecimiento. Su empleo requiere una tecnología tan rápidamente cambiante que las instituciones de control alimentario han de estar siempre alerta y hacer un gran esfuerzo normativo para que sus servicios de seguridad alimentaria puedan realizar en todo momento una inspección racional y fiable de los alimentos.

Por ignorancia, accidente o irresponsabilidad, la industria ha vertido al medio ambiente muchas sustancias contaminantes peligrosas que, directa o indirectamente, han terminado en la población humana y animal. La contaminación de los alimentos es una de las vías de penetración de los productos tóxicos y sus residuos en el organismo humano; el aire y el agua constituyen otras rutas importantes. En esta sección estudiaremos brevemente algunos metales tóxicos, los bifenilos polihalogenados y las dioxinas.

Metales pesados

La utilización industrial de los metales (en plaguicidas, pinturas, barnices, tuberías, gasolina, etc.) los ha hecho tan ubicuos en el medio ambiente que muchas personas han expresado su preocupación por el papel que desempeñan los más tóxicos en la contaminación ambiental. Se ha comprobado que la concentración pulmonar de diversos metales va aumentando en las personas hasta que alcanzan los cuarenta años, tal aumento se debe a la acumulación de partículas insolubles. Además de los metales que, desde sus depósitos naturales (residuos geogénicos) llegan al agua, al suelo y al aire, en pequeñas cantidades, la actividad industrial es la causante de que sus concentraciones sean ahora mucho mayores.

Plomo

Posiblemente es el metal más estudiado toxicológicamente y el que más problemas ha creado en lo concerniente a vías de entrada en el organismo y al gran número de órganos y sistemas corporales a los que afecta.

Algunos historiadores piensan que el empleo continuado que los romanos hacían de recipientes a base de plomo, fue la causa de la inestabilidad mental y emocional de sus césares, senadores y tribunos y por lo tanto, de la caída del Imperio romano. A este respecto, la principal fuente de plomo era el mosto que, después de hervido en recipientes de cerámica barnizada con dicho metal, se añadía al vino, conservándose la mezcla en tinajas del mismo material y bebiéndose en vasos de plomo (Gilfillan, 1965).

Actualmente las principales fuentes de contaminación con plomo del medio ambiente son la fabricación de baterías para los motores de explosión, su incorporación a los antidetonantes de la gasolina y el uso en agricultura de insecticidas, como el arseniato de plomo, que en los años de 1950 a 1960 fue el preferido para combatir al escarabajo de la patata, pero que hoy afortunadamente ya no se usa. Hasta no hace muchos años, los botes o latas con soldadura lateral eran una fuente importante de plomo de muchos alimentos enlatados; en la actualidad, la utilización creciente de latas de dos piezas sin soldar ha hecho desaparecer, casi totalmente, los botes soldados. Los recipientes de cerámica barnizados con compuestos de plomo eran, hasta hace pocos años, una buena fuente de este metal que pasaba a los alimentos, especialmente en el caso de bebidas y alimentos ácidos (Meiklejohn, 1963; Somers y Smith, 1971).

En todos los alimentos analizados, incluso en los producidos lejos de zonas industriales y de autovías y autopistas, se ha encontrado plomo (OMS, 1977). Se ha calculado que la ingesta media de plomo a partir de los alimentos es de 0,2-0,4 mg/día y a partir del agua, de 0,01 mg/día. Se ha sugerido que aunque casi el 90% del plomo ingerido por la especie humana procede de los alimentos, únicamente se absorbe el 5%.

Mientras los compuestos orgánicos de plomo, como el tetraetilo, se absorben rápidamente casi en su totalidad (más del 90%), los inorgánicos lo hacen en pequeña cantidad (del 5 al 10%). Sin embargo, en los niños y especialmente en los lactantes, la absorción de los inorgánicos es bastante mayor: en torno al 40-50% (Ziegler y col., 1978).

El plomo absorbido se excreta principalmente por la orina (75%) y por las heces (16%). Varios factores dietéticos influyen en su absorción (Barltrop y Khoo, 1975); por ejemplo, es mayor después del ayuno prolongado, cuando está aumentado el contenido graso de la dieta y cuando ésta es deficiente en calcio (que compite con el plomo por los sitios de absorción en el intestino), en hierro o en cinc. Los factores dietéticos y el envejecimiento también influyen en la distribución tisular de plomo. Así, las dietas pobres en calcio, al retrasar la osteo-

génesis, limitan la cantidad de plomo que pueden almacenar los huesos. Por otro lado, la desorción ósea libera de los huesos una cantidad significativa de plomo, por ello la desmineralización que acompaña al envejecimiento libera parte del plomo inmovilizado en ellos.

Para disminuir los residuos de plomo de los alimentos y del medio ambiente, en general, hay que tomar una serie de medidas, como evitar las tuberías de este metal y de sus aleaciones en la conducción de aguas, utilizar gasolinas que no contengan antidetonantes derivados del mismo, prescindir de los insecticidas que lo lleven, prescindir también de las pinturas que lo contengan y por supuesto, sustituir en las prácticas culinarias los recipientes de cerámica barnizados con este elemento, por otros carentes del mismo.

Mercurio

Se trata de un metal pesado que siempre ha tenido un carácter mágico, desde su nombre —que lo comparte con un dios romano y con un distante planeta—, pasando por su aspecto líquido y brillante, hasta el ocupar en el mundo de los alquimistas un papel central, en la trasmutación de los metales en oro. A ello debe añadirse su empleo como amuleto y en medicina desde la época clásica (Goldwater, 1971; Hammond y Belides, 1980).

La intoxicación por mercurio metálico, llamada *hidrargirismo* o *mercurialismo* la han padecido los mineros que trabajaban en la obtención de este metal, desde, al menos, un siglo antes de Cristo, como se deduce de la descripción que de la misma hace Plinio el Viejo. Se trata de una enfermedad profesional que cursa con temblores, alteraciones renales (uremia y anuria), gingivitis, sialorrea, vértigo e irritación general.

Hasta 1950 se desconocía el peligro que el mercurio podría suponer para las personas y animales que no estaban implicados directamente en su minería y aprovechamiento industrial. En esa década, algunos ornitólogos suecos comprobaron una gran disminución de la población de aves depredadoras, consecutiva a la muerte de muchas aves granívoras. Se demostró (Johnels y Westermark, 1969; Löfroth, 1969) que las últimas morían por el consumo de semillas tratadas con compuestos orgánicos mercuriales. En 1953 tuvo lugar en Japón, en la bahía de Minamata, un brote tóxico humano, que duró hasta 1963 y que afectó a 121 personas (Irukayama, 1969). Desde entonces se conoce como enfermedad de Minamata.

Incidentes similares se produjeron, de 1965 a 1975, en las riberas del río Agano, en Niigata (Japón), donde enfermaron 516 personas de las que murieron 16. Además de las personas enfermaron muchos animales domésticos, sobre todo gatos, y también se vieron afectados peces, crustáceos y aves piscívoras. Otros brotes tuvieron lugar en Irak, Paquistán, Guatemala y EE.UU. En los tres

primeros países citados se debieron al consumo de pan elaborado con harina de trigo de siembra que se había tratado con compuestos alquil-mercúricos para evitar fitopatologías transmitidas con las semillas. El brote más numeroso fue el de Irak, en 1971-72, que afectó a 600 personas y produjo 500 defunciones (Bakir y col., 1973; Hammond y Belides, 1980). Al mismo tiempo que se investigaban en Japón los brotes de Minamata y Niigata, los científicos suecos encontraron en peces de agua dulce concentraciones altas de metilmercurio, debido a la contaminación del agua con vertidos industriales (fábricas de cloro y de pasta de madera) y a las escorrentías de campos de cereales cuyas semillas se habían tratado con derivados de mercurio (Friberg, 1970).

Hasta hace relativamente pocos años se pensaba que el mercurio era estable en el medio ambiente y por ello sus desechos se enterraban en el suelo o se depositaban en corrientes de agua. Hoy se sabe que si se vierte en un lago mercurio elemental, al llegar al fondo, las bacterias metanogénicas del sedimento realizan oxidaciones y alquilaciones, que rinden sustancias hidrosolubles (sales de Hg^{1+} y de Hg^{2+}) y liposolubles (compuestos alquílicos, como $(CH_3)_2$ Hg, etc.). Los dialquilmercurios son volátiles y transportables por el aire. Además forman sales con los ácidos inorgánicos y orgánicos (cloruros y acetatos, por ejemplo) y reaccionan con ligandos biológicos importantes, especialmente los grupos sulfhidrilo. Por tratarse de sustancias liposolubles atraviesan las membranas biológicas (Clarkson, 1972; OMS, 1976; Charlebois, 1977).

La importancia medio ambiental y toxicológica del mercurio ha sido estudiada con gran detalle por Robinson y Tuovinen (1984).

La principal fuente de mercurio de la dieta es el pescado (Goldwater, 1971). Además ocupa el nivel más alto de las cadenas tróficas acuáticas. Se sabe que, a partir de su entorno inmediato, los peces concentran el mercurio unas 1.000 veces más. Dentro de la misma especie, los peces más grandes contienen mayores cantidades porcentuales de mercurio que los pequeños. Los moluscos lamelibranquios alcanzan hasta 3.000 veces más mercurio que la concentración del agua que los rodea. En muchos países se ha comprobado que el 99% de las capturas de pescado no superan los 0,5 mg de mercurio por kilo. Estos 0,5 mg de mercurio o, lo que es igual, las 0,5 ppm, constituyen el nivel máximo aceptable de mercurio, establecido para pescados y mariscos por la FDA estadounidense. En cambio la OMS ha fijado para otros alimentos un nivel máximo aceptable de 0,05 ppm.

De acuerdo con este nivel o concentración la OMS (1972) ha sugerido un nivel tolerable de mercurio de 0,3 mg. de Hg/semana, con la condición de que el metil mercurio no supere los 0,2 mg. En muchos países se ha comprobado analíticamente que en muchas de las especies de pescado, consumidas regularmente, las concentraciones de mercurio superan las 0,5 ppm recomendadas. Esto se atribuyó, en un principio, a la contaminación actual de las aguas, hasta que se comprobó que las concentraciones de mercurio de los peces conservados en museos no habían apenas cambiado en los últimos cien años. De otra parte, según Shiba-

moto y Bjeldanes (1996), ...«el mercurio del pescado es menos tóxico que el mercurio metal». También se ha visto que su toxicidad disminuye en presencia de selenio, elemento que se encuentra también en el pescado, en la proporción de 1:1. Se necesitan más investigaciones para explicar estos hechos.

La cantidad de mercurio absorbida depende del sitio de absorción y de la forma química del mercurio; así en el tracto gastroentérico se absorbe menos del 0,01% del mercurio metálico ingerido; sin embargo, el 80% aproximadamente del metal inhalado se absorbe por el tracto respiratorio. En cuanto a la absorción de sus sales varía, del 2% de la ingesta diaria de cloruro de mercurio en los ratones, al 20% de acetato mercúrico en las ratas.

Los compuestos alquílicos, al ser liposolubles, se absorben en cantidades mucho mayores que las formas inorgánicas. El metilmercurio, que se absorbe casi en su totalidad, pasa a la sangre donde se une a los glóbulos rojos, distribuyéndose después por los riñones, el colon, los músculos y otros tejidos. Sus concentraciones en la sangre fetal son mayores que en la materna, debido a la mayor concentración de hemoglobina en el feto. El metilmercurio atraviesa lentamente la barrera hematoencefálica, siendo más lenta su eliminación del cerebro que de otros tejidos y alcanzando una concentración unas diez veces mayor que en la sangre.

Para minimizar los residuos de mercurio en los alimentos, tanto los organismos internacionales (OMS, FAO, IAEA), como muchos nacionales han establecido normas de obligado cumplimiento (Smart, 1986).

Cadmio

Se encuentra en la naturaleza en los mismos sitios que el cinc y constituye un subproducto de las minerías de este metal y de las de plomo. Se utiliza para galvanizar y prevenir la herrumbre de otros metales y en la fabricación de baterías y plásticos.

El agua, los alimentos y el tabaco son las fuentes principales a las que está sometida la especie humana. Generalmente los alimentos contienen menos de 0,05 ppm, lo que corresponde a 0,5 mg de cadmio por semana. Según la OMS, los alimentos que contienen los niveles mayores de este metal son los mariscos y los riñones de los animales de abasto; los riñones superan con frecuencia las 10 ppm y algunos bivalvos, como las ostras, llegan a las 200-300 ppm. Las semillas de algunas legumbres contienen 0,09 ppm, mientras que otros alimentos vegetales son muy pobres en cadmio (por ejemplo, 0,003 ppm en las manzanas).

Los distintos componentes de la dieta normal proporcionan unos 73 μg de cadmio/día y por persona, cifra que no difiere significativamente de la ingesta tolerable establecida, provisionalmente, por la OMS (57-71 μg/día). En consecuencia, las concentraciones de cadmio de la dieta no suponen peligro para las

personas, en general. No obstante, los individuos que ingieren cantidades excesivamente grandes de moluscos bivalvos y de riñones podrían superar la ingesta tolerable propuesta por la OMS (Kopps y col., 1982).

En comparación con el plomo y el mercurio es poco lo que se sabe sobre los efectos del cadmio en la especie humana, sólo que el 5% del administrado oralmente se absorbe en el tracto gastrointestinal. Al variar la solubilidad de las distintas sales, también varían las cantidades absorbidas de las mismas. La absorción del cadmio puede duplicarse en individuos con deficiencias de calcio, proteínas y cinc.

La distribución del cadmio absorbido se ha estudiado en los animales de laboratorio. En las ratas, a las 48 horas de administrado, se distribuye por el hígado, bazo, adrenales y duodeno. La acumulación es más lenta en los riñones, cuyos niveles máximos se alcanzan el sexto día después de su administración. Salvo que los dosis sean anormalmente grandes, las concentraciones de cadmio renales son unas diez veces mayores que las hepáticas. Cuando las dosis son muy altas, los niveles de cadmio son iguales en ambos órganos.

El cadmio es muy estable en el organismo habiéndosele calculado una semivida biológica de veinte a cuarenta años. Se cree que la metalotioneína es la responsable de una semivida tan larga. A medida que aumentan los niveles de cadmio del organismo también lo hacen los de metalotioneína. No obstante, no está claro por qué son los riñones el sitio de mayor concentración de cadmio, ya que también hay metalotioneína en otros varios órganos. La metalotioneína, *per se,* no disminuye la toxicidad del cadmio; de hecho el complejo cadmio-metalotioneína es más tóxico que el cadmio libre. Ciertos componentes de la dieta eliminan o disminuyen algunos efectos tóxicos del cadmio, por ejemplo, el cinc, cobre, hierro y ácido ascórbico actúan como agentes protectores, pero el mecanismo de tal protección aún no se conoce suficientemente.

El cadmio ha sido responsable, al menos, de un brote epidémico humano debido a los alimentos contaminados. Tuvo lugar en Japón, después de terminada la II Guerra Mundial, en el valle del río Jintsu. Los médicos locales observaron muchos casos de alteraciones renales y desórdenes musculares que se acompañaban de intenso dolor. La enfermedad se conoció en Japón como *itai-itai byo* que, traducido libremente significa *enfermedad del ¡ay, ay!* Pronto se comprobó que, además del consumo del alimento contaminado, se requerían otros factores en el paciente para que se iniciase la enfermedad. Entre ellos se incluyen: gestación, lactancia, envejecimiento y deficiencia de calcio. La fuente dietética de la intoxicación por cadmio fue un arroz contaminado que contenía una concentración de cenizas de 120-350 ppm, frente a las 20 ppm del arroz normal de la zona. Se pensó que la fuente de cadmio era una explotación minera de plomo-cinc-cadmio situada aguas arriba de los campos de arroz.

Aunque la mayoría de los científicos están de acuerdo en que el cadmio es el causante del *itai-itai*, algunos mantienen bastantes reservas sobre esta hipóte-

sis y como señalan Shibamoto y Bjeldanes (1996), al menos hay una evidencia que sugiere que el cadmio no es la única causa de la enfermedad: El haber encontrado en Japón muchas zonas arroceras, cuyas cosechas contienen grandes concentraciones de cadmio, sin que por ello se hayan señalado casos de la enfermedad entre quienes siempre han consumido el arroz de dichas zonas.

Bifenilos policlorados

Comprenden una serie de sustancias que tienen en común un núcleo de bifenilo al que se une un número grande de átomos de cloro, como se aprecia en la Figura 2. El número de átomos de cloro varía de unos bifenilos a otros. Se identificaron por primera vez en 1881, aunque sólo se han utilizado industrialmente a partir de 1929. Las preparaciones comerciales son mezclas de bifenilos policlorados (PCB), que varían en sus porcentajes de cloro. Los PCB son químicamente inertes, insolubles en agua y resistentes a los ácidos, álcalis y productos químicos corrosivos. Al tener puntos de ebullición altos, pueden calentarse y enfriarse sin descomponerse.

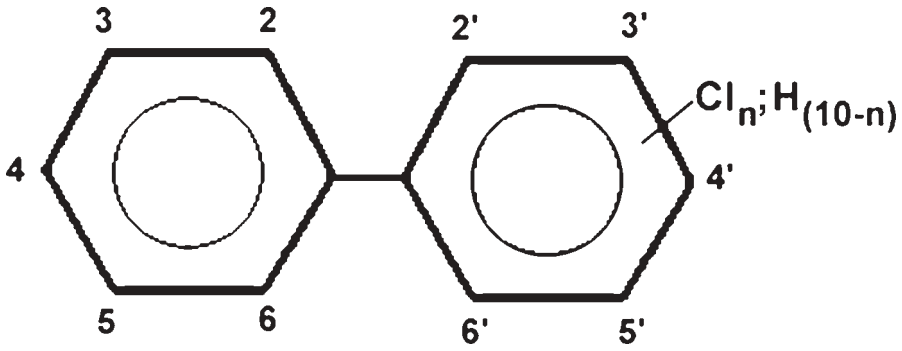


Figura 2. *Estructura de los bifenilos policlorados.*

Por estas propiedades se han empleado como aislantes en transformadores y condensadores eléctricos y como líquidos hidráulicos. También se han utilizado mucho en plastificantes, pinturas, lubricantes, cintas aislantes, productos antiinflamables, tintas y plaguicidas comerciales. Los PCB guardan cierto parecido con el DDT, pero son mucho más estables y por tanto persisten todavía más en el medio o ambiente. En el decenio de 1960 en muchas muestras de alimentos se detectaron PCB, como contaminantes del DDT. A veces sus concentraciones eran superiores a las del insecticida.

En los alimentos corrientes la concentración de bifenilos policlorados siempre es menor de 10 pp/millardo, salvo en algunos grasos, donde se alcanzaron

las 150 pp/millardo. Dada su gran estabilidad y liposolubilidad los PCB se acumulan siguiendo las cadenas alimentarias de peces y mamíferos (Johnson y col., 1981). La FDA permite en los alimentos las siguientes concentraciones: 2 ppm en pescados y mariscos, 1,5 ppm en la grasa de los productos lácteos, 3 ppm en la de las aves y 0,3 ppm en la de los huevos.

Los PCB se absorben bien en el tracto digestivo (en torno al 90%) y se acumulan preferentemente en el tejido adiposo, seguido de la piel, adrenales y aorta, por este orden, la concentración más pequeña es la de la sangre. Las heces son la principal vía de excreción y por la orina se elimina menos del 10%. Mientras que la excreción del PCB por la leche de mujer es mínima, en comparación con la eliminada por las heces y la orina, en las vacas la leche constituye la vía fundamental de eliminación. De aquí que las vacas lactantes alimentadas con piensos y forrajes que contienen PCB, produzcan leche contaminada.

La intoxicación aguda y crónica por PCB ha sido muy estudiada en ratones, conejos, ovejas, cerdos y monos. En cerdos a los que se suministraron 20 ppm, desde el destete al sacrificio, sólo produjeron una disminución de la eficacia del pienso con una caída de la ganancia diaria de peso. Las ovejas alimentadas con pienso, que contenía también 20 ppm, no experimentaron variación alguna. En cambio, las gallinas que recibieron con el pienso 50 ppm de PCB produjeron huevos que sometidos a incubación presentaron un incremento significativo de embriones inviables, así como pollitos con deformidades en patas, dedos y cuello. De las conejas alimentadas con 25 mg de PCB / Kg de pienso, durante 21 días, abortó una de cada cuatro.

Aunque los PCB son cancerígenos, relativamente débiles, no deben olvidarse sus posibles efectos en el metabolismo de otros cancerígenos más potentes.

En la especie humana los efectos de la toxicidad aguda por PCB se han debido a contaminaciones a gran escala de los alimentos a consecuencia de accidentes industriales. En 1968 se produjo una gran intoxicación en Japón, conocida como *enfermedad de Yusho* (enfermedad *del aceite* en japonés), debida al consumo de arroz contaminado con 2000-3000 ppm de PCB (Kuratsume y col., 1972). La contaminación se produjo cuando se mezcló con agua un líquido transfiriente de calor, a base de PCB, y después se utilizó para regar arrozales. Por el consumo del arroz producido se intoxicaron unas 1.000 personas que presentaron cloracné, pigmentación de la piel y de las uñas, lagrimeo, inflamación generalizada, debilidad, cansancio, vómito, diarrea y pérdida de peso. La sintomatología tardó mucho en desaparecer (en algunos casos, un año).

Los residuos de PCB han disminuido mucho en los últimos diez años por dos razones:

1. Porque los fabricantes han bajado voluntariamente su producción y ya no los emplean en circuitos abiertos, en los que los PCB tienen mayores probabilidades de llegar al medio ambiente y

2. Porque algunas agencias gubernamentales han establecido las concentraciones máximas permitidas en alimentos y en sus materiales de envasado.

La eliminación de los PCB es un problema grave, dado que su incineración requiere alcanzar los 1.000º C durante bastante tiempo. A comienzos de 1981 la EPA (Agencia de Protección Ambiental de los EE.UU.) había aprobado dos incineradores de PCB (Anónimo, 1918), poco más tarde un barco incinerador especial de bandera estadounidense, incineró en algún lugar del Golfo de México residuos de PCB con una eficacia del 99,99% (Kruus y Valeriote, 1984).

Bifenilos polibromados

Los bifenilos polibromados (PBB) se parecen a los PCB con los que se han confundido a veces; ambos conjuntamente se han denominado bifenilos halogenados.

La intoxicación más grave y mejor estudiada ocurrió en Michigan (Carter, 1976; McGinty, 1977), donde la empresa *Chemical Co* fabricaba PBB bajo el nombre comercial de *Firemaster*, que se utilizaba como antiinflamable e ignífugo. Esta misma empresa elaboraba un aditivo para los piensos animales que vendía bajo el nombre de *Nutrimaster*. Por un error en la sección de envasado de piensos se incorporó a los mismos Firemaster (esto es, PBB) en lugar de Nutrimaster. Esto acarreó la muerte de 3.000 cabezas de vacuno, 1,5 millones de pollos y otros muchos animales útiles cuyas pérdidas se calcularon en 100 millones de dólares USA (McGinty, 1977). Además alrededor de 800 labradores de Michigan, que comieron alimentos contaminados con PBB, sufrieron diversas dolencias: Dolor hepático, inflamaciones articulares y gran fatiga (agotamiento). El estudio realizado por la *Mount Sinai School of Medicine,* señalaba que el 97% de la población del estado de Michigan se había contaminado. En hombres y niños se encontraron mayores concentraciones que en las mujeres.

La producción e importación de estos productos está prohibida en EE.UU., Canadá, la UE, y en otros muchos países.

Dioxinas

Dioxinas y furanos son dos familias de compuestos aromáticos con propiedades químicas muy parecidas. Se diferencian en el número de átomos de oxígeno de sus moléculas, dos en las dioxinas y uno en los furanos, como se aprecia más abajo (Figura 3). Las posiciones numeradas (de 1 a 9) pueden estar ocupadas por átomos de cloro o de hidrógeno. Hasta ahora se conocen 75 dioxinas y 135 furanos; entre estos dos grupos de compuestos sus miembros se diferen-

cian entre sí por el número de átomos de cloro que poseen y por la posición que ocupan en los anillos. Son muchas las fuentes naturales (geogénicas) de dioxinas y furanos, destacando entre ellas las erupciones volcánicas y los incendios forestales. Entre las fuentes antropogénicas sobresalen las incineradoras de residuos de centrales térmicas, la incineración de basuras, fabricación de compuestos organoclorados (como el herbicida 2,4,5-triclorofenato), los procesos de la industria textil y papelera y otros.

La más tóxica es la tetraclorodibenzo-p-dioxina (TCDD); tiene 22 isómeros distintos que suelen presentarse mezclados en el medio o ambiente, siendo el isómero 2,3,7,8-tetraclorado el más estudiado por su gran toxicidad (véase su estructura en la Figura 4). A temperatura ambiente, la TCDD es sólida y cristalina, incolora, funde a 305º C y químicamente es muy estable, resistiendo sin alterarse temperaturas de hasta 700º C. Es lipófila y se liga fuertemente al material particulado de los suelos. Es poco soluble en agua y en la mayoría de los líquidos orgánicos.

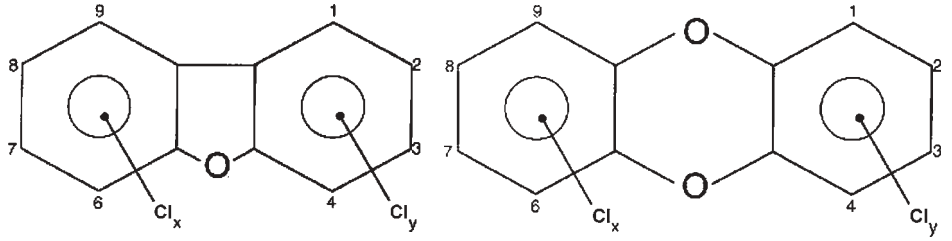


Figura 3. *Estructuras de furanos (izquierda) y dioxinas (derecha).*

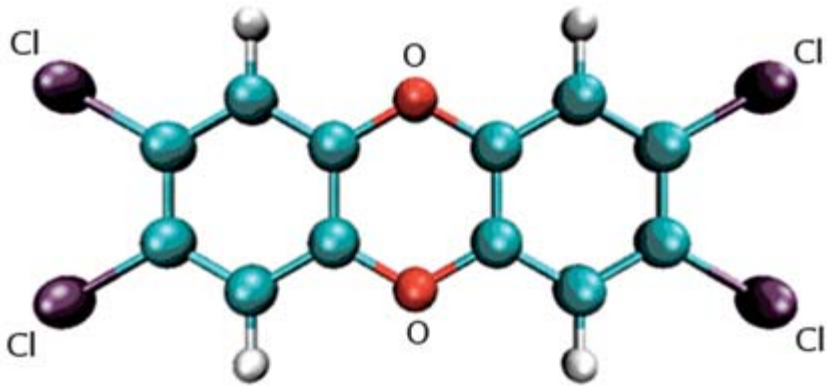


Figura 4. *Estructura de la TCDD.*

La especie más sensible a esta dioxina es el cobaya, con una DL_{50} *per os* de 1 mg/Kg de peso, mientras que el criceto es la especie más resistente de todas las ensayadas, siendo su DL_{50} por vía bucal unas 10.000 veces mayor que la del cobaya. La TCDD causa muchos efectos en los animales y su gravedad, como acabamos de ver varía con la especie animal. Por ejemplo, las ratas mueren por alteración hepática y los cobayas por una especie de agotamiento de las adrenales, como en la inanición. El síntoma más corriente de la intoxicación por TCDD es el cloracné que se ha observado en la especie humana, conejos, ratones, monos y caballos. Esta alteración, que se desarrolla corrientemente a las dos o tres semanas que siguen a la exposición, necesita para desaparecer de varios meses a muchos años. En muchas especies animales (Poland y Knuston, 1982) se observaron lesiones renales graves, lo que ha llevado a muchos investigadores a concluir que el riñón es el órgano diana específico de las TCDD. Otras lesiones descritas son: atrofia hipotalámica, pérdida de uñas y pestañas, edema, infección de la médula ósea, polineuropatía y piel seca y escamosa.

Los efectos cancerígenos de la TCDD han sido estudiados con cierto detalle: es un promotor de la cancerogénesis y también un potente carcinógeno por sí mismo. También es un potente teratógeno en ratones y conejos.

Aunque los resultados de los experimentos con animales de laboratorio demuestran, sin lugar a dudas, la gran toxicidad, teratogenicidad y probable genotoxicidad de la TCDD, *las consecuencias de las exposiciones accidentales humanas sugieren que las personas son menos sensibles a los efectos tóxicos de la TCDD que las especies animales*. Se han descrito cientos de accidentes industriales cuyos operarios se han visto expuestos a dosis únicas, relativamente grandes, de esta dioxina. En 1976, en Seveso (Italia), unos 37.000 individuos estuvieron expuestos a la TCDD por un accidente ocurrido durante la fabricación de triclorofenol (herbicida y funguicida). El hallazgo más llamativo y significativo de las exposiciones industriales y del incidente de Seveso fue que *las personas son mucho más resistentes que los cobayas a los efectos tóxicos agudos de la TCDD*. Hasta la fecha no se conoce ni un solo caso mortal en las personas, que pueda atribuirse, sin ningún género de dudas a la exposición a la TCDD. El efecto más obvio y primero en observarse en las personas es el cloracné.

Otros síntomas que surgen al aumentar la exposición a esta dioxina son: fatiga, alteración de la respuesta del SN periférico (retraso en la transmisión de los impulsos nerviosos por las extremidades) y toxicidad hepática (incluida hepatomegalia y cambios en la concentración de muchas enzimas). Los resultados de las exposiciones industriales indican que estos síntomas desaparecen generalmente después de pocos años, como parece confirmarlo la experiencia de Seveso. Ni el episodio de Missouri de 1982, en el que murieron muchos animales, como ratas, ratones, gatos, perros y abundantes caballos, ni en el más reciente de Bélgica, han muerto personas por haber estado expuestas a la TCDD.

Los veteranos estadounidenses de la guerra del Vietnam que estuvieron expuestos a la TCDD y un grupo de habitantes de Oregon en donde utilizaban

corrientemente el herbicida 2,4,5-T para controlar la maleza han reclamado, sin éxito, por los efectos teratógenos de la TCDD, pero tampoco se detectaron en ellos efectos teratógenos. No obstante, unos pocos estudios, bien diseñados y controlados, sugieren que la exposición a esta dioxina ejerce un cierto papel en la formación de sarcomas en los tejidos blandos. En consecuencia y a pesar de lo expuesto, se reconoce que debe evitarse, cuanto sea posible, la exposición a estas sustancias y deben continuarse los estudios sobre su posible papel en la génesis de sarcomas.

BIBLIOGRAFÍA

(1) AL-SALEH, I. A. (1994): Pesticides: A review article. J. *Envir. Path. Toxicol. Oncol.*, **13** (3), 1951.
(2) ANÓNIMO (1981): First PCB disposal facilities. *Chem. Eng. News*, Feb., 16, 1981.
(3) BAKIR, F.; DAMLUJI, S. F.; AMIN-ZAKI, L.; MURTADHA, M.; KHALIDI, A.; AL-RAWI, N. Y.; TIKRITI, S.; DHARIR, H. I.; CLARSON, T. W.; SMITH, J. C., y DOHERTY, R. A. (1973): Methylmercury poisoning in Irak. An interuniversity report. *Science*, **181,** 230.
(4) BARLTROP, D. y KHOO, H. E. (1975): The influence of nutritional factors on lead absorption. *Posgrad. Med. J.*, **51,** 795.
(5) BARRAND, B.; LUGINER, A., y DIRHEIMER, G. (1984): Determination of the binding of trenbolone and zeranol to rat liver DNA *in vivo* as compared to 17-β-oestradiol and testosterone. *Food Add. Contaminants.* **1,** 147.
(6) BEERMAN, D. H. (1989): Status of current strategies for growth regulations. En: D. R. Campion; Hausman, G. H. y Martin, R. J. (eds.). *Animal Growth Regulation*. Plenum Press, New York.
(7) BICKEL, M. H. (1984): The role of adipose tissue in the distribution and storage of drugs. *Prog. Drug Res.,* **28,** 273.
(8) BLACK, A. L.; CHIU, Y. U.; FAHMY, M. A. H., y FUKUTO, T. R. (1973): Selective toxicity of N-sulfonylated derivatives of insecticidal methylcarbamate esters. *J. Agric. Food Chem.,* **21,** 743.
(9) BUSSER, H. R. (1975): Analysis of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in chlorinated phenols by mass fragmentography. *J. Chromatogr.,* **107,** 295.
(10) CARSON, R. (1962): *Silent Spring*. Hamish Hamilton. London.
(11) CARTER, L. J. (1976): Michigan's PCB incident: Chemical mix-up leads to disaster. *Science*, **192,** 240.
(12) CHARLEBOIS, C. T. (1977): An overview of Canadian mercury problems. *Science Council of Canada Supplement to Science Forus,* **10** (5).
(13) CLARKSON, T. W. (1972): The pharmacology of mercury compounds. *Ann. Rev. Pharmacol.,* **12,** 375.
(14) COHEN, M. M., y SAGI, M. (1979): The effect of nitro furans on mitosis, chromosome breakage and sister chromatid exchange in human peripheral lymphocytes. *Mutat. Res.,* **59,** 130.
(15) CONSEJO DE EUROPA (1984): Pesticide-advice and recommendations to be used by national and other authorities as well as manufactures concerned with the registration of agricultural and non-agricultural pesticides. 6th ed. Strasburg, 1984, 40.
(16) DAUGHADAY, W. H. y BARBANO, D. M. (1990): Bovine somatotropin supplementation of dairy cows. *J. Am. Med. Ass.,* **264,** 1003.

(17) DEL BONO, N.; D'AULA, S. y VIBELLI, C. (1977): Dose-response of patients with reversible bronchospasm to oral clenbuterol: Four doses compared. *Curr. Terap. Res.,* **22,** 376.
(18) Directiva 81/602/CEE del Consejo del 31 de julio (DOCE de 7 de agosto de 1981), prohibiendo determinadas sustancias de efecto hormonal y de efecto tireostático.
(19) EMERY, P. W.; ROTHWELL, N. J.; STOCK, M. J., y WINTER, P. D. (1984): Chronic effects of β-agonists on body composition and protein synthesis in the rat. *Biosci. Repts.,* **4,** 83.
(20) FAIN, J. N., y GARCÍA-SÁINZ, J. A. (1983): Adrenergic regulation of adipocyte metabolism. *J. Lipid. Res.,* **24,** 945.
(21) FAO (1986): International Code of conduct on the distribution and use of pesticides. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Roma, 28.
(22) FARBER, T. M. (1991): Anabolics: the approach taken in USA. *Ann. Res. Vet.,* **22,** 295.
(23) FIEMS, L. O. (1987): Effects of β-adrenergic agonists in animal productions and their mode of action. *Ann. Zootech.,* **36,** 271.
(24) FORGET, G. (1991): Pesticides and the third word. *J. Toxicol. Envirom. Health,* **32,** 11.
(25) FRAGA, M. S. y DE BLAS, C. (1991): Efectos de la utilización de la somatotropina bovina en los rendimientos y eficacia reproductiva del ganado vacuno de leche. *España Agrícola y Ganadera,* **1,** 26.
(26) FRIBERG, L. (1970): Report of a group of experts on Methylmercury in fish. *Nord. Hyg. Tidskr. Suppl., 3.*
(27) GARCÍA, T.; HERNÁNDEZ, P. E.; SANZ, B. y MARTÍN, R. (1997): Revisión: Los residuos en la inspección de la carne. *Food Sci. Technol. Intern.* **3,** 391.
(28) GILFILLAN, S. C. (1965): Lead poisoning and the fall of Rome. *J. Occup. Med.,* **7,** 53.
(29) GLATT, H. R.; METZLER, M. Y. y OESCH, F. (1979): Diethylstilbestrol and 11 derivatives. A mutagenicity study with *Salmonella typhymurium. Mutat. Research.,* **67,** 113.
(30) GOLDBERG, L. (1971): Trace chemical contaminants in food: Potential for harm. *Fd. Cosmetic Toxicol.,* **9,** 65.
(31) GOLDWATER, L. J. (1971): Mercury in the environment. *Sci. Am.,* **224,** 15.
(32) GROSSMAN, C. J. (1990): Genetic engineering and the use of bovine somatotropin. *J. Am. Med. Ass.,* **264,** 1028.
(33) GUEST, G. G. (1990): FDA regulation of biotechnology products. *Dickinson's FDA.* April 1, page 6.
(34) HAMMON, B. (1991): Bovinos tratados con BST. *Mundo Ganadero*, **4,** 75.
(35) HAMMOND, P. B. y BELIDES, R. P. (1980): Metals. *En Casarell and Doull's Toxicology, the basic Science of poisons*, 2nd Ed. (Doull, Klaasen & Andur, eds.). Macmillan, New York. Page 410.
(36) HANRABAN, J. P. (1987): *Beta-agonists and their effects on animal growth and carcass quality*. Elsevier Applied Science. London.
(37) HAPKE, H. J. y GRAHWIT, G. (1987): Residue of veterinary drugs, feed additives and environmental chemicals. En D. Stranch (ed.) *Animal production and environmental health*. Elsevier Science. Publishers. Amsterdam.
(38) HAQ, I. U. (1963): A gross poisoning in man. *Brit. Med. J.,* **1,** 1579.
(39) HERBST, A. L. y COLE, P. (1978): Epidemiologic and clinical aspects of clear cell adenocarcinoma in young women. En A. L. Herbst (ed.). *Intrauterine exposure to diethylstilbestrol in the Human*. American College of Obstetrics and Gynecology. Chicago.
(40) HOFFMAN, B., y EVERS, P. (1986): Anabolic agents with sex hormone-like activities; problems and residues. En A. G. Rico (ed.). *Drug Residues in Animals*. Academic Press Inc., Orlando, USA. Page 111.

(41) HOLMBERG, S. D.; OMSTERHOLM, M. T.; STENGER, K. A., y COHEN, M. L. (1984): Animal to man transmission of antimicrobial resistant salmonella: Investigation of U.S. outbreaks 1971-1983. *Science,* **225,** 833.
(42) IRUKAYAMA, M. (1969): The pollution of Minamata Bay and Minamata disease. *Adv. Poll. Res.,* **3,** 153.
(43) JIMÉNEZ GÓMEZ, S. y LLEÓ MORILLA, A. (1998): La incineración como tratamiento aplicable a diferentes residuos. En: *La salud, prioridad en el VI Programa de Medio Ambiente de la Unión Europea.* Monografía XI de la Real Academia Nacional de Farmacia (Coordinador L. Villanúa). R. A. Nacional de Farmacia. Madrid.
(44) JOHNELS, A. G., y WESTERMARK, T. (1969): Mercury contamination of the environment in Sweden. En: *Chemical Fallout: Current Research in Persistent Pesticides* (M. W. Miller y G. G. Berg, eds.). Charles C. Thomas. Springfield, Ill.
(45) JOHSON, R. D.; MANSKE, D. D. y PODEBARARAC, D. S. (1981): Pesticides, metal and other chemical residues in adult total diet samples. *Pest. Monitor J.,* **15,** 54.
(46) JUSKEVICH, J. C., y GUYER, C. G. (1990): Bovine Growth hormone: Human food safety evaluation. *Science,* **264,** 875.
(47) KALOYANOVA-SIMEONOVA, F. (1983): Pesticides hallogenated. En: *Encyclopaedia of occupational health and safety*. Vol. II. International Labour Office. Ginebra.
(48) KNOX, J.; TUCKERS, S. y FLANNIGAN, S. (1983): Paresthesia from cutaneous exposure to a synthetic pyretroid insecticide. *Arch. Dermatol.,* **120,** 744.
(49) KOPPS, S.; GLONED, T.; PERRY, H.; ERLANGER, M. y PERRY, E. (1982): Cardiovascular actions of cadmium at environmental exposure levels. *Science,* **272,** 837.
(50) KOPCHICK, J. J. y CIOFFI, J. A. (1991): Exogenous and endogenous effects of growth hormone in animals. *Livestock Prod. Sci.,* **27,** 61.
(51) KRUUS, P. y VALERIOTE, M. (1984): *Controversial Chemicals*. Multiscience Publication Ltd. Montreal. Page 153.
(52) KUIVINEN, J. y SLANINA, P. (1986): Effect of cooking on Invertin residues in meat. *Var. Foeda,* **38,** 280 (citado por Martín y col., 1992).
(53) KURATSUME, M.; YOSHIMURA, T.; MATSUZAKA, J. y YAMAGUCHI, A. (1972): Epidemiologic study on Yusho, a poisoning caused by the ingestion of rice oil contaminated with a commercial brand of polychlorinated biphenyls. *Environ. Health Perpest.,* **1,** 119.
(54) LAST, J. M. (1980): *Public Health and preventive medicine*. Appleton-Century Crofts. New York.
(55) LEVY, S. B. (1987): Antibiotic use for growth promotion in animals; ecologic and public health consequences. *J. Food Protect.,* **50,** 616.
(56) LÖFROTH, G. (1969): *Methylmercury*. Report of Working Group on Environmental Toxicology. Swedish National Science Research Council. Stockholm.
(57) LOLIGER, H. CH. (1978): Problematik der bewertung von warkstoffund Arzneimittelrukstanden in huhneireiem. *Arch. Lebensmittelhyg.,* **29,** 201.
(58) LONE, K. P. (1997): Natural sex steroids and their xenobiotic analogs in animal production: Growth, carcass quality, pharmacokinetics, metabolism, mode of action, residues, methods and epidemiology. *Crit. Revs. Food Sci. Nutri.,* **37,** 93.
(59) LUKENS, R. J. (1971): *Chemistry of fungicidal action*. Springer Verlag. New York.
(60) MARTÍN, R.; HERNÁNDEZ, P. E., y SANZ, B. (1992): Revisión: Residuos de tratamientos veterinarios y salud pública. *Rev. Esp. Cienc. Tecnol. Aliment.,* **32,** 461.
(61) MCGINTY, L. (1977): How a fire-retardant polluted Michigan. *New Scientist,* Dec. 22/29.
(62) MCLACHALAN, J. A.; WONG, A.; DEGEN, G. H. y BARRET, J. C. (1982): Morphological and neoplastic transformation of Syriam hamster embryo fibroblasts by diethylstilboestrol and analogous. *Cancer Research,* **42,** 3040.

(63) MEIKLEJOHN, A. (1963): The successful prevention of lead poisoning in the glazing of earthenware in the North Staffordshire potteries. *Brit. J. Ind. Med.*, **20,** 169.
(64) MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN (1984): Real Decreto 378/1984, sobre sustancias de acción antitiroidea y de acción hormonal. *BOE* 49 de 27 de febrero de 1984.
(65) MINISTERIO DE RELACIONES CON LAS CORTES Y DE LA SECRETARÍA DE GOBIERNO (1987): Orden del 20 febrero por la que se regula el uso de medicamentos veterinarios que contengan cloranfenicol en las especies de abasto. *BOE* número 48 del 25-02-1987.
(66) MINISTERIO DE RELACIONES CON LAS CORTES Y DE LA SECRETARÍA DE GOBIERNO (1987): Real Decreto 1423/1987, dando normas sobre sustancias de acción hormonal y tireostática de uso en animales. *BOE* número 280 del 23-11-1987.
(67) MOATS, W. A. (1988): Inactivation of antibiotics by heating in food and other substrates. *J. Food Protect.,* **51,** 491.
(68) MURPHY, S. D. (1980): Pesticides. En *Casarett and Doull's Toxicology, the basic science of poisons*. 2nd ed. (Doull, Klaasen y Amdur, eds.). McMillan, New York. Page 357.
(69) OMS, 1974. Evaluation of some pesticide residues in food. *Pesticide Residue Series,* **4.** Ginebra.
(70) OMS (1977): *Environmental Health Criteria. 3. Lead*. OMS. Ginebra.
(71) OMS (1986): Carbamate pesticides: a general introduction. *WHO Environmental Health Criteria,* **64.** OMS. Ginebra.
(72) OONITHAN, E. S., y CASIDA, L. E. (1968): Oxidation of methyl and dimethylcarbamate insecticide chemicals by microsomal enzymes and anticholinesterase activity of metabolites. *J. Agric. Food Chem.,* **16,** 28.
(73) PAGE, S. W. (1981): Cloranfenicol. Hazards of use and current regulatory environment. *Aust. Vet. J.,* **68,** 1.
(74) POLAND, A. y KNUTSON, J. (1982): 2,3,7,8-Tetrachloro-dibenzo-p-dioxin and related aromatic hydrocarbons: Examination of the mechanism of toxicity. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol*, **22,** 517.
(75) RICKS, C. A.; DARLYMPLE, R. H.; BAKER, P. K. e INGLE, D. L. (1984): Use of agonist to alter fat and muscle deposition in steers. *J. Anim. Sci.,* **59,** 1247.
(76) RICO, A. G. (1990): Medicamentos en veterinaria e higiene pública, en Derache, J. (ed.), *Toxicología y Seguridad de los alimentos*. Ediciones Omega, Barcelona.
(77) RICHOLD, M. (1983): An evaluation of the mutagenicity of anabolic hormones with particular reference to trenbolone. *Proc. OIE Symp. Anabolics in Animal Production*. New York.
(78) ROBENS, F. J. (1970): Teratogenic activity of several phtalimide derivatives in the golden hamster. *Toxicol. Appl. Pharmacol.,* **16,** 24.
(79) ROBINSON, J. y TUOVINEN, O. (1984): Mechanism of microbial resistance and detoxification of mercury and organomercury compounds: physiological, biochemical and genetic analysis. *Microbiol. Rev.,* **48,** 95.
(80) ROCHE, J. F. (1983): The use of natural steroids, hormones and xenobiotics. En: Meissonier, E. (ed.). *Anabolics in Animal Production*. OIE. Paris.
(81) RUDIGER, H. E.; HAENISH, F.; METZLER, M.; OESCH, F., y GLATT, H. R. (1979): Metabolites of diethylstilbestrol induce sister-chromatid exchange in human cultured fibroblasts. *Nature,* **281,** 392.
(82) SANZ, B. (1995): Problemas de salud pública ocasionados por el empleo en la alimentación animal del clenbuterol y otros agentes promotores del crecimiento. 1.ª parte. *Eurocarne,* **37,** junio de 1995.
(83) SANZ, B. (1995): Problemas de salud publica ocasionados por el empleo en la alimentación animal del clenbuterol y otros agentes promotores del crecimiento. 2.ª parte. *Eurocarne,* **38,** julio-agosto de 1995.

(84) SANZ, B. (1995): Salud humana y xenobióticos animales. En: Villanúa, L. (coord.): *La salud, prioridad en el VI Programa de Medio ambiente de la Unión Europea.* Monografía XI de la R.A.N.F. Real Academia Nacional de Farmacia. Madrid.
(85) SCHMITZ, P.; PELZER, G.; DEGRAEVE, J.; DEGAND, G.; GASPAR, P., y MACHUIN-ROGISTER, G. (1990): Physicochemical methods for the determination of agonist used as repartitioning agents in meat production. En: Haagsma, N. (ed.), *Euresidue-conference on residues of veterinary drugs in food*. Marloie, Bélgica.
(86) SHIBAMOTO, T. y BJELDANES, L. F. (1996): Introducción a la toxicología de los alimentos. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza.
(87) SMART, N. A. (1986): Residues of mercury compounds. *Residue Rev.,* **23,** 3.
(88) SOMERS, E., y SMITH, D. M. (1971): Source and occurrence of environmental contaminants. *Fd. Cosmet. Toxicol.,* **9,** 185.
(89) STEELE, J. J. y BERAN (1984): Perspectives in the uses of antibiotics and sulfonamides and public health. *Handbook series in zoonoses*, Vol. 1. CRS. Press, London.
(90) SULLIVAN, T. J.; WEDNER, J.; SHATZ, G. S.; YECIES, L. D., y PARKES, C. W. (1981): Skin testing to detect penicillin allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.,* **68,** 171.
(91) TANNOCK, G. W. (1988): The normal microflora: new concepts in health promotion. *Microbiol. Sci.,* **5,** 4.
(92) TAYLOR, M. A. y HUNT, K. R. (1989): Anthelmintic drug resistance in the U.K. *Vet. Rec.,* **125,** 143.
(93) TIMMERMAN, H. (1987): Adrenergics: physiology, pharmacology, applications, structures and structure-activity relationships. En: Hanrahan, J. P. (ed.). *Beta-agonists and their effects on animal growth and carcass quality*. Elsevier Applied Science. London.
(94) TROPILO, J. (1985): Effect of heating on the inactivation of penicillin. *Med. Vet.,* **41,** 276.
(95) VAN SCHOTHORST, M., y NOUWS, J. F. M. (1987): Public health aspects of antibiotic usage in animal husbandry. En: Strauch, D. (ed.), *Animal production and environmental health*. Elsevier Science Publishers. Amsterdam.
(96) WARREN, M. C.; CONRAD, J. P.; BOCIAN, J. J., y HAYES, M. (1963): Clothing-borne epidemic. Organic phosphate poisoning in children. *J. Am. Med. Assoc.,* **184,** 266.
(97) WIGGINS, J. P.; WILSON, L. L.; ROTHENBACHER, H. y DAVIS, S. L. (1976): Effects of diethylstilbestrol, zeranol, and sex hormones on live blood metabolites, carcass and endocrine characteristics of lambs. *J. Anim. Sci.,* **43,** 518.
(98) WILSON, R. C. (1994): Antibiotic residue and public health. En: Crawforn, L. M. and A. A. Franco (eds.). *Animal drugs and human health*. Technomic Publishing Co. Inc., Lancaster, USA.
(99) WOLFE, D. F. (1983): Manipulation of cattle for daylight calving. *Med. Vet. Pract.,* **64,** 21.
(100) ZIEGLER, E. E.; EDWARDS, B. B.; JENSEN, R. L.; MAHAFLEY, K. R. y FOMON, S. J. (1978): Absorption and retention of lead by infants. *Pediatric Res.,* **12,** 29.
(101) ZAVON, M. (1971): Treatment of organo phosphorus and chlorinated hydrocarbon insecticide intoxications. *Mod. Treat.,* **8,** 503.

VI. Reutilización de aguas residuales urbanas

GLORIA GARRAFÓN LAFUENTE



Doctora en Ciencias Químicas. En 1991 se incorporó a la empresa Cadagua, S. A., perteneciente al grupo Ferrovial Agromán, dedicada a la ingeniería, construcción y mantenimiento de plantas para el tratamiento y depuración de aguas. Desde 1997 realiza su actividad en el Departamento de I+D, como investigador principal.

El agua es un factor indispensable para la vida y determinante para el desarrollo de la sociedad, no imaginándonos cómo las grandes civilizaciones de la antigüedad podían haber conseguido tal grado de desarrollo si su existencia no hubiera estado ligada al discurrir de los ríos que cruzaban sus territorios. En la actualidad, las diferentes actividades humanas precisan agua en cantidad creciente con unos requerimientos de calidad cada vez más restrictivos. Satisfacer estas necesidades resulta difícil, debido al desequilibrio entre la demanda y los recursos, por lo cual se debe trabajar en dos direcciones:

- Disminuir la demanda, mejorando la gestión reduciendo las pérdidas en las redes de distribución y mediante campañas de concienciación social.
- Aumentar la oferta, aplicando nuevas tecnologías para el tratamiento de aguas.

En esta situación, el agua residual urbana se ha convertido en un recurso hídrico con posibilidades de empleo en numerosos campos. Su recuperación debe considerarse como una etapa más dentro del ciclo del uso del agua que permita disponer de un nuevo recurso hídrico y conservar otros de mayor calidad para usos más exigentes. Sin embargo, en este nuevo escenario, debe prestarse especial atención a su calidad fisicoquímica y microbiológica para evitar en todo momento daños a la salud pública y al medio.

Desde la aparición en 1914 del sistema de fangos activos desarrollado por Arden y Locket, los tratamientos aplicados en la depuración de aguas residuales

urbanas emplean dicha tecnología como tratamiento secundario. A lo largo de los años esta tecnología ha sufrido numerosas modificaciones, buscando mejorar la eficacia en cuanto a la eliminación de materia orgánica y nutrientes (fósforo y nitrógeno), reducir el espacio requerido por la instalación o los costes económicos derivados del proceso, sin quedar resueltos los aspectos sanitarios. Durante estos tratamientos hay una reducción de los microorganismos en el efluente tratado (Tabla 1), pero no la adecuada para su reutilización. Todo ello ha dado lugar al desarrollo de nuevas tecnologías que hoy día se aplican como tratamiento adicional denominado genéricamente terciario.

TABLA 1. *Porcentajes de eliminación de microorganismos en el tratamiento convencional de aguas residuales* (1)

Microorganismo	*Tratamiento primario*	*Fangos activos*	*Biofiltro*
Coliformes fecales	<10	0-99	85-99
Salmonella	0-15	70-99+	85-99+
Mycobacterium tuberculosis	40-60	5-90	65-99
Shigella	15	80-90	85-99
Entamoeba histolytica	0-50	Limitado	Limitado
Huevos de Helminto	50-98	Limitado	60-75
Virus entéricos	Limitado	75-99	0-85

Son varias las aplicaciones que se puede dar al agua residual depurada, tales como la reutilización agrícola y forestal, usos industriales, servicios públicos (incendios, lavado de calles y automóviles), usos ornamentales y recreativos, mejora y preservación del medio natural y recarga de acuíferos, cada uno de los cuales exige una calidad determinada para que la reutilización sea segura.

REGLAMENTACIÓN

Actualmente existen distintas normativas para regular el uso de aguas residuales, entre las que se encuentra las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (2), donde se insiste en la necesidad de controlar parámetros de tipo microbiológico, como son los coliformes fecales y los nemátodos. Estas recomendaciones (Tabla 2) han sido consideradas con diferentes variaciones a través de todo el planeta.

A nivel europeo, la única reglamentación sobre esta materia es la declaración del articulo 12 de la Directiva sobre Aguas Residuales (3): *«Las aguas residuales tratadas deberán reutilizarse cuando sea adecuado»*. A pesar de esto, pocos esta-

dos miembros de la UE tienen estándares y reglamentaciones integrales para la reutilización de aguas residuales.

TABLA 2. *Parámetros de Calidad Microbiológica Recomendados para la Reutilización de Aguas Residuales en la Agricultura* (2)[a]

Categoría	*Reutilización aplicada*	*Grupos expuestos*	*Nematodos Intestinales*[b] (media aritmética del número de huevos por litro[c])	*Coliformes Fecales* (media geométrica del número de coliformes por cada 100 ml[c])	*Tratamiento de aguas residuales para llegar a la calidad microbiológica requerida*
A	Riego de cultivos de productos que se consumen sin cocinar, de campos de deporte y de parques públicos	Trabajadores, consumidores y público	≤ 1	≤ 1000[d]	Una serie de lagunas de estabilización para conseguir la calidad microbiológica indicada o tratamiento equivalente
B	Riego de cultivos de Cereales y especies industriales, forrajes, pastos y árboles[e]	Trabajadores	≤ 1	Sin estándares recomendables	Retención en lagunas de estabilización durante 8-10 días o eliminación equivalente de helmintos y coliformes fecales
C	Riego localizado de cultivos de la categoría B cuando no haya exposición de público y trabajadores	Ninguno	No aplicable	No aplicable	Pretratamiento, dependiendo del sistema de riego.

[a] En determinados casos hay que tener en cuenta la epidemiología local y los factores ambientales, socioculturales; modificando las directrices conforme estos.
[b] *Ascaris, Trichuris* y anquilostoma.
[c] Durante el período de riego.
[d] Conviene establecer una directriz más estricta (≤ 200 CF/100 ml) para zonas públicas en las que la población puede entrar en contacto directo.
[e] En el caso de árboles frutales, el riego se tiene que interrumpir dos semanas antes de la cosecha del fruto y no se ha de recoger ningún fruto del suelo. No se ha de utilizar el riego por aspersión.

La situación de España se caracteriza por tener un déficit hídrico en gran parte de su territorio, lo que conlleva a una búsqueda de nuevos recursos entre los que destaca las aguas residuales urbanas.

Hoy día se trabaja en la elaboración de una nueva normativa destinada a la reutilización de aguas residuales dentro del territorio Español. Se sabe de la existencia de la *Propuesta de Calidades Mínimas Exigidas para la Reutilización Directa de efluentes Depurados Según los Distintos Usos Posibles, así como Aspectos Relativos a la Metodología, Frecuencia de Muestreo y Criterios de Cumplimiento de los Análisis Establecidos, para Incluir en una Normativa de Carácter Estatal,* que ha sido preparada por el Ministerio de Medio Ambiente (4). En dicho documento se reflejan las calidades mínimas exigidas para la reutilización de efluentes depurados en función de los distintos usos, incluyéndose dos cuadros:

- Cuadro I: Estándares de calidad biológicos y físico-químicos en función de los distintos usos (Tabla 3).
- Cuadro II: Límites sobre parámetros tóxicos para los usos de riego agrícola (Tabla 4).

TABLA 3. *Propuesta de Criterios Físico-Químicos y Biológicos mínimos obligatorios de Calidad a conseguir en el Agua Residual Depurada a Reutilizar*

	Criterios de Calidad				
	Biológica		**Físico-Química**		
Uso del Agua Residual Tratada	Huevos de Nemátodos	**E. coli**	Sólidos en Suspensión	**Turbidez**	**Otros Criterios**
Usos domiciliarios: riego de jardines privados, descarga de aparatos sanitarios, sistemas de calefacción y refrigeración de aire domésticos y lavado de vehículos	**< 1 huevo/ 10 l**	**0 ufc/ 100 ml**	**< 10 mg/l**	**< 2 NTU**	
Usos y Servicios Urbanos: Riego de zonas verdes de acceso público(campos deportivos, parques públicos) baldeo de calles, sistemas contra incendios, fuentes y láminas ornamentales	**< 1 huevo/ l**	**<200 ufc/ 100 ml**	**< 20 mg/l**	**< 5 NTU**	

TABLA 3. *Propuesta de Criterios Físico-Químicos y Biológicos mínimos obligatorios de Calidad a conseguir en el Agua Residual Depurada a Reutilizar* (cont.)

	Criterios de Calidad				
	Biológica		**Físico-Química**		
Uso del Agua Residual Tratada	Huevos de Nemátodos	**E. coli**	Sólidos en Suspensión	**Turbidez**	**Otros Criterios**
Cultivos de invernaderos	**< 1 huevo/ l**	**<200 ufc/ 100 ml**	**< 20 mg/l**	**< 5 NTU**	*Legionella pneumophila* 0 ufc/100 ml
Riego de cultivos para consumo en crudo. Frutales regados por aspersión	**< 1 huevo/ l**	**<200 ufc/ 100 ml**	**< 20 mg/l**	**< 5 NTU**	
Riego de pastos para consumo de animales productores de carne o leche	**< 1 huevo/ l**	**< 1.000 ufc/100 ml**	**< 35 mg/l**	**Sin límite fijado**	*Taenia saginata y solioum* < 1 huevo/l
Riego de cultivos destinados a industrias conserveras y productos que no se consuman crudos. Riego de frutales excepto por aspersión	**< 1 huevo/ l**	**< 1.000 ufc/ 100 ml**	**< 35 mg/l**	**Sin límite fijado**	
Riego de cultivos industriales, viveros, forrajes ensilados, cereales, semillas, oleaginosas	**< 1 huevo/ l**	**< 10.000 ufc/ 100 ml**	**< 35 mg/l**	**Sin límite fijado**	
Riego de bosques, industria maderera, zonas verdes y de otro tipo no accesible al público	**< 1 huevo/ l**	**Sin límite fijado**	**< 35 mg/l**	**Sin límite fijado**	
Refrigeración industrial, excepto industria alimentaria	**< 1 huevo/ l**	**< 10.000 ufc/ 100 ml**	**< 35 mg/l**	**Sin límite fijado**	*Legionella pneumophila* 0 ufc/100 ml

TABLA 3. *Propuesta de Criterios Físico-Químicos y Biológicos mínimos obligatorios de Calidad a conseguir en el Agua Residual Depurada a Reutilizar* (cont.)

	Criterios de Calidad				
	Biológica		**Físico-Química**		
Uso del Agua Residual Tratada	Huevos de Nemátodos	**E. coli**	Sólidos en Suspensión	**Turbidez**	**Otros Criterios**
Estanques, masas de agua y caudales circulantes, de uso recreativo en las que está permitido el contacto del público con el agua (excepto baño)	**< 1 huevo/ l**	**< 200 ufc/ 100 ml**	**< 35 mg/l**	**Sin límite fijado**	
Estanques, masas de agua y caudales circulantes ornamentales, en los que está impedido el contacto del público con el agua	**Sin límite fijado**	**Sin límite fijado**	**Sin límite fijado**	**Sin límite fijado**	
Acuicultura (biomasa vegetal o animal)	**< 1 huevo/ l**	**< 1.000 ufc/ 100 ml**	**< 35 mg/l**	**Sin límite fijado**	
Recarga de acuíferos por percolación localizada a través del terreno	**< 1 huevo/ l**	**< 1.000 ufc/ 100 ml**	**< 35 mg/l**	**Sin límite fijado**	Nitrógeno total < 50 mg/l
Recarga de acuíferos por inyección directa	**< 1 huevo/10 l**	**< 0 ufc/ 100 ml**	**< 10 mg/l**	**<2 NTU**	Nitrógeno total < 15 mg/l

TABLA 4. *Concentración máxima admisible de los metales en el agua residual depurada que se vaya a reutilizar*

Elemento constituyente	*Concentración máxima admisible (mg/l)*	*Elemento constituyente*	*Concentración máxima admisible (mg/l)*
Aluminio	20	Plomo	10,0
Arsénico	2,0	Litio	2,5
Berilio	0,5	Manganeso	10,0
Boro	2,0	Molibdeno	0,05

TABLA 4. *Concentración máxima admisible de los metales en el agua residual depurada que se vaya a reutilizar* (cont.)

Elemento constituyente	*Concentración máxima admisible (mg/l)*	*Elemento constituyente*	*Concentración máxima admisible (mg/l)*
Cadmio	0,05	Níquel	2,0
Cobalto	5,0	Selenio	0,02
Cobre	5,0	Vanadio	1,0
Cromo	1,0	Zinc	10,0
Flúor	15,0	Volframio, Titanio,	Tolerancia
Hierro	20,0	Estaño	desconocida

CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL AGUA RESIDUAL

Los principales agentes infecciosos para el ser humano y los animales que pueden encontrarse en el agua residual se clasifican en cinco grandes grupos:

1. Bacterias

La materia fecal contiene más de 10^{12} bacterias por gramo (5), lo que puede representar cerca del 9% del peso en seco. El alto contenido de bacterias en el agua residual urbana hace que los procesos biológicos sean los más adecuados para el tratamiento de este tipo de efluentes, ya que así se aprovecha su metabolismo, sin embargo, entre las bacterias presentes aparecen diversas especies de patógenos humanos o de animales capaces de causar infecciones (Tabla 5).

TABLA 5. *Bacterias potencialmente presentes en aguas residuales domesticas no tratadas* (6)

Organismo	*Enfermedad*
Escherihria coli	Gastroenteritis
Leptospira (spp.)	Leptospirosis
Salmonella typhi	Fiebre tifoidea
Salmonella (2100 serotipos)	Salmonelosis
Shigella (4spp.)	Shigellosis (disenteria bacilar)
Vibrio cholerae	Cólera

2. Virus

A diferencia de las bacterias, los virus no se encuentran normalmente en las heces del hombre. Sólo están presentes en el tracto gastrointestinal de individuos que han sido afectados. A través del agua se pueden transmitir al hombre más de 140 virus que corresponden a los virus entéricos eliminados por las heces de las personas infectadas. Los más comunes son los virus causantes de gastroenteritis y el virus de la hepatitis. Algunos de estos virus (rotavirus, virus Norwalk) no generan una protección inmunitaria a largo plazo por lo que la infección puede repetirse varias veces a lo largo de la vida (Tabla 6).

TABLA 6. *Virus potencialmente presentes en aguas residuales domesticas no tratadas* (6)

Microorganismo	*Enfermedad*
Virus entéricos	Gastroenteritis, anomalías del corazón y meningitis
Hepatitis A	Hepatitis de tipo infeccioso
Agente de Norwalk	Gastroenteritis
Rotavirus	Gastroenteritis

3. Protozoos

El quiste es relativamente resistente a la inactivación por medio de los tratamientos convencionales del agua residual. En los últimos años se ha dado gran importancia a la contaminación por Giardia lamblia y Cryptosporidium parvum, protozoos considerados patógenos emergentes, por lo cual, la investigación en el caso de contaminación de las aguas se ha orientado básicamente a su detección a nivel de laboratorio y al estudio de procesos de desinfección que garanticen la eliminación de los mismos (Tabla 7).

TABLA 7. *Protozoos infecciosos potencialmente presentes en aguas residuales domesticas no tratadas* (6)

Microorganismo	*Enfermedad*
Balantidium coli	Balantidiasis
Cryptosporidium parvum	Cryptosporidiasis
Entamoeba histolytica	Amebiasis (disentería amoébica)
Giardia lamblia	Giardiasis

4. Helmintos

Las características epidemiológicas que hacen de los helmintos patógenos entéricos causantes de infección por contacto con agua contaminada, son su alta persistencia en el medio ambiente, la mínima dosis infecciosa, la baja respuesta inmune y la capacidad de permanecer en el suelo largos periodos de tiempo (Tabla 8).

TABLA 8. *Agentes infecciosos potencialmente presentes en aguas residuales domesticas no tratadas* (6)

Microorganismo	*Enfermedad*
Ascaris lumbricoides	Ascariasis
Taenia solium	Teniasis
Trichuris trichiura	Tricuriasis

5. Hongos

Los hongos suelen estar presentes en el agua residual jugando un papel importante como saprofitos, aunque no se presentan en un alto porcentaje. Entre los diferentes hongos presentes en las aguas residuales pueden encontrarse patógenos capaces de causar afecciones de piel, mucosas, pelo o uñas (Tabla 9).

TABLA 9. *Principales hongos patógenos presentes en las aguas residuales*

Microorganismo	*Enfermedad*
Candida albicans	Candidiasis
Cryptococcus neoformans	Criptococosis
Aspergillus spp.	Aspergilosis
Trichophyton spp.	Tinea
Epidermophyton spp.	Tinea

6. Indicadores de Contaminación Fecal (ICF)

El control de la calidad microbiológica del agua de consumo y vertido, requiere una serie de análisis dirigidos a determinar la presencia de microorganismos patógenos para su diagnóstico se precisan laboratorios especializados, varios días de análisis y costos elevados. Como alternativa se ha propuesto como método de detección de patógenos en aguas residuales el uso de indicadores microbianos (*Indicadores de Contaminación Fecal ICF*) que presentan un com-

portamiento similar a los patógenos y que se pueden identificar mediante el empleo de métodos sencillos, rápidos y económicos. Una vez se ha evidenciado la presencia de ICF se puede deducir que existe la posibilidad de que microorganismos patógenos se encuentren presentes en la misma concentración y que su comportamiento frente a diferentes factores como pH, temperatura, presencia de nutrientes, tiempo de retención hidráulica o sistemas de desinfección es similar a la del indicador.

A continuación se indican los requisitos que debe tener un microorganismo para ser un Indicador de Contaminación Fecal:

- Ser un constituyente normal de la flora intestinal de individuos sanos y estar presente, de forma exclusiva, en las heces de animales homeotérmicos.
- No debe ser patógeno, pero debe coexistir con ellos.
- Estar presente en número superior al de patógenos pero existiendo una buena correlación entre ambos.
- Ser incapaces de reproducirse en el agua pero estar vivos y ser posible su cultivo en condiciones ambientales específicas.
- Tiempo de supervivencia igual o ligeramente superior al de los patógenos, es decir, ser más resistentes que estos a las condiciones ambientales y a los procesos de desinfección.
- Facilidad de aislamiento, cuantificación e identificación, no dando falsos positivos.

No existe ningún microorganismo que cumpla todos los requisitos, por lo que se eligen aquellos que más se aproximan. Así los ICF clásicos han sido microorganismos de la flora saprofita del intestino que se encuentran de forma abundante y en el mayor número de individuos.

Las bacterias que se encuentran con mayor frecuencia en el agua son las bacterias entéricas que colonizan el tracto gastrointestinal del hombre y son eliminadas a través de la materia fecal. Cuando estos microorganismos se introducen en el agua, las condiciones ambientales son muy diferentes y por consiguiente su capacidad de reproducirse y de sobrevivir son limitadas. Debido a que su detección y recuento a nivel de laboratorio son lentos y laboriosos se ha buscado un grupo alternativo de indicadores que sean de más rápida y fácil detección. El grupo más utilizado es el de las bacterias coliformes.

El grupo de microorganismos coliformes es adecuado como indicador de contaminación bacteriana debido a:

- Son contaminantes comunes del tracto gastrointestinal tanto del hombre como de los animales de sangre caliente.
- Están presentes en el tracto gastrointestinal en grandes cantidades.

- Permanecen por más tiempo en el agua que las bacterias patógenas.
- Se comportan de igual manera que los patógenos en los sistemas de desinfección.

Los coliformes fecales son termotolerantes, ya que son capaces de tolerar temperaturas elevadas, siendo esta característica la que les diferencia de los coliformes totales. Para aguas superficiales o para evaluar la eficiencia de una EDAR deben usarse los coliformes fecales. Solamente se emplearan los coliformes totales si no hay condiciones para evaluar los fecales.

La aplicación de ICF de origen bacteriano no es suficiente para asegurar la presencia o no de patógenos pertenecientes a otros grupos (virus, protozoos o nemátodos). Así puede haber presencia de diferentes tipos de virus en muestras de agua en total ausencia de coliformes, de tal modo que el control de coliformes no es suficiente para el asesoramiento de la calidad sanitaria del agua residual tratada, siendo únicamente un referente sobre el comportamiento de las bacterias patógenas.

Los virus tienen capacidad de causar infección a bajas concentraciones, algunos de los cuales son más resistentes a la desinfección que los coliformes por lo que los indicadores habituales de contaminación bacteriana no evalúan de manera eficiente sobre su presencia o ausencia en el agua. En el campo medioambiental, existe un virus que se emplea como indicador de contaminación fecal es el Colifago somático.

Se han propuesto dos tipos de fagos: colifagos somáticos y colifagos F específicos debido a las siguientes propiedades:

- Los fagos se encuentran abundantemente en agua residual y contaminada.
- Las poblaciones de colifagos son mucho más grandes que las de enterovirus.
- Los colifagos son incapaces de reproducirse fuera del huésped bacteriano.
- Los colifagos se pueden aislar y contar por métodos sencillos.
- Se obtienen resultados más rápidos cuando se analizan colifagos que cuando se trabaja con enterovirus.
- Algunos colifagos son tan resistentes como los enterovirus a los procesos de desinfección.

Los colifagos están presentes en cantidades bajas en las heces humanas y en animales homeotérmicos, pero están en número elevado en aguas residuales. Estarán en aguas que contienen *E. coli* y por tanto serán ICF.

El estudio de huevos de helminto a nivel ambiental ha hecho necesaria la selección de un parásito indicador debido a las limitaciones en su detección a

nivel de laboratorio, habiendo sugerido el Ascaris lumbricoides como un buen indicador del comportamiento de aquellos. Sus ventajas son:

- Persiste en el medio ambiente por muchos meses, pero no se multiplica.
- Se puede identificar fácilmente.
- El índice de parasitismo a nivel mundial es muy alto.
- El riesgo de transmisión es alto debido a la alta concentración de huevos que se puede encontrar.

CONTAMINACIÓN QUÍMICA DEL AGUA RESIDUAL

Los principales problemas que se plantean a nivel de reutilización del agua residual son consecuencia del elevado contenido de microorganismos patógenos, por lo cual la mayoría de los tratamientos terciarios están enfocados a eliminar o retener estas unidades infectivas. Sin embargo, el agua residual contiene una amplia gama de contaminantes químicos a los cuales también hay que prestar especial atención antes de su reutilización.

1. Disruptores hormonales

Dentro de los diferentes grupos de contaminantes químicos presentes en el agua residual aparece un conjunto heterogéneo que presenta como principal efecto adverso el tener actividad estrogénica (7). Este grupo de compuestos está constituido por una amplia gama de sustancias químicas, tales como los estrógenos naturales, pesticidas organoclorados, alquilfenoles y derivados, bifenilos policlorados, así como determinados plásticos y polímeros sintéticos dentro de los cuales destacan los derivados del bisfenol y del ftalato, con la denominación genérica de disruptores hormonales.

Estas sustancias llegan a los seres vivos por su presencia en la descarga de efluentes tratados a masas de agua que posteriormente se destinan al consumo humano o indirectamente a través de su reutilización en la recarga de acuíferos (8). Otro punto a considerar es el consumo humano de estas sustancias a través de la cadena trófica, ya que su presencia en determinados animales, que posteriormente se consumen, puede dar lugar a una acumulación en el organismo (9), como es el caso de la acuicultura o en el riego de pastos para consumo de animales productores de carne o leche.

La presencia de estos compuestos en el agua residual produce diversos efectos medio ambientales, provocando problemas de salud debido a su consumo, tales como cáncer testicular y de mama, afecciones en la reproducción, alteraciones genéticas, malformaciones congénitas y efectos neurológicos entre

otros (10, 11, 12, 13, 14). También se ha asociado con alteraciones en el porcentaje de sexos, con tendencia hacia la feminización de la especie, debido a que mimetizan la acción de los estrógenos o antagonizan la acción de los andrógenos (15). Este tipo de problemas afectan tanto al ser humano como a otras especies del reino animal.

La presencia de contaminantes químicos en las aguas es un problema de salud pública y medioambiental que hoy día se debate entre científicos, sector industrial y organizaciones medioambientales. Así, la Unión Europea ya ha incluido algunas sustancias de este grupo en una lista prioritaria para prevenir los problemas de contaminación que de ellas se derivan (16).

Los derivados del bisfenol (Bisfenol A, Bisfenol F) y del ftalato son ampliamente utilizados en diversos materiales y productos de uso doméstico lo que hace que aparezcan en las aguas residuales en mayor o menor concentración, siendo el principal aporte de estos compuestos los vertidos industriales (17). Las concentraciones de los mismos varía mucho, según se observa en la Tabla 10, donde se refleja los valores correspondientes al Bisfenol A.

Tabla 10. *Concentraciones de Bisfenol A (μg/l) en diferentes muestras de agua. Adaptado de* (17) *y* (18)

Muestra	*Mínimo*	*Máximo*	*Medio*
Industria Metalúrgica	2,6	35	17
Industria Química	2,5	50	18
Industrial Papelera	28	72	41
Industrial Alimentaria	nd	3,8	2,1
Agua Residual Urbana	10	37	21
Efluente Tratado EDAR	n.d.	2,5	1,5
Lixiviado de vertedero	0,8	17.200	2.320
Aguas superficiales	n.d.	0,88	0,09

(n.d.) no detectado.

En una EDAR, la concentración de los derivados del bisfenol y del ftalato puede reducirse por doble vía, mediante mecanismos de adsorción a la materia particulada (19) con la consiguiente acumulación en los fangos, o por transformación biológica dependiente del tiempo de retención celular (20). Con todo ello, no se puede garantizar la ausencia de disruptores hormonales en los efluentes, siendo las bajas concentraciones remanentes responsables de algunos de los efectos estrogénicos detectados en las aguas residuales tratadas (21). Todo esto lleva a aplicar nuevas tecnologías como tratamiento terciario, que permitan eliminar estas sustancias, garantizando de este modo una completa protección de la salud pública y del medio.

El ser humano no se libra del efecto de estas sustancias, afectándole especialmente el vertido de aguas residuales tratadas a masas de agua que posteriormente se destinan a su tratamiento para consumo humano. La legislación actual considera a estas masas de agua como zonas sensibles (22), regulando especialmente el vertido de nutrientes, sin embargo no hay consideraciones referentes a la presencia de este tipo de sustancias, por lo que no se controla su concentración en las aguas residuales y no se realizan tratamientos específicos para su eliminación. Este aspecto también afecta a usos de reutilización como la recarga de acuíferos, en especial la recarga directa.

A pesar de que el agua destinada a abastecimiento sufre todo un conjunto de tratamientos destinados a su potabilización, las tecnologías que se aplican hoy día no contemplan la eliminación de estas sustancias (23), en especial para el suministro a pequeñas comunidades cuyo recurso hídrico es el agua subterránea.

Son numerosos los trabajos que se están realizando para conocer cuál es la toxicidad de los diferentes compuestos catalogados como disruptores hormonales. Sin embargo la definición de la dosis tóxica no está muy establecida para compuestos concretos. Algunos trabajos realizados sobre disruptores hormonales, como el nonil-fenol, consideran que concentraciones en torno a 30 μg/L reducen considerablemente las poblaciones piscícolas (24), valores que pueden reducirse a ng/L, en el caso de los estrógenos naturales y artificiales presentes en las aguas, debido a su mayor actividad estrogénica (25). Para el caso del bisfenol A se han descrito efectos en diferentes especies, siendo las concentraciones significativamente mayores (mg/L) con respecto a los anteriores compuestos (26), algo concordante para los compuestos derivados, los cuales muestran, junto con el bisfenol A, actividad estrogénica en concentraciones 105 veces superiores al 17β-estradiol (27). Sin embargo, para ciertas especies, el bisfenol-A ha mostrado actividad estrogénica en concentraciones del orden de ng/L (Tabla 11).

TABLA 11. *Estructura química de algunos disruptores endocrinos*

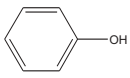
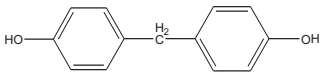
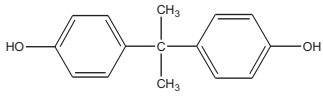
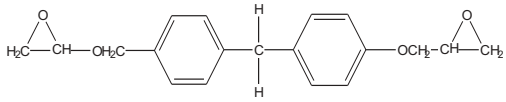
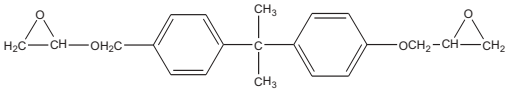
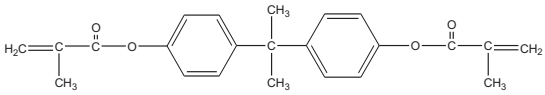
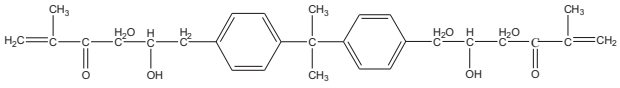
Estructura Química *Fórmula (peso molecular)*	*Compuestos*
 C_6H_6O (94,11 g·Mol^{-1})	Fenol; Hidroxibenceno
 $C_{13}H_{12}0_2$ (200,23 g·mol^{-1})	Bisfenol F; 4,4'-metiliden difenol, 4,4'-bis (hidroxifenil)metano; difenilolmetano

TABLA 11. *Estructura química de algunos disruptores endocrinos* (cont.)

Estructura Química *Fórmula (peso molecular)*	*Compuestos*
 $C_{15}H_{16}0_2$ (228,29 g·mol^{-1})	Bisfenol A; 4,4'-isopropiliden difenol; 2,2-bis(4-hidroxifenil) propano; difenilolpropano
	Bisfenol F diglicidiléter; BFDGE; Bis(4-glicidil oxifenil)metano
 $C_{19}H_{20}O_4$ (312,36 g·mol^{-1})	
 $C_{21}H_{24}O_4$ (340,41 g·mol^{-1})	Bisfenol A diglicidiléter; BADGE; Bis(4-glicidil oxifenil)propano
 $C_{23}H_{24}O_4$ (364,43 g·mol^{-1})	Bis-DMA, Bisfenol A dimetacrilato
 $C_{29}H_{36}O_8$ (512,590 g·mol^{-1})	Bisfenol A diglicidil dimetacrilato; bis-GMA; resina Bowen; 2,2'-bis[4 (2-hidroxi-3-metacriloiloxi -propoxi) fenil]propano; bisfenol A glicerolato dimetacrilato

2. Catalogación del valor agronómico del agua

La presencia de metales pesados en el agua residual tratada puede limitar alguno de sus posibles usos. Cantidades elevadas de estas sustancias pueden dañar de forma irreversible a los cultivos, entrar en la cadena trófica o alcanzar el nivel freático apareciendo en las aguas subterráneas. Junto con los metales pesados pueden aparecer disueltos numerosos compuestos con influencia más o menos negativa en función del uso posterior del agua. Pueden aparecer diferentes nutrientes vegetales, tales como nitrato, amonio, potasio, fosfatos u otros como boratos, cloruros o sulfatos, que si bien son necesarios para las plantas, a unas concentraciones adecuadas, un exceso puede ser consecuencia de un desequilibrio nutricional o afectar negativamente al medio, causando problemas de contaminación. Otro de los factores a tener en cuenta es la salinidad, frente a la cual los cultivos reaccionan de diferente manera y que puede afectar negativamente a la producción. Este parámetro se relaciona con la tasa de adsorción de sodio (SAR) parámetro de alto interés agronómico.

Estos compuestos sí se reflejan en la propuesta de normativa sobre calidad de aguas a reutilizar, siendo necesario su control en el agua, en el caso de que el fango procedente de la EDAR supere los límites establecidos en el Real Decreto 1310/1990 (28).

TECNOLOGÍAS PARA LA REUTILIZACIÓN DE AGUAS RESIDUALES

De acuerdo con lo indicado en la Tabla 3, las tecnologías para la recuperación de las aguas residuales deben conseguir la eliminación de parámetros físico-químicos, tales como sólidos en suspensión y turbidez, cumpliendo con requerimientos microbiológicos basados en análisis de huevos de nematodos y E. coli.

Para conseguir estos objetivos existen dos alternativas, como son los tratamientos fisicoquímicos que incluyen la coagulación, sedimentación y filtración de los sólidos en suspensión, y, por otra parte, las tecnologías basadas en la utilización de membranas de Microfiltración (MF), Ultrafiltración (UF) Nanofiltración (NF) y Osmosis Inversa (OI). Ambas tecnologías requerirán, aunque por diferentes razones, la desinfección final del efluente.

1. Tratamiento físico-químico

El tratamiento físico-químico de las aguas residuales urbanas se basa en la aplicación de un coagulante para la desestabilización de los coloides, que tras su agregación serán separados mediante un sistema de decantación, ayudado de una filtración en medio granular posterior. Se ha propuesto en algunas instala-

ciones de depuración como tratamiento primario, alcanzando importantes rendimientos en la eliminación de materia particulada y DQO, así como mejorando considerablemente parámetros como la turbidez y el color del agua (29).

Independientemente de este tipo de usos, el tratamiento físico-químico puede utilizarse como primer paso dentro de los tratamientos terciarios previos a la reutilización de aguas (30).

Básicamente un tratamiento fisicoquímico está integrado por los siguientes procesos unitarios:

- Coagulación de las materias en suspensión mediante la utilización de un reactivo químico (Cl_3Al, Policloruro de Aluminio, Cl_3Fe, entre otros) en sucesivas etapas de mezcla y floculación mecánica o hidráulica.
- Sedimentación en unidades de decantación de diferentes tipos tales como recirculación, lecho de fangos o lamelar.
- Filtración mediante filtros por gravedad o a presión utilizando como medio filtrante lechos homogéneos o bicapa (arena, antracita, carbón activo).

Con esta configuración se obtienen los requerimientos de calidad relativos a parámetros fisicoquímicos, precisando posteriormente una desinfección para cumplir las garantías de calidad microbiológica.

2. Tratamiento con membranas

La filtración mediante membranas sigue el principio de la separación de partículas basada en el tamaño de poro y en su distribución. Según la membrana elegida se pueden separar sólidos suspendidos, bacterias, quistes y muchos otros parásitos, así como proteínas, pesticidas y ácidos húmicos entre otros (Figura 1), de forma que aplicando esta tecnología se puede obtener agua libre de patógenos y compuestos químicos.

Las membranas requieren una presión transmembrana para conducir el agua a través de las mismas, generándose dos corrientes, la del agua tratada o perneado y la del rechazo que contiene las partículas y los sólidos separados. La presión transmembrana requerida para operar las plantas puede conseguirse con presión o vacío.

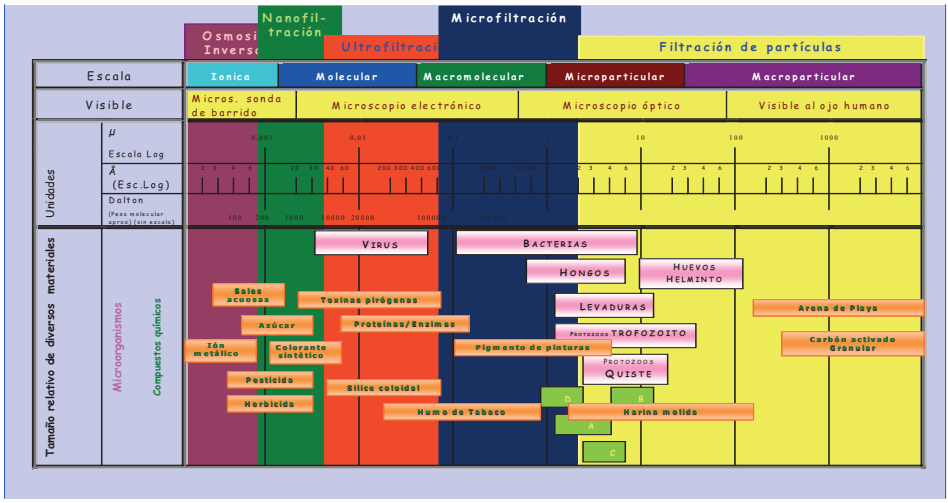


FIGURA 1. *Espectro de filtración.*
A. Cryptosporidium. B. Quiste de Giardia. C. Células de glóbulos rojos. D. Escherichia coli.

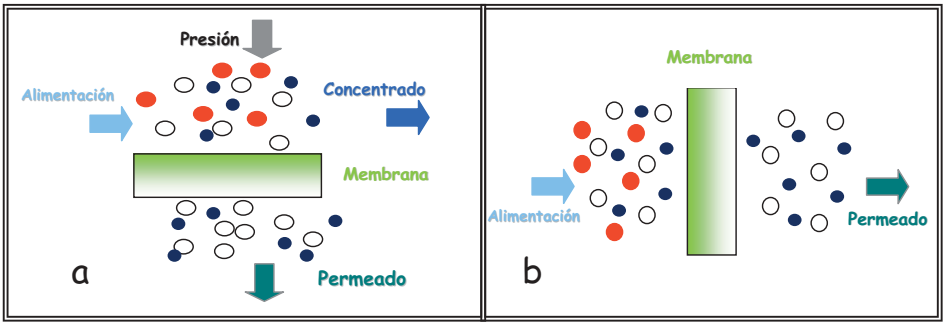


FIGURA 2. *Esquema de (a) filtración tangencial y (b) filtración transversal.*

La tecnología de membrana se ha desarrollado en los últimos años con fines industriales para obtener concentrados o para aprovechar el permeado. En este sentido su aplicación en el tratamiento de aguas presenta un gran interés basado principalmente en las nuevas necesidades que precisa este sector, tales como altos estándares de calidad, reducido impacto medioambiental de los efluentes tratados, mínimo espacio disponible para las instalaciones y amplio rango de aplicación, estando limitado su empleo por las altas inversiones y los elevados costes de operación que lleva asociados.

Otras ventajas de esta tecnología son que la separación se realiza de manera continua, se pueden combinar con otros procesos de separación creando procesos híbridos y el escalado es sencillo.

Como desventajas, presenta el inconveniente relativo al ensuciamiento de la membrana (*fouling*), lo que obliga a su limpieza para no reducir la producción y, periódicamente, a su sustitución.

Las membranas pueden clasificarse básicamente en el material, su ejecución y tamaño del poro, tal y como se indica en la Tabla 12.

TABLA 12. *Clasificación de las membranas*

Clasificación	*Tipos*
Según configuración:	PLANAS: — Enrollamiento Espiral (Spiral wound) — Placa y marco (Plate and frame) Tubulares: — Tubulares : > 5 µ — Capilares: 5 a 0,5 µ — Fibra hueca (hollow fiber) < 0,5 µ
Según estructura o morfología	Membranas simétricas Membranas asimétricas o composite
Según flujo (ver *Figura 2*)	TANGENCIAL (crossflow separation) TRANSVERSAL (dead-end filtration)
Según material	INTEGRALES: Acetato de celulosa, Polisulfonas, compuestos de polivinilo, así como materiales cerámicos o aceros inoxidables. COMPUESTAS O DE PELÍCULA FINA, diseñadas de capas de distintos materiales
Según tamaño de poro (ver *Figura 3*)	Microfiltración Ultrafiltración Nanofiltración Osmosis Inversa

DESINFECCIÓN DE AGUAS RESIDUALES

La desinfección de aguas se refiere al proceso que tiene como objetivo la inactivación de microorganismos patógenos presentes en el medio, minimizando la probabilidad de transmisión hídrica de enfermedades, y se consigue al provocar una alteración en los mecanismos celulares de los organismos (daños en la pared celular, alteración de la naturaleza coloidal del protoplasma o inhibición de la actividad enzimática) (31). Se puede utilizar en combinación con cualquier sistema de tratamiento, aunque su empleo sólo tiene sentido cuando previamente se ha realizado un nivel de tratamiento adecuado.

Los procesos de desinfección se pueden llevar a cabo por métodos físicos (radiaciones ultravioleta, gamma, microondas, ultrasonidos, calor o sistemas de filtración) o químicos. Entre los productos químicos, el más empleado es el

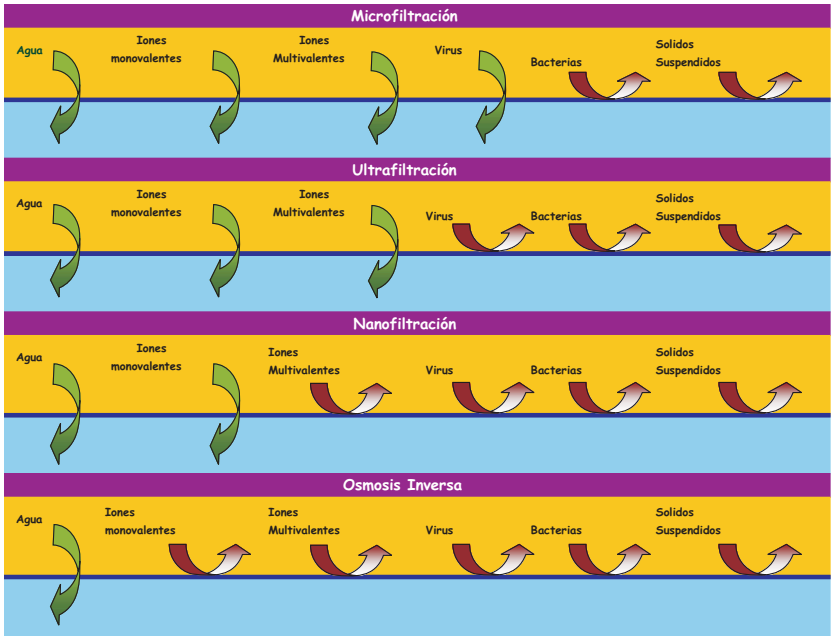


Figura 3. *Retención de membranas según tamaño de poro.*

cloro y sus derivados, seguido del ozono, aunque de manera minoritaria se usan otros compuestos como el bromo, yodo o el permanganato potásico. Por la vía de desinfección física, el método más habitual es la radiación UV.

Entre los factores que afectan a la eficiencia de la desinfección se encuentra el tipo y la concentración de microorganismos, la naturaleza y concentración del desinfectante, y el tiempo de contacto, temperatura, pH y contenido en materia orgánica.

En el tratamiento de aguas es muy importante conocer el tiempo de contacto adecuado y la dosis de agente desinfectante por un determinado período. El valor CT representa ambas funciones, es decir, combina la dosis de desinfectante y el tiempo que el agua ha estado expuesta a una mínima cantidad de desinfectante residual, siendo C la concentración final de desinfectante en mg/L y T el tiempo mínimo de exposición en minutos.

1. Desinfección química

Desinfección con cloro y derivados

El cloro ha desempeñado una función muy importante protegiendo los sistemas de abastecimiento de las enfermedades infecciosas transmitidas por el agua durante más de un siglo. Además, los desinfectantes basados en cloro son

los únicos que proporcionan una protección duradera, ya que previenen un nuevo crecimiento microbiano y proporcionan protección continua durante todo el proceso de distribución del agua.

La cloración del agua se puede llevar a cabo con diferentes compuestos, como puede ser el cloro gas, los hipocloritos o el dióxido de cloro que, previa reacción con agua, se transforman en el ácido hipocloroso que realmente realiza la función germicida:

$$Cl_2 + H_2O \leftrightarrow ClOH + H^+ + Cl^-$$

$$Na\ ClO + H_2O \leftrightarrow ClOH + OH^- + Na^+$$

En las Tablas 13 y 14 se presentan datos de CT para el cloro y alguno de sus derivados:

TABLA 13. *Valores CT para la reducción de 99,9% de Giardia lamblia* (32)

Desinfectante	*pH*	*Temperatura (ºC)*					
		1	*5*	*10*	*15*	*20*	*25*
Cloro libre	6	165	116	87	58	44	29
	7	236	165	124	83	62	41
	8	346	243	182	122	91	61
	9	500	353	265	177	132	88
Dióxido de cloro	6-9	63	26	23	19	15	11
Cloraminas	6-9	3.800	2.200	1.850	1.500	1.100	750

TABLA 14. *Valores CT para la inactivación de Virus* (32)

Desinfectante	*pH*	*Temperatura (ºC)*					
		0,5	5	10	15	20	25
Cloro libre	2	6	4	3	2	1	1
	3	9	6	4	3	2	1
	4	12	8	6	4	3	2
Dióxido de cloro	2	8,4	5,6	4,2	2,8	2,1	–
	3	25,6	17,1	12,8	8,6	6,4	–
	4	50,1	33,4	25,1	16,7	12,5	–
Cloraminas	2	1.243	857	643	428	321	214
	3	2.063	1.423	1.067	712	534	356
	4	2.883	1.988	1.491	994	746	497

Las ventajas del empleo del cloro se pueden esquematizar en:

Germicida potente. El cloro reduce el nivel de los microorganismos patógenos en el agua hasta valores casi imposibles de medir.

Cualidades residuales. El cloro produce una acción desinfectante residual sostenida que es «única entre los desinfectantes disponibles para el agua a gran escala». La persistencia del cloro residual mantiene el efecto germicida durante un tiempo muy superior a cualquier desinfectante alternativo.

Control químico. El cloro destruye el sulfuro de hidrógeno y elimina el amoníaco y otros compuestos nitrogenados que obstaculizan la desinfección.

En 1974, los científicos de la EPA (Environment Protetion Agency) determinaron que el cloro reacciona con ciertos compuestos orgánicos formando trihalometanos (THM). Los estudios toxicológicos emprendidos sugirieron que era cancerígeno para animales de laboratorio, apareciendo el temor de que pudieran ser potencialmente cancerígenos para los humanos. En este contexto, la EPA decidió fijar límites reglamentarios para estos subproductos de la desinfección (SPD). El objetivo era reducir los niveles de SPD sin comprometer la protección microbiana, siendo uno de los mejores métodos la eliminación de los precursores orgánicos antes de la desinfección (mediante coagulación y clarificación, adsorción en carbón activo, o membranas).

El dióxido de cloro es un desinfectante más potente que el cloro y la cloramina ya que puede atravesar la membrana celular de la bacteria y destruirla.

El dióxido de cloro presenta las siguientes ventajas:

- Su capacidad germicida se produce en un amplio rango de pH (3 a 9) y esta capacidad aumenta con la acidez, siendo más potente que el cloro en un tiempo de contacto más corto.
- Excelente acción germicida contra los virus al ser absorbido y penetrar en la capa proteica de la cápside viral, reaccionando con su ARN.
- No reacciona con el nitrógeno amoniacal para formar aminas cloradas.
- No reacciona con material oxidable para formar compuestos organoclorados, destruyendo hasta un 30% de los precursores de THM.
- Desinfecta y oxida eficazmente actuando a buen nivel sobre la *Giardia* y *Cryptosporidium.*
- Funciona con dosis bajas en la etapa posterior a la desinfección sin necesidad de estaciones reforzadoras.
- No reacciona con el bromuro para formar bromatos o subproductos del bromo.

Entre las desventajas se encuentran:

- Se descompone en subproductos inorgánicos (clorito y, en menor grado, en clorato).

- Requiere equipo de generación y manejo de productos químicos en el lugar de su empleo.

Las cloraminas se obtienen por reacción de cloro y el amoníaco resultando un producto antiséptico muy estable cuya acción es menos potente que la del cloro, pero su persistencia en el agua es muy superior. Además presenta menores niveles de formación de THM y ácidos haloacéticos (AHA) y es un desinfectante eficaz de películas biológicas en los sistemas de distribución.

Entre las desventajas se encuentran:

- Formación de subproductos de desinfección, incluido compuestos basados en nitrógeno.
- Necesidad de mayor dosis y tiempo de contacto que el cloro.
- Función germicida viral y parasitaria cuestionable.
- Debido al amoniaco residual puede promover la formación de bacterias y algas.
- Mayor complejidad en las instalaciones de almacenamiento y dosificación.

Desinfección con ozono

Es el oxidante más fuerte tras el flúor (Tabla 15). Su empleo en el campo de la desinfección no es grande pero el rechazo a los organoclorados (THM) que puede producir el cloro hace que se esté incrementando su uso en numerosas aplicaciones. Las especies oxidantes son el propio O_3 y los radicales hidroxílo, los cuales tienen un alto potencial germicida pero una limitada capacidad de desinfección residual.

TABLA 15. *Potenciales redox de algunos oxidantes referidos al electrodo normal de hidrógeno* (33)

Especie	E^0 *(V, 25º C)*
Flúor	3,03
Ozono	2,07
Peróxido de hidrógeno	1,78
Permanganato	1,68
Dióxido de cloro	1,57
Ácido hipocloroso	1,49
Cloro	1,36
Bromo	1,09
Yodo	0,54

En el agua residual actúa como oxidante de la materia orgánica e inorgánica, desinfecta inactivando virus, bacterias, protozoos y hongos, flocula sólidos en suspensión y elimina sustancias tóxicas. La escasa implantación del ozono como método de desinfección es debido a sus costes de inversión y operación, además de precisar una desinfección residual. El ozono no forma subproductos de desinfección organoclorados (SPD), pero pueden aparecer compuestos bromados si el agua contuviera bromuros, además de otros productos orgánicos como aldehídos o cetonas.

El ozono no puede ser transportado y debe ser generado en la propia EDAR, para lo cual se hace pasar una corriente de oxígeno o aire por una fuente generadora de corriente eléctrica (6 a 20 KV) a baja o media frecuencia.

El ozono presenta las siguientes ventajas:

- Excelente acción germicida contra los virus, protozoos (desactivación de la *Giardia* y el *Cryptosporidium*) y otros agentes patógenos.
- Desinfecta y oxida muy eficazmente.
- No genera ningún subproducto organoclorado.

TABLA 16. *Valores CT para la inactivación por ozono de Giardia lamblia y de virus a diferentes temperaturas* (32)

Desinfectante	*Temperatura (ºC)*				
	5	10	15	20	25
Inactivación de Giardia					
0,5 log	0,32	0,23	0,16	0,12	0,08
1,0 log	0,63	0,48	0,32	0,24	0,16
1,5 log	0,95	0,72	0,48	0,36	0,24
2,0 log	1,3	0,95	0,63	0,48	0,32
2,5 log	1,6	1,2	0,79	0,60	0,40
3,0 log	1,9	1,4	0,95	0,72	0,48
Inactivación virus					
2,0 log	0,6	0,5	0,3	0,25	0,15
3,0 log	0,9	0,8	0,5	0,4	0,25
4,0 log	1,2	1,0	0,6	0,5	0,3

Entre las desventajas se encuentran:

- Se debe cubrir la demanda de oxigeno requerida por diversos compuestos reductores, lo que encarece el proceso.

- Genera subproductos de desinfección que incluyen aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos, quininas, peróxidos y THM de bromo (bromoformo, ácidos acéticos de bromo, bromato, entre otros).
- No es un desinfectante persistente, por lo que se debe complementar con cloro o derivados.

Comparación de Métodos de Desinfección Química

La Tabla 17 muestra la eficacia biocida, la estabilidad y el efecto del pH para los cuatro desinfectantes descritos, en la que se demuestra que el ozono (con un potencial de oxidación más fuerte) es el menos estable de los cuatro, mientras que las cloraminas tienen menor actividad biocida pero presentan un efecto residual más prolongado.

TABLA 17. *Eficacia biocida, estabilidad y efecto del pH* (34)

Desinfectante biocida	*Eficacia*	*Estabilidad*	*Efecto pH en la eficacia (pH = 6-9)*
Ozono	1	4	Poca influencia
Dióxido de cloro	2	2	Aumenta ligeramente al aumentar el pH
Cloro	3	3	Disminuye considerablemente al aumen tar el pH
Cloraminas	4	1	Poca influencia

En la Tabla 18 se presenta el tiempo (t en minutos) necesario para que una concentración de desinfectante residual (C en mg/L) inactivo a un microorganismo.

TABLA 18. *Valores CT para distintos desinfectantes* (34)

Microorganismo	*Cloro pH 6-7*	*Cloramina pH 8-9*	*Dióxido cloro pH 6-7*	*Ozono pH 6-7*
E. coli	0,034-0,05	95-180	0,4-0,75	0,02
Poliomielitis 1	1,1-2,5	768-3740	0,2-6,7	0,1-0,2
Rotavirus	0,01-0,05	3806-6476	0,2-2,1	0,006-0,06
Fago f2	0,08-0,18	Nd	Nd	Nd
Quistes de Giardia. lamblia	47-150	2200*	26*	0,5-0,6
Quistes de Giardia. Muris	30-630	1400	7,2-18,5	1,8-2,0

*99,99% de inactivación a un pH 6-9; 90% de inactivación a un pH 7 y 25º C, Nd no hay datos.

Los desinfectantes más efectivos son aquellos que tienen los valores de CT más bajos, destacando en primer lugar el ozono seguido del dióxido de cloro.

En la Tabla 19 se muestra la efectividad de los desinfectantes sobre diversos microorganismos.

TABLA 19. *Valores CT para microorganismos problemáticos* (34)

Microorganismo	*Cloro (pH 6-7)*	*Cloramina (pH 8-9)*	*Dióxido cloro (pH 6-7)*	*Ozono (pH 6-7)*
Giardia 0,5 log de inactivación pH 6-9 5º C	16-47	365	4,3	0,3
Cryptosporidium, pH 7, 25º C	7,200 1 log inactivación	7,200 2 log inactivación	78 1 log inactivación	5-10 2 log inactivación

2. Desinfección con Radiación Ultravioleta

Es un método físico de desinfección que actúa transfiriendo energía electromagnética desde una lámpara de vapor de mercurio al material genético del organismo (ADN o ARN). La radiación UV es absorbida por los nucleótidos, promoviendo la formación de enlaces entre nucleótidos adyacentes, con lo que se forman dímeros, siendo los más comunes los de tiamina-tiamina, también suelen ocurrir de citosina-citosina, citosina-tiamina y del uracilo; la formación de un número suficiente de dímeros impide que el microorganismo se replique. Así la inactivación de los microorganismos mediante UV es función de la longitud de onda que absorbe su ADN. En el caso de la *E. coli,* alcanza su punto máximo en las longitudes de onda cercanas a 265 y 220 nm, por lo que es conveniente que la salida de la lámpara coincida con un punto de máxima inactivación que se encuentra cerca de 265, como es el caso de las lámparas empleadas convencionalmente cuya longitud de onda irradiada se sitúa en 254 nm. La aplicación práctica de la desinfección UV se basa en la capacidad germicida de la zona de onda corta o UVC (200 nm < λ < 280 nm) y de la onda media o UVB (280 nm < λ < 315nm) (Figura 4).

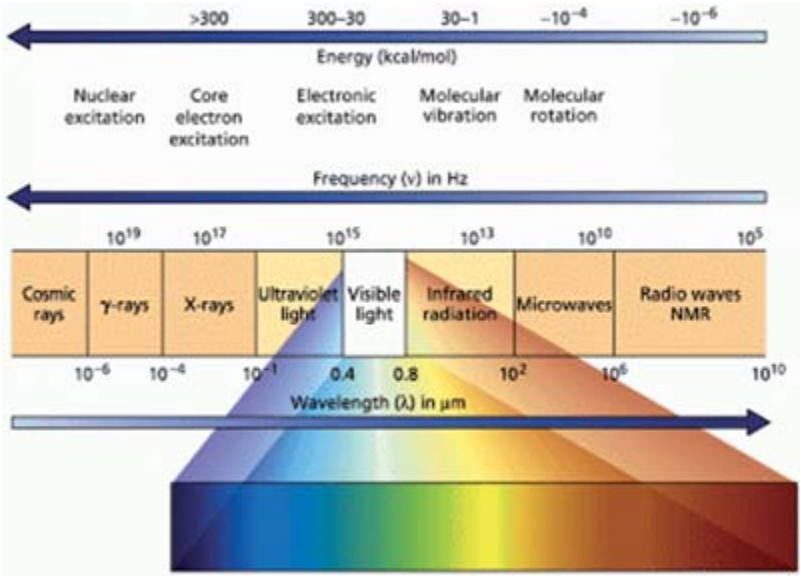


Figura 4. *Escala expandida del espectro electromagnético.*

Existen mecanismos de reparación de los ácidos nucleicos denominados fotorreactivación o fotorreparación de la tiamina, en los que una enzima fotorreactiva usa una radiación reactivadora entre 300 y 500 nm para activar la partición del dímero. Esta capacidad de regeneración se da en bacterias y otros microorganismos, pero nunca en virus, y su intensidad está relacionada con la extensión de daño UV, la exposición a luz, el pH y la temperatura del agua. El fenómeno de fotorreactivación requerirá que la exposición del microorganismo a la luz reactivadora no se demore más de dos a tres horas desde su incativación, teniendo en cuenta que el grado de reactivación es una función inversamente proporcional a la dosis de radiación utilizada.

Los factores que afectan a la acción germicida de la luz UV depende de la absorción por parte de los microorganismos, todo lo cual va a depender de las propiedades del propio fluido y de las sustancias presentes en el mismo:

- Sólidos en suspensión (SST), pueden crear sombras que eviten la incidencia de la radiación UV sobre los microorganismos. Se limita a 30 mg/L.
- Transmitancia: o capacidad de transmitir la potencia de radiación en el agua. La mínima recomendable es del 55%.
- Turbidez limitada a 5 NTU.
- Partículas minerales: Hierro, manganeso, calcio y magnesio pueden producir incrustaciones en las paredes de la lámpara y absorber parte de la relación UV. Limitación a 0,3 mg/L.

- Compuestos orgánicos: El ácido húmico y los taninos absorben parte de la radiación UV, por lo que disminuyen la potencia disponible para desinfección microbiológica.

Otros aspectos que influyen en la capacidad germicida son el estado del equipo, el envejecimiento de las lámparas y la estabilidad del suministro eléctrico.

Para determinar la cinética de inactivación microbiana por UV se emplea la Ley de Chick:

$$N = N_0 \cdot e^{-k\,I\,t}$$

N = Concentración de microorganismos después de la aplicación de la luz UV en NMP/100 mL.

N_0 = Concentración inicial en NMP/100 mL.

k = Constante del ritmo de inactivación.

I = Intensidad de luz UV en mW/cm^2.

t = tiempo de exposición en segundos.

La tasa de inactivación microbiana varía en función del microorganismo y de la longitud de onda de la radiación UV: En general, las bacterias son menos resistentes que los virus y estos, a su vez, menos que las esporas de bacterias, mientras que los quistes y oocitos de protozoos son los patógenos microbianos más resistentes. En la Tabla 20 se presenta un resumen de la inactivación por UV observada, usando lámparas de baja presión en patógenos virales, bacterianos y protozoos, así como grupos microbianos indicadores (35).

TABLA 20. *Dosis UV en MWs/cm² para inactivar una población microbiana en 1 Log (90%) y 2 Log (99%)* (35)

Microorganismos	*Reducción logaritmica*		*Microorganismos*	*Reducción logaritmica*	
	1	*2*		*1*	*2*
BACTERIAS			Coliformes fecales	3,4	6,8
Bacillus anthracis	4,5	8,7	Salmonella enteritidis	4	7,6
Bacillus subtilis, esporas	12	22	Salmonella paratyphi	3,2	–
Bacillus subtilis	7,1	11	Salmonella typhi	2,1	–
Campylobacter jejuni	1,1	–	Salmonella typhimurium	3	–
Clostridium tetani	12	22	Shigella dyssenteriae	2,2	4,2
Corynebacterium diphtheriae	3,4	6,5	Shigella flexneri (paradysenteriae)	1,7	3,4
Escherichia coli	3	6,6	Shigella sonnei	3	5
Klebsiella terrigena	2,6	–	Staphylococcus aureus	5	5

TABLA 20. *Dosis UV en MWs/cm² para inactivar una población microbiana en 1 Log (90%) y 2 Log (99%)* (35) (cont.)

Microorganismos	*Reducción logaritmica*		*Microorganismos*	*Reducción logaritmica*	
	1	*2*		*1*	*2*
Legionella pneumophila	0,9	2,8	Streptococcus faecalis	4,4	6,6
Sarcina lutea	20	26,4	Streptococcus pyogenes	2,2	–
Mycobacterium tuberculosis	6	10	Vibrio cholerae (V. comma)	–	6,5
Pseudomonas aeruginosa	5,5	10,5	Yersinia enterocolitica	1,1	–
VIRUS					
Colifago MS-2	18,6	–	Virus de la influenza	3,6	6,6
Bacteriófago F-específico	6,9	–	Virus de la poliomelitis	5-8	14
14Hepatitis A	7,3	–	Rotavirus	6-15	15-40
PROTOZOOS			ALGAS		
Giardia lamblia	82	–	Verde-azul	300	600
Cryptosporidium parvum	80	120	Chlorella vulgaris	12	22
LEVADURAS					
Saccharomyces cerevisiae	7,3	13,2			

La radiación ultravioleta presenta las siguientes ventajas:

- No precisa almacenamiento químico ni equipo para su manipulación o alimentación.
- No tiene subproductos de desinfección identificados.

Entre las desventajas se encuentran:

- No tiene actividad residual.
- Elevados costes de inversión, mantenimiento y operación.
- La acción de desinfección puede verse comprometida por variables, tales como la transmitancia, contenido en minerales, longitud de onda de radiación y la estabilidad del suministro eléctrico.

BIBLIOGRAFÍA

(1) U.S.E.P.A. U.S. Agency of International Development 1992. «Manual of Guidelines for Water Reuse», EPA/625/R-92/004 September, Washington D.C.

(2) WORLD HEALTH ORGANIZATION (1989): «Health Guidelines for the use of Wastewater in Agriculture and Aquaculture. Report of a WHO Scientific Group, Geneva, Switzeland».

(3) Directiva 91/271/CEE del Consejo, de 21 de mayo de 1991, relativa al tratamiento de las aguas residuales urbanas.

(4) CEDEX. Ministerio de Medio Ambiente (2000): «Propuesta de calidades mínimas exigidas para la reutilización directa de efluentes depurados según los distintos usos posibles, así como de aspectos relativos a la metodología, frecuencia de muestreo y criterios de cumplimiento de los análisis establecidos para incluir en una normativa de carácter estatal».

(5) R. B. DEAN y E. LUND (1981): «Water Reuse: problems and solution». Academic Press, Londres.

(6) U.S.E.P.A., EPA 832-F-99-062 September 1999, Office of Water Washington D.C.

(7) COMMISION OF THE EUROPEAN COMMUNITY (1999): «Community Strategy for Endocrine Disupters», COM 706 final.

(8) W. BIRKETT, y J. N. LESTER (2003): «Endocrine Disrupters in Wastewater and Treatment Processes», Lewus Publishers, Londres.

(9) S. M. RHIND (2002): «Endocrine Disrupting Compounds and Farm Animals: Their Properties, Actions and Routes of Exposure». *Domestic Animal Endocrinology.* **23:** 179-187.

(10) P. L. WHITTEN (1992): *Advances in Modern Environmental Toxicology,* **21:** 311.

(11) M. QUINN y E. ALLEN (1995): *Br. Medical Journal,* **311:** 1391.

(12) J. PAJARINEN; P. LAIPPALA; A. PENTTILA y P. J. KARHUNEN (1997): *Br. Medical Journal*, **314:** 13.

(13) D. ROY, M. PALANGAT, C. W. CHEN, R. D. THOMAS, J. COLERANGLE, A. ATKINSON y Z. J. YAN (1997): «Biochemical and Molecular changes at the cellular level in response to exposure to environmental estrogen-like chemical», *Journal of Toxicology & Environmental Health,* **50** (1), 1-29.

(14) R. M. MERRIL y O. W. BRAWLEY (1997): *Epidemiology,* **8:** 126.

(15) C. SULTAN, P. BALAGUER, B. TEROUANNE, V. GEORGET, F. PARIS, C. JEANDEL, S. LUMBROSO, y J. C. NICOLAS (2001): «Environmental xenoestrogens, antiandrogens and disorders of male sexual differentiation», *Mollecular and Cellular Endocrinology,* **178:** 99-105.

(16) EUROPEAN PARLIAMENT AND THE COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION (2001): «Establishing the List of Prioritary Substances in the Field of Water Policy», Decision n.º 2455/2001/EC.

(17) M. FÜRHACKER, S. SCHARF y H. WEBER (2000): «Bisphenol A: emissions from point sources», *Chemosphere,* **41:** 751-756.

(18) H. ASAKURA, T. MATSUTO y N. TANAKA (2004): «Behavior of endocrine-disrupting chemical in leachate from MSW landfill sites in Japan» *Waste Management*. **24:** 613-622.

(19) C. MANFRED, B. STRENN, E. SARACEVIC y N. KREUZINGER (2004): «Adsorption of Bisphenol-A, 17β -estradiole and 17 α-ethinylestradiole to Sewage Sludge», *Chemosphere*, **56:** 843-851.

(20) T. WINTGENS, M. GALLENKEMPER y T. MELIN (2004): «Removal of endocrine-disrupting compounds with membrane processes in wastewater treatment and reuse», *Water Science Technology*, **50:** 1-8.

(21) T. P. ROGERS-GRAY (2001): «Exposure of juvenile roach (*Rutilus rutilus*) to treated sewage effluent induces dose-dependent and persistent disruption in gonadal duct development», *Enviromental Science & Technology,* **35:** 462.
(22) Resolución de 28 de abril de 1995, por la que se aprueba el plan Nacional de Saneamiento y Depuración de Aguas Residuales (1995-2005). B.O.E.
(23) AWWA (1999): «Water Quality and Treatment, A handbook of community water supplies», McGraw Hill, New York.
(24) A. R. BROWN, A. M. RIDDLE, N. L. CUNNINGHAM, T. J. KEDWARDS, N. SHILLABEER, y T. H. HUTCHINSON (2003): «Predicting the effects of endocrine disrupting chemical on fish population» *Human and Ecological Risk Assessment*. **9:** 761-788.
(25) H. SEGNER, K. CAROLL, M. FENSKE, C. R. JANSSEN, G. MAACK, D. PASCOE, C. SCHÄFERS, G. F. VANDENBERGH, M. WATTS y A. WENZEL (2003): «Identification of endocrine-disrupting effects in aquatic vertebrates and invertebrates: report from the European IDEA project» *Ecotoxicology and Environmental Safety*. **54:** 302-314.
(26) C. STAPLES, P. B. DORN, G. M. KLECKS, S. T. O'BLOACK y L. R. HARRIS (1998): «A review of the environmental fate, effects and exposures of Bisphenol A», *Chemosphere*, **36:** 2149-2173.
(27) K. SATOH, K. OHYAMA, N. AOKI, M. LIDA y F. NAGAI (2004): «Study on anti-androgenic effects of bisphenol A diglycidyl ether (BADGE), bisphenol F diglycidyl ether (BFDGE) and their derivates using cells stably transfected with human androgen receptor», *AR-EcoScreen. Food and Chemical Toxicology*. **42:** 983-993.
(28) Real Decreto 1310/1990, de 29 de octubre, por el que se regula la utilización de lodos de depuración. B.O.E. n.º 262.
(29) P. M. NACHEVA, L. TORRES-BUSTILLOS, E. RAMÍREZ-CAMPEROS, S. LÓPEZ-ARMENTA y L. CARDOSO-VIGUEROS (1996): «Characterization and coagulation-flocculation treatability of Mexico city wastewater appliying ferric chloride and polymers» *Water Science Technology*, **34:** 235-247.
(30) E. DIAMADOPOULOS y C. VLACHOS (1996): «Coagulation-Filtration of a secondary effluent by means of pre-hydrolyzed coagulants» *Water Science Technology*, **33:** 193-201.
(31) E. R. BLATCHLEY III, B. A. HUNT, R. DUGGIRALA, J. E. THOMPSON, J. ZHAO, T. HALABY, R. L. COWGER, C. M. STRAUB y J. E. ALLEMAN (1997): «Effects of disinfectants on wastewater effluent toxicity» *Water Research*. **31:** 1581-1588.
(32) USEPA (1991): Guidance Manual for Compliance with the Filtration and Disinfection requirementes for Public Water Systems Using Surface Water Sources, 1989.
(33) O. LEGRINI, E. OLIVEROS y A. M. BRAUN (1993): *Chem. Rev*., **93:** 671-698.
(34) R. A. DEININGER, A. ANCHETA, A. ZIIEGLER (1998): «Desinfección con dióxido de cloro». Simposio regional sobre calidad del agua: desinfección efectiva. CEPIS/OPS. Lima.
(35) H. B. WRIGHT and W. L. CAIRNS (1998): Trojan Technologies, «Luz Ultravioleta» Simposio regional sobre calidad del agua: desinfección efectiva. CEPIS/OPS. Lima.

VII. Vectores energéticos químicos basados en carbono: Combustibles sintéticos y biocarburantes

JOAQUÍN PÉREZ PARIENTE



Doctor en Ciencias Químicas. Profesor de Investigación del Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Es el actual Director del Centro de Catálisis y Petroquímica del CSIC. Académico Correspondiente de la Real Academia Nacional de Farmacia.

EL ESCENARIO HISTÓRICO

La humanidad ha dependido esencialmente de recursos energéticos de origen biológico a lo largo de su historia, como lo muestra el empleo de madera como combustible, o el uso de energía humana y animal. Habría que añadir, no obstante, el aprovechamiento del viento a través de molinos y su uso en el transporte fluvial y marítimo, así como el empleo de la energía potencial de las corrientes de agua. La biomasa ha sido prácticamente la única fuente de energía primaria química durante milenios, y sólo se han producido mejoras en la eficacia del uso de esa energía, como por ejemplo en la invención de los hornos de cocción de cerámica alrededor del VIII milenio a.C. También se introdujeron mejoras en los sistemas de tracción animal en época medieval, o en el desarrollo e implementación de distintos tipos de velamen que podían aprovechar con más eficacia la fuerza del viento.

La primera gran revolución tecnológica en el campo de la energía se produce con la invención de la máquina de vapor en el siglo XVIII. Esencialmente, se trata de un sistema de transformación de energía térmica de origen químico procedente de la combustión del carbón mineral, en energía mecánica. El empleo eficaz de ese sistema lleva consigo simultáneamente el uso de una fuente de energía primaria con mayor densidad de energía por unidad de masa y de volumen, el carbón mineral, en lugar de la madera usada tradicionalmente. Por primera vez

en la historia, la humanidad dispuso de un sistema de producción de energía mecánica independiente de la tracción animal o humana, o de factores medioambientales. Sin embargo, en virtud de su capacidad de producir una energía muy superior a la de aquéllas, requiere una cantidad de energía primaria muy superior a la que se había necesitado hasta entonces. Además, hay que destacar otro aspecto importante: la máquina de vapor produce mucha mayor densidad de energía, no sólo en términos de energía producida por unidad de tiempo, sino también en lo que se refiere a energía producida por dispositivo o por unidad de volumen del dispositivo. Esta última propiedad, la densidad de energía, permite realizar tareas que anteriormente sólo se podían abordar con gran dificultad empleando tracción animal. Esta circunstancia revolucionó los métodos de transporte, y produjo el surgimiento de uno totalmente nuevo, el ferrocarril, además de transformar radicalmente el transporte marítimo y fluvial al independizar el mismo de la existencia de viento, dando lugar a la construcción de buques de un tonelaje muy superior al conocido hasta entonces.

La implementación masiva de la máquina de vapor en numerosos procesos industriales constituyó el factor esencial en lo que se denominó Revolución Industrial, que se desarrolla a lo largo del siglo XIX. El otro aspecto relevante en la historia de la tecnología energética introducido durante el siglo XIX fue el descubrimiento y aplicación industrial de sistemas de transformación de la energía mecánica producida en las máquinas de vapor en energía eléctrica. La energía eléctrica puede considerarse como un sistema eficaz de transporte de la energía producida en las máquinas de vapor, que además podía reconvertirse en energía mecánica a pequeña escala mediante los motores adecuados, o podía transformase de nuevo directamente en energía térmica o luminosa. La introducción masiva de la energía eléctrica constituyó por sí misma una enorme revolución tecnológica, que hizo posible con el correr del tiempo la introducción de numerosos equipamientos tecnológicos en los hogares. No obstante, este hecho no debe hacernos olvidar que prácticamente la principal fuente de energía primaria empleada durante todo el siglo XIX y los comienzos del siglo XX fue el carbón fósil. El gas, que se comenzó a usar en las ciudades europeas en el alumbrado público y privado desde comienzos del siglo XIX, también se obtenía del carbón mineral mediante procesos de gasificación, a la vez que el residuo (coque) encontraba aplicaciones importantes en la industria siderúrgica, alrededor de la cual giró la revolución industrial.

En la última década del siglo XIX se producen varios descubrimientos científicos e invenciones tecnológicas que constituyen los fundamentos de las nuevas tecnologías energéticas del siglo XX. En 1892, Diesel inventa el motor de explosión que lleva su nombre, que se unió al de gasolina inventado en la década de los ochenta. Al igual que ocurrió anteriormente con la máquina de vapor, el nuevo motor térmico requería el empleo de ingentes cantidades de un nuevo combustible, esta vez el petróleo. Este producto se conocía en la antigüedad, siendo mencionado en tablillas asirias del siglo VII a.C., pero los comienzos de la moderna industria del petróleo datan de 1859, con la apertura de los campos

petrolíferos de Pensilvania, en Estados Unidos. El petróleo crudo se destilaba para obtener queroseno, aceites lubricantes y ceras parafínicas. Sin embargo, fue el enorme desarrollo que experimentaron los vehículos de transporte el que impulsó el nacimiento de la industria petrolera. La incorporación de un motor de explosión a un vehículo provisto de alas por parte de los hermanos Wrigth en 1903 condujo al desarrollo de la aviación, el medio de transporte característico del siglo XX. El petróleo por lo tanto es junto con el carbón la principal fuente de energía primaria hasta la primera mitad del siglo XX, y constituye una marca característica de nuestra civilización a escala planetaria.

En el mes de febrero de 1896, el científico francés Henry Becquerel reporta la primera prueba experimental de la existencia de la radioactividad. Las investigaciones cerca de las propiedades del núcleo atómico que se desarrollaron a lo largo de la primera mitad del siglo XX, condujeron finalmente en 1957 a la puesta en funcionamiento en los Estados Unidos de la primera planta comercial de generación nuclear de energía eléctrica, con una potencia de 60 megavatios. A esta primera central nuclear siguieron otros varios centenares distribuidas en diferentes países, pero a pesar de este desarrollo, los combustibles fósiles sigue siendo la principal fuente de energía primaria para la producción de energía eléctrica, aunque su grado de contribución varía notablemente de un país a otro. En la figura 1 se representa la evolución en el consumo de los distintos tipos de energías primarias en los últimos 150 años.

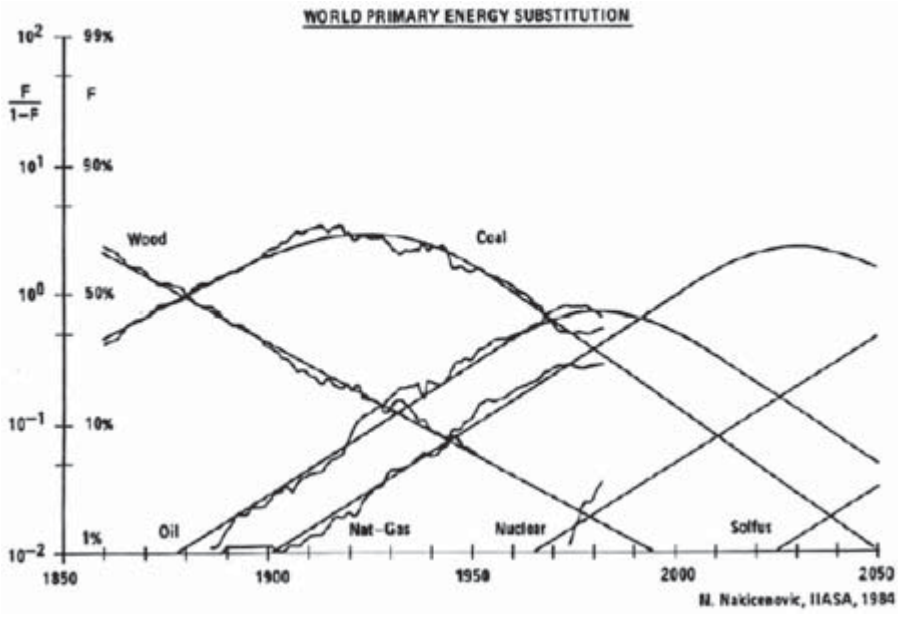


FIGURA 1. *Evolución de los distintos tipos de energías* (1).

En la Figura 2 se muestra el enorme incremento que ha experimentado el consumo de energía desde mediados del siglo XIX, mientras que en la Figura 3 se muestra el aumento de población mundial en aproximadamente el mismo período. Se observa en las figuras que el aumento del consumo de energía ha sido muy superior al incremento de población. En otras palabras, se asiste a un aumento continuo de la cantidad de energía per cápita, que puede considerarse como una característica básica del desarrollo económico, aunque existen grandes diferencias en el consumo de energía por habitante entre distintos países desarrollados. Es decir, el consumo de energía por habitante no siempre está directamente relacionado con el Producto Interior Bruto también por habitante, y ello es una consecuencia de las diferencias en los respectivos modelos socioeconómicos.

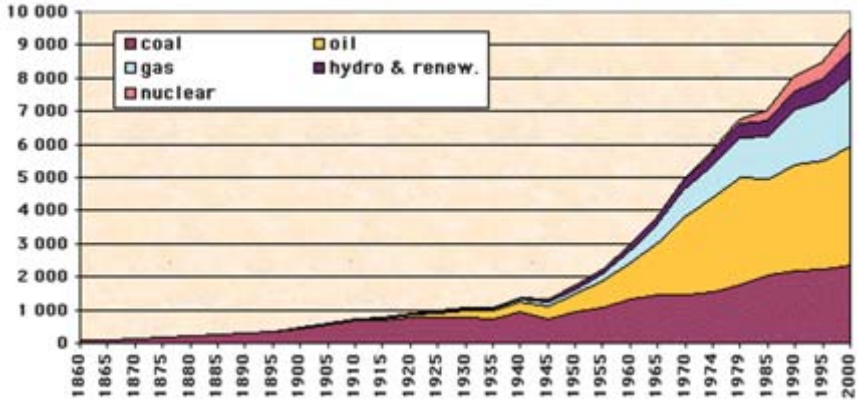


FIGURA 2. *Evolución del consumo de los distintos tipos de energías* (2).

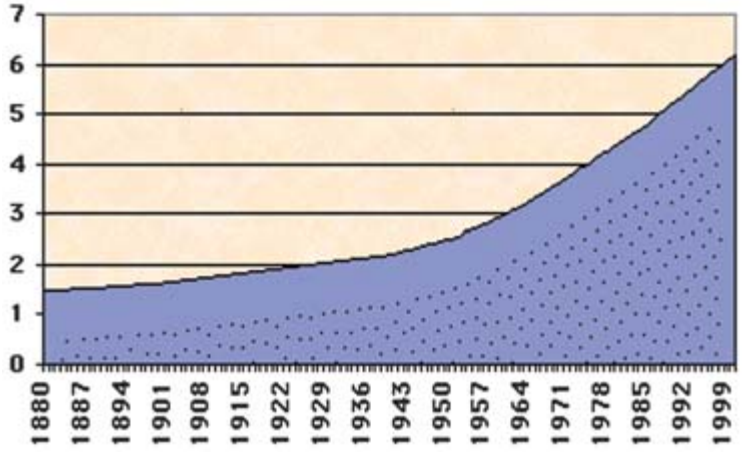


FIGURA 3. *Variación de la población mundial* ($\times 10^9$) *desde 1880* (2).

FACTORES BÁSICOS QUE CONDICIONAN EL DESARROLLO DE FUENTES DE ENERGÍA ALTERNATIVAS

1. El escenario energético en España y en la UE

Para poder comprender la necesidad de introducir cambios drásticos en la naturaleza de las fuentes de energía utilizadas hasta el momento, es necesario previamente conocer con detalle la estructura del consumo energético en nuestro entorno, a saber, en nuestro país y en la Unión Europea. Los datos que se presentan a continuación se basan casi en su totalidad en el Informe de Primavera sobre Sostenibilidad en España 2005, publicado por el Observatorio de la Sostenibilidad en España (3), ya que ofrecen un panorama muy completo y detallado de los distintos indicadores energéticos de España.

Estructura y evolución del consumo de energía primaria y final

Se denomina *energía primaria* a la cantidad total de recursos energéticos consumidos para cualquier uso, ya sea directamente o para su transformación en otra forma de energía. El consumo interior bruto de energía primaria mide el aprovisionamiento de fuentes energéticas tanto propias como importadas, y es igual a la suma de la producción más las importaciones, a lo que habría que restar las exportaciones. El consumo se expresa generalmente en ktep (10^3 toneladas equivalentes de petróleo), o Mtep (10^6 toneladas equivalente de petróleo). Estrechamente relacionado con el consumo de energía primaria, está el consumo de *energía final*, es decir, «la energía consumida en los procesos que utilizan energía para obtener un servicio o un bien específico de uso final». Así, la energía consumida por un aparato electrodoméstico sería energía final, pero la energía empleada para

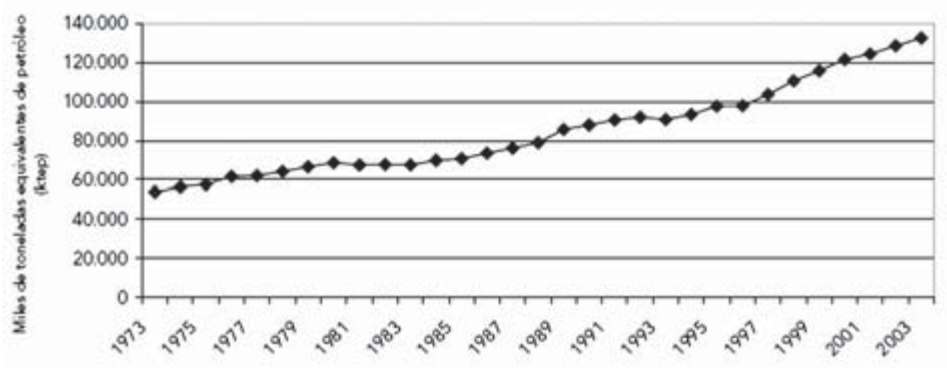


FIGURA 4. *Consumo de energía primaria total en España (ktep) 1973-2003. Fuente: Dirección General de Política Energética (DGPE), 2004.*

generar esa electricidad sería energía primaria. El consumo de energía final es siempre menor que el consumo de energía primaria, debido a las pérdidas que se producen en los procesos de transformación de la energía primaria en energía final. La energía final, al igual que la primaria, puede definirse de modo que incluya o no la energía consumida en usos no energéticos, como el consumo de derivados del petróleo en la industria química.

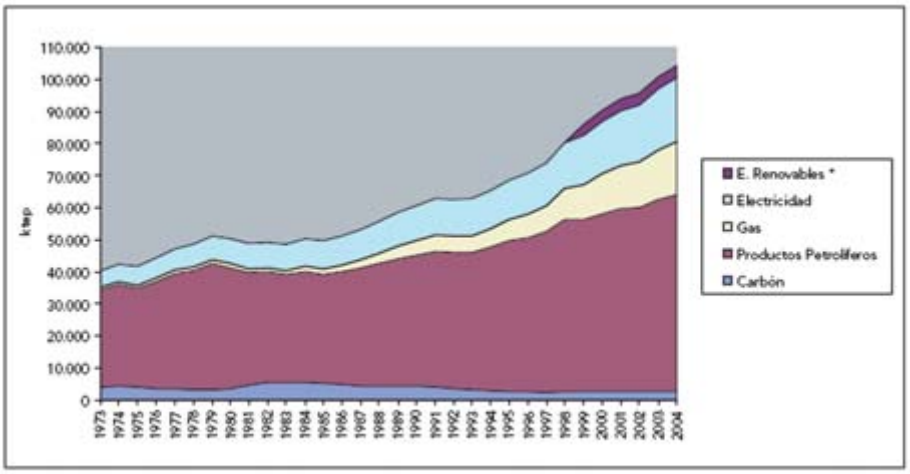


FIGURA 5. *Consumo de energía final total en España. Fuente: DGPE.*

Las Figuras 4 y 5 representan, respectivamente, la evolución del consumo de energía primaria total y de energía final total en España en los últimos 30 años. Según se observa en las figuras, el consumo se ha multiplicado por 2,5 en ese período, con un ritmo de crecimiento anual medio en los últimos cinco años del 3,5%, alcanzando un valor de 141 Mtpe y 104 Mtpe para el consumo de energía primaria y final, respectivamente. Es decir, sólo se recupera como energía final aproximadamente un 60% de la energía primaria total, lo que da una idea elocuente de la importancia que tiene la mejora continua de la eficiencia de los sistemas de transformación energética. El ritmo de crecimiento en el conjunto de la Unión Europea en el período 1990-2002 fue muy inferior, el 1,1% anual. Las Tablas 1 y 2 recogen, respectivamente, la contribución de las distintas fuentes de energía primaria al consumo total, y la demanda de energías finales en España y en la UE, lo que representa esencialmente nuestro modelo energético. Las energías renovables (incluyendo la hidroeléctrica) suponen en España menos del 7% del total de energía primaria, una cifra similar a la de la media de la UE, aunque se detecta un ritmo de crecimiento de la energía eólica muy superior al de la media de nuestros socios europeos. Se está produciendo en España un crecimiento continuo del consumo de gas natural, en detrimento del petróleo, y se prevé una pérdida progresiva de la contribución del carbón.

TABLA 1. *Estructura del consumo de energía primaria en España (2004) y en la UE (2003). Consumo total en España en 2004: 141.565 ktep*

Energía primaria (%)		
Energía	*España*	*UE*
Petróleo	50	40,3
Gas natural	17,3	23,1
Carbón	14,9	14,7
Nuclear	11,7	15,5
Hidráulica	1,9	2,0
Biomasa	3,1	3,8
Eólica	0,9	0,2
Otras	0,4	0,23 *

* Incluye 0,2% de geotérmica y 0,03% de solar térmica.

TABLA 2. *Estructura del consumo de energía final en España (2004) y en la UE (2002). Consumo total en España en 2004: 104.358 ktep*

Energía final (%)		
Energía	*España*	*UE*
Petróleo	58,8	45,9
Gas natural	16,1	24,1
Carbón	2,4	3,6
Electricidad	19	20,7
Energías renovables	3,7	4
Calor	–	1,7

La energía final de mayor tasa de crecimiento en España en el período 1999-2004 fue el gas natural (53,8%), seguido de la electricidad (29,7%), petróleo (14,2%) y energías renovables (7,9%), registrándose una disminución del consumo de carbón del 3,7%. Por sectores, y considerando consumos energéticos y no energéticos, en el año 2003 el sector del transporte consumió un 37,2% de la energía final, el sector industrial el 36,8% y usos diversos el 26%. Si exceptuamos del cálculo los consumos no energéticos, como los productos petrolíferos consumidos por la industria química, un 39% de la energía final se destina al transporte, frente al 31% de la industria. La participación del transporte por carretera en el consumo de petróleo ha pasado del 18% al 50% entre 1973 y 2000. Además, la contribución del transporte respecto al total de energía final ha creci-

do a mayor ritmo que la de los otros dos sectores, multiplicándose por 2,5 en el período 1980-2003, mientras que sólo lo hizo por 1,5 en el sector industrial, y por 2,2 en el sector de usos diversos. Ese aumento se debe esencialmente al notable incremento del parque automovilístico, a la mejora de infraestructuras viarias, y, en lo que se refiere al sector de usos diversos, a la mejora del equipamiento residencial y terciario. Todos esos factores son una consecuencia del aumento de la renta per cápita en nuestro país, que ha crecido a un ritmo superior al de la media de la UE.

Otra de las características del modelo energético de nuestro país es su fuerte dependencia exterior. La producción interior de energía primaria, es decir, la energía obtenida de recursos energéticos existentes en el interior del país, fue de 29.234 ktep en el año 2004, que representa sólo alrededor del 20% del total de la energía primaria que consumimos. La mayor parte de esa energía, un 57% correspondió a la energía nuclear; un 24% al carbón, un 9,3% a la energía hidráulica, y el 8,4% a otras energías renovables, mientras que la producción de petróleo y gas natural sólo supuso el 1,9% del total. Además, sólo la energía nuclear y las energías renovables (sin incluir la hidroeléctrica) muestran tasas de crecimiento positivas. Las energías renovables crecieron un 21,8% entre el año 2003 y el 2004, gracias sobre todo a la energía eólica.

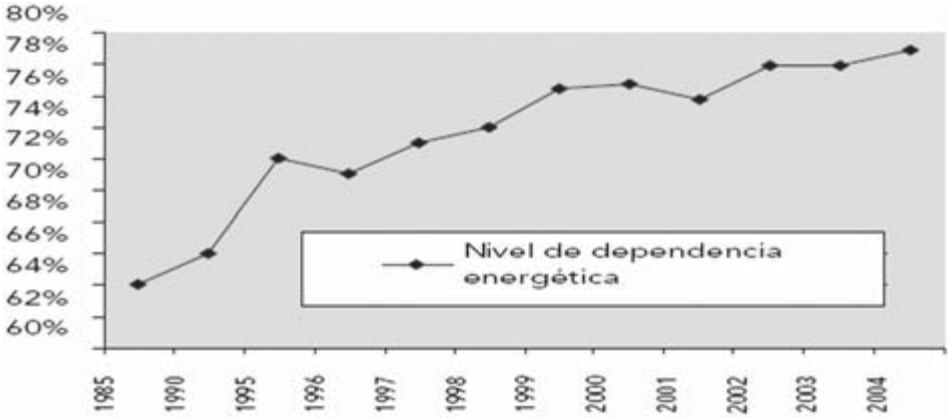


FIGURA 6. *Nivel de dependencia energética en España* (3).

Tal y como muestra la Figura 6, el nivel de dependencia energética en España ha seguido una tendencia creciente en las últimas dos décadas, hasta situarse en el 79% en el año 2004, es decir, importamos las cuatro quintas partes de la energía primaria que consumimos. Nuestro grado de autoabastecimiento es por lo tanto de sólo el 21%, cuando en la UE-15 alcanza el 50%. Este hecho tiene como consecuencia que nuestro país es mucho más sensible que la media de la UE ante variaciones en el aprovisionamiento de recursos energéticos

exteriores, lo que puede suponer una seria amenaza para nuestro desarrollo económico. Teniendo en cuenta nuestro ritmo de crecimiento del consumo de energía primaria, un 3,5% anual, y el estancamiento e incluso ligero descenso de la producción interior, cabe vaticinar que seguirá aumentando nuestra dependencia energética. Además, si bien nuestro aprovisionamiento de petróleo está relativamente diversificado, no ocurre lo mismo con el de gas natural, que en sus dos terceras partes proviene de Argelia y Libia.

Como se ha indicado anteriormente, el consumo de energía viene determinado en buena medida por la actividad económica, de tal manera que se define el indicador *intensidad energética de la economía*, que mide «la cantidad de energía necesaria para movilizar un volumen de actividad económica (en términos de PIB)». La unidad de medida de este indicador en toneladas equivalentes de petróleo (tep) por 1.000 euros de PIB (a precios constantes de 1995), y se puede referir a energía primaria o final. Este indicador muestra esencialmente la eficiencia en el uso de la energía para crear riqueza. La Figura 7 muestra un aumento continuo de la intensidad energética desde comienzos de los noventa, es decir, cada incremento del PIB requiere cada vez mayor consumo de energía, en otras palabras, estamos aumentando nuestro consumo de energía a un ritmo mayor que el del PIB. Nuestra comparación con la UE de nuevo nos desfavorece, ya que en la UE la tendencia es justo la opuesta, es decir, el PIB crece a mayor ritmo que el consumo de energía. Como consecuencia de esa evolución, en el año 2002 nuestra intensidad energética fue entre un 20 y un 25% superior a la de la UE-15, una brecha energética que muestra una clara tendencia a agrandarse, y que, en un escenario en el que son previsibles aumentos continuos en el precio de los recursos energéticos primarios de origen fósil, sobre todo del petróleo, va a repercutir de manera negativa en nuestra economía con mucha mayor intensidad de lo que va a hacerlo en las economías de nuestros socios de la UE, es decir, nuestra economía será cada vez menos competitiva.

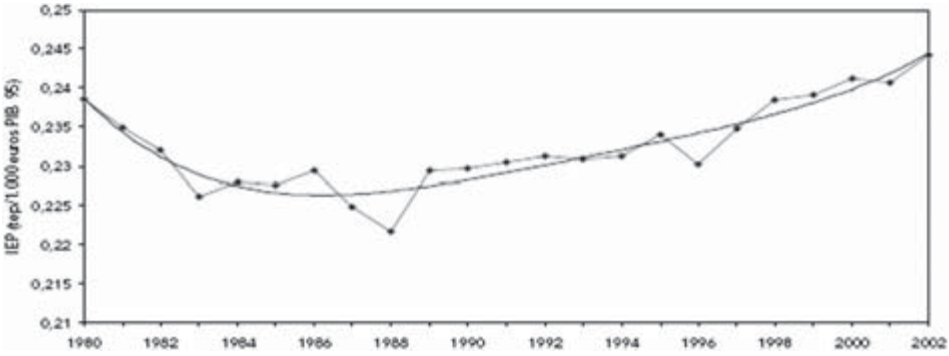


FIGURA 7. *Evolución de la intensidad energética en España* (3).

2. El agotamiento del petróleo

No es aventurado señalar, como lo vienen haciendo distintas voces desde hace ya algunas décadas, que nos acercamos rápidamente y de manera acelerada a lo que sin duda se puede calificar de crisis energética a escala planetaria, a cuyo origen contribuyen varios factores. En primer lugar, el agotamiento de los combustibles fósiles, entre los que se cuentan el petróleo, el carbón y el gas natural. Con un aumento continuo tanto de la población como del consumo por habitante de esos combustibles, nos hemos visto obligados a tomar conciencia de un hecho bien conocido pero que, sorprendentemente, nunca se ha considerado como un factor determinante en ninguno de los varios modelos de desarrollo económico que se han experimentado en el siglo XX, incluido el que domina actualmente: el planeta alberga una cantidad limitada de arqueocarbono, es decir, de carbono fósil procedente de los seres vivos que poblaron el planeta hace millones de años. Mientras sólo una muy pequeña parte de la población del planeta consumía energía fósil de manera poco intensiva, las reservas de esos combustibles parecían ciertamente ilimitadas. El enorme incremento en el consumo de esas energías primarias al que hemos asistido en las últimas décadas, propiciado por un desarrollo económico desigual pero continuo, nos sitúa en un escenario dominado una la escasez creciente de de los combustibles fósiles, y el consecuente e imparable incremento de precios. De esos tres vectores energéticos, es precisamente el petróleo el que se está agotando a mayor velocidad. Si el consumo de petróleo no hace más que aumentar incesantemente, el descubrimiento de nuevas reservas no hace sino seguir la tendencia opuesta. En la Figura 8 se muestra la evolución de ambos, reservas y producción, a lo largo del tiempo (4).

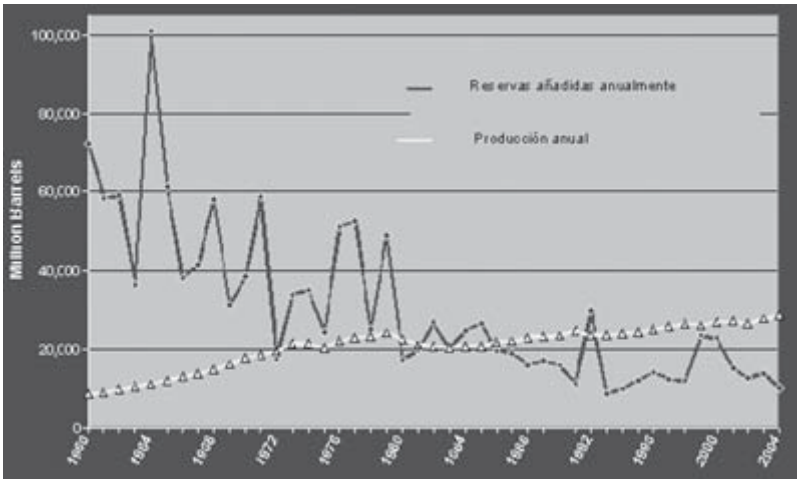


FIGURA 8. *Reservas y producción de petróleo a escala mundial* (4).

Se observa en la figura que la evolución opuesta de ambas produjo en los años ochenta un cruce de ambas curvas, de tal manera que a partir de entonces, la producción es muy superior a las nuevas reservas de crudo descubiertas anualmente. En esta situación, los expertos pronostican que alcanzaremos un cenit en la extracción de crudo, lo que se denomina «peak-oil» (5). A partir de ese momento, asistiremos a una irreversible y continua disminución en la producción de petróleo, y en consecuencia a su encarecimiento. Las previsiones en cuanto a la fecha en la que alcanzaremos el «peak-oil» dependen del escenario de crecimiento de la demanda. Para los expertos de la Agencia Internacional de la Energía, el cénit de la extracción de crudo podría situarse entre el 2018 y el 2027, aunque otros expertos anticipan esa fecha para los primeros años de la próxima década. En el último trimestre del año 2005, el consumo fue de 86,1 $\times 10^6$ barriles de petróleo por día (bpd), unos 31×10^9 barriles anuales, mientras que las reservas estimadas se sitúan en 1.200×10^9 de barriles, a los que se añaden entre 10×10^9 y 20×10^9 barriles por año de las nuevas reservas descubiertas. Además, es necesario tener en cuenta el fuerte ritmo de crecimiento de las economías china e india, que sin duda van a conducir a consumos reales de petróleo superiores a los previstos en la mayoría de los escenarios.

A las reservas de petróleo estimadas habría que añadir las reservas no convencionales, tales como petróleos extra-pesados, arenas asfálticas y bituminosas, arcillas ricas en materia orgánica, cuya extracción requiere el empleo de tecnologías de extracción avanzadas, y se realizará en todo caso a un coste muy superior al de extracción de las reservas convencionales.

El gas natural aparece como la segunda fuente de carbono fósil de importancia, por delante del carbón, y con una marcada tendencia a incrementar su consumo en todo el mundo. La producción mundial actual de gas natural se estima en alrededor de 95×10^{12} pies cúbicos por año, mientras que las reservas se estiman en unos 6.500×10^{12} pies cúbicos., equivalentes a unos 1.400×10^9 barriles de petróleo, una cifra ligeramente superior al total de reservas de petróleo probadas actualmente. Al ritmo de consumo actual de gas natural, las reservas probadas se acabarían antes de un siglo. Aunque se está registrando un fuerte incremento del consumo de gas natural en todo el mundo, el descubrimiento de nuevas reservas puede compensar en parte esta tendencia, y podríamos decir que la disponibilidad de gas natural en las próximas décadas va a ser superior a la del petróleo.

3. Emisiones de gases de efecto invernadero

El progresivo agotamiento de las fuentes de carbono fósil, sobre las que se sustenta nuestro modelo de civilización, es uno de los factores desencadenante de la crisis energética a cuyas puertas nos encontramos. No es, sin embargo, el único. El segundo factor determinante de esta situación es la emisión de gases

de efecto invernadero. Se ha constatado a lo largo del siglo XX un incremento de la temperatura media del planeta de unos 0,6º C. Aunque aún existe un debate científico acerca de este fenómeno, hay no obstante un amplio consenso sobre las causas del calentamiento global, que lo atribuye a las emisiones masivas a la atmósfera de los denominados *gases de efecto invernadero* (GEI) producidos por la actividad humana. En este punto es necesario señalar que este efecto, al que contribuyen mayoritariamente el dióxido de carbono, el metano y el vapor de agua presentes en la atmósfera terrestre, hace posible que la temperatura media de la superficie del planeta sea adecuada para el mantenimiento de la Vida. En efecto, los gases presentes en la atmósfera son transparentes a la radiación solar incidente en las regiones visible e infrarroja cercana, que representan la mayor de la energía del espectro solar. Esa radiación por lo tanto penetra en el aire y calienta la superficie terrestre. Sin embargo, la radiación infrarroja emitida por la superficie del planeta tiene una longitud de onda más larga, y esos gases de efecto invernadero absorben justamente esa radiación infrarroja de onda larga, con lo que se calientan y mantienen las capas bajas de la atmósfera y el suelo a una temperatura moderada.

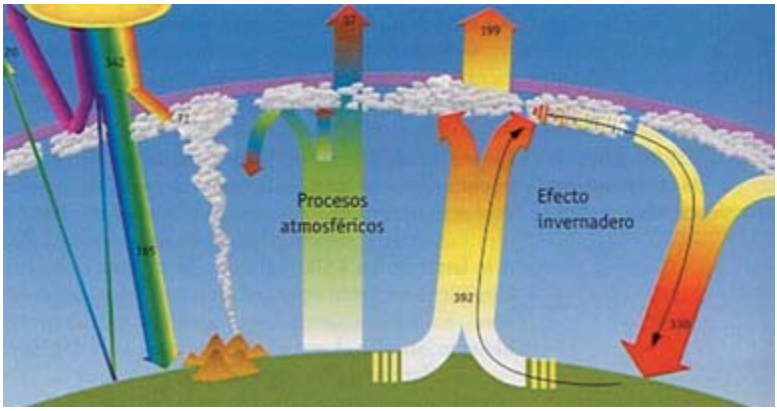


Figura 9. *Descripción del «efecto invernadero»* (6).

La concentración de esos gases en la atmósfera ha variado notablemente desde la formación del planeta, disminuyendo marcadamente la concentración de CO_2, de tal manera que la temperatura media se estima que ha variado desde unos 28º C en los inicios del Arcaico, hasta los 15º C actuales. Aunque a escalas geológicas la concentración de CO_2 ha disminuido, se puede asegurar que en tiempos históricos anteriores a la Revolución Industrial permaneció constante en torno a 275 ppm, aumentando de manera continuada desde entonces por efecto de la actividad humana (Figuras 10 y 11).

Los principales gases de efecto invernadero son el dióxido de carbono (CO_2), el óxido nitroso (N_2O), el metano (CH_4), los hidrofluorocarbonos (HFC), los



FIGURA 10. *Evolución de las emisiones de CO2 de combustibles fósiles con el tiempo, en millones de toneladas equivalentes de carbón* (2).

perfluorocarbonos (PFC) y el hexafluoruro de azufre (SF_6). No se considera la influencia del agua, ya que su concentración promedio permanece aproximadamente constante. La contribución relativa de cada uno de esos compuestos químicos no es la misma, y se mide con un parámetro denominado *potencial de calentamiento global*. El valor de este parámetro es de 1 para el CO_2, 11 para el CH_4, 270 para el N_2O, y superior a 3.000 para los hidrocarburos perfluorados (7). Es decir, para igual concentración de CO_2 y de N_2O, éste último contribuye 270 veces más que el primero al calentamiento global. Por lo tanto, el efecto de cada gas es función de su potencial de calentamiento y de su concentración en la atmósfera, y el producto de ambos factores convierte al CO_2 en el mayor contribuidor al calentamiento global provocado por los gases de efecto invernadero (Figura 11), con aproximadamente un 70%.

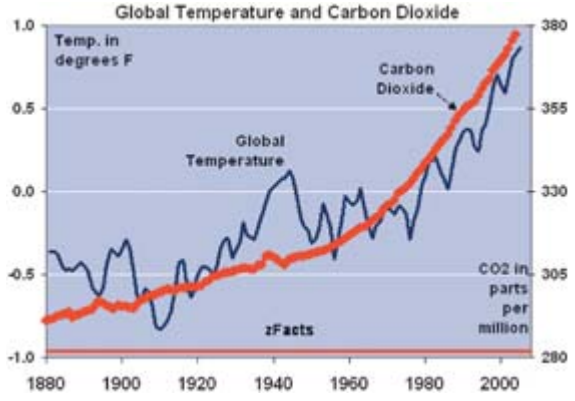


FIGURA 11. *Variación de la temperatura global y de la Concentración de CO_2 en el aire en los últimos 100 años.*

La Figura 12 recoge la contribución de cada uno de ellos, y muestra en particular que las emisiones de CO_2 provenientes de los combustibles fósiles representan aproximadamente sólo el 60% del total, destacando las emisiones de este gas debidas a las actividades relacionadas con la deforestación, y las de N_2O y metano provenientes de prácticas agrícolas, cuya suma es del 25% del total, es decir, casi la mitad del CO_2 emitido de origen fósil.

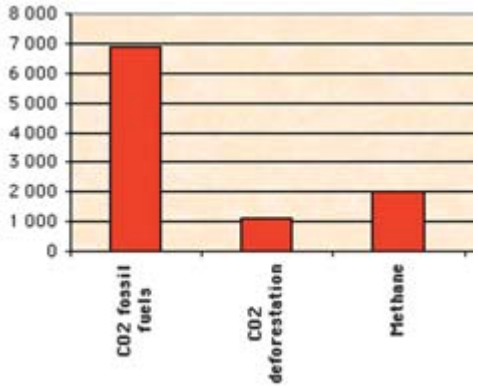


FIGURA 12. *Distribución de las emisiones de gases de efecto invernadero en el año 2000 a escala mundial, en millones de toneladas equivalentes de carbón* (2).

La Figura 13 compara las emisiones de gases de efecto invernadero por países, en la que se observa que EE.UU., Rusia y China son responsables de la

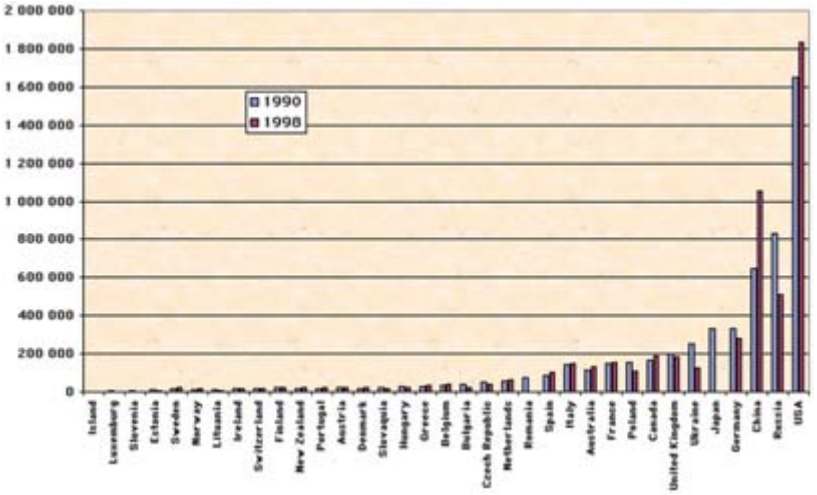


FIGURA 13. *Emisiones de gases de efecto invernadero de distintos países (2), en miles de toneladas equivalentes de carbón. Las emisiones de China corresponden sólo a* CO_2.

mayoría de ellas. Por otra parte, las emisiones por habitante varían considerablemente de un país a otro, y no sólo debido a diferencias en renta per cápita (Figura 14). Dentro del grupo de países más desarrollados, las diferencias pueden llegar a ser de 1 a 3.

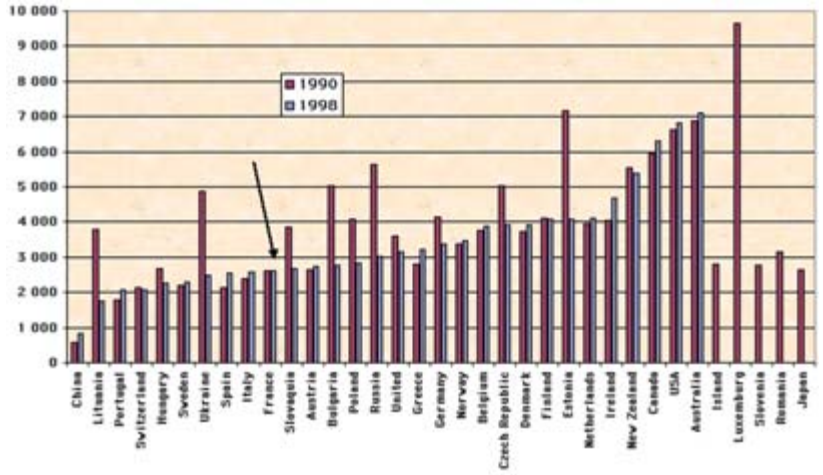


FIGURA 14. *Emisiones de gases de efecto invernadero por persona y año, en kg de carbón equivalente* (2).

¿Cuál es la contribución relativa a nivel mundial de los distintos sectores de actividad a las emisiones de gases de efecto invernadero? Según se muestra en la Figura 15, un tercio aproximadamente de las emisiones de CO_2 provienen de las plantas generadoras de electricidad, y un 25% del transporte. Destacan también las refinerías, que consumen en los procesos de refino alrededor del 8% del petróleo bruto que procesan.

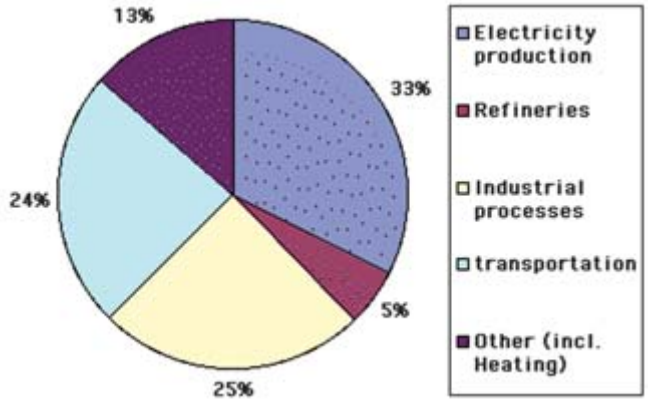


FIGURA 15. *Distribución por actividad de las emisiones de CO_2 en el mundo en 1999* (2).

Si tenemos en cuenta las emisiones de todos los gases que contribuyen al calentamiento por «efecto invernadero» en un país desarrollado como Francia, que obtiene la mayor parte de su electricidad mediante generación nuclear, el panorama es diferente. La Figura 16 muestra que entonces la mayor contribución proviene de las actividades agrícolas, con aproximadamente un 25% del total, debido a la emisión de CH_4 de la ganadería, y de N_2O de los fertilizantes agrícolas. Ambos representan en Francia entre un 25% y un 30% del total de gases emitidos. En ese país, el transporte por carretera contribuye con un 22% al total de emisiones.

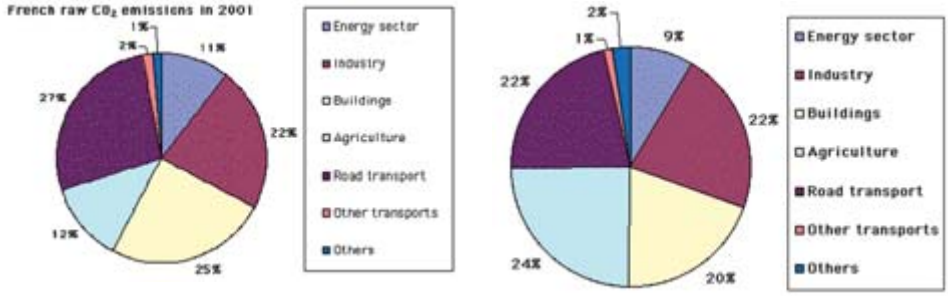


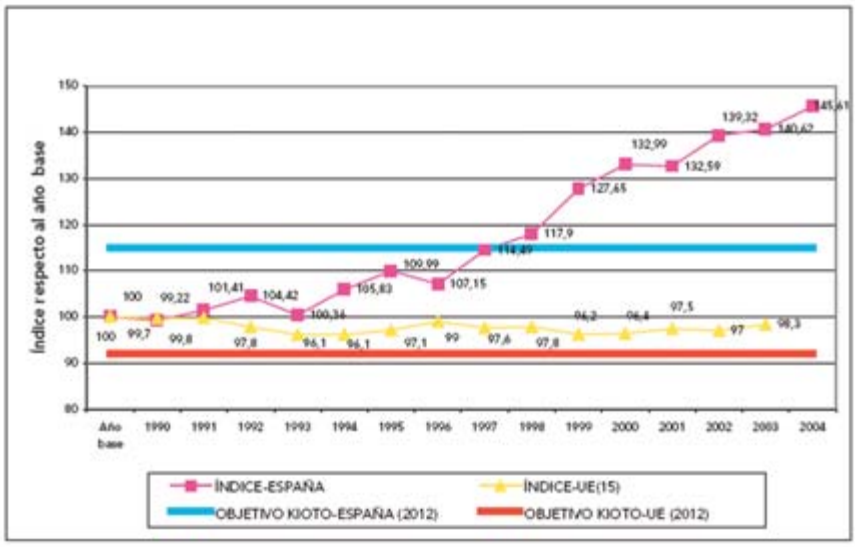
FIGURA 16. *Izquierda: Distribución de las emisiones de CO_2 en Francia en 2001 por sectores de actividad. Derecha: Distribución de las emisiones de todos los gases de efecto invernadero en Francia en 2001 por sectores de actividad* (2).

El examen del caso francés es de interés, ya que nos sitúa en un escenario que sería similar al del resto de países de la UE, incluida España, si obtuviesen su energía eléctrica de fuentes distintas al de los combustibles fósiles, como ocurre en Francia. En este caso, el sector agropecuario aparece como el principal responsable de las emisiones, una conclusión que también sería válida, dentro de ciertos rangos, para la mayoría de países que cumplan con esa condición. Como se verá más adelante, si unimos a la contribución de esos dos gases la del CO_2 proveniente de la deforestación, que avanza a pasos agigantados en la mayoría de los países en vías de desarrollo situados en las regiones ecuatoriales y tropicales del planeta, las más ricas en biomasa, entonces disponemos de un panorama mucho más realista para evaluar las propuestas de uso masivo de biocarburantes, es decir, de combustibles obtenidos a partir de plantas cultivadas, como el bioetanol o el biodiésel, tal y como se discutirá más adelante.

El reconocimiento de la alteración climática que la inyección masiva de estos gases en la atmósfera puede provocar a corto y medio plazo, ha llevado al lanzamiento de distintas iniciativas intergubernamentales, la última de las cuales es la conocida como Protocolo de Kioto, un acuerdo multinacional firmado por la mayoría de los países del planeta en 1997, entre los que no se encontraba EE.UU., y que entró en vigor en el año 2005. Este acuerdo establece una reducción de las emisiones mundiales de GEI para el año 2012 del 5,1%, con relación a los niveles

de 1990. El Protocolo de Kioto establece diferencias del porcentaje de emisiones de GEI entre distintos países, y en el caso de España autoriza un aumento del 15% de las emisiones, mientras que para el conjunto de la UE-15 fija una disminución del 8% de las emisiones globales.

¿Hasta qué punto los países signatarios del protocolo se han atenido a los objetivos del mismo? La Figura 17 presenta la evolución de las emisiones de GEI de España y de la UE-15. Hasta el año 2003, España había aumentado sus emisiones un 40,6%, y en el 2004 alcanzó ya el 46%, es decir, casi el triple de lo acordado en Kioto. Ha aumentado la emisión de todos los gases, excepto las de PFC, en porcentajes distintos según el tipo de GEI. Las emisiones de CO_2 aumentaron un 45,3%, debido sobre todo a las actividades de producción de energía (su contribución al total de emisiones de este gas es del 31,7%) y el transporte por carretera (que contribuye con un 26,3% al total de emisiones). Los mayores incrementos se han producido en el transporte por carretera (73%), y en las plantas de combustión industrial (51%). Las emisiones de metano crecieron el 28,9%, cuyas emisiones provienen en un 63% de las actividades agrícolas, y el 37% restante del tratamiento y eliminación de residuos. Las emisiones de N_2O, el 60% de las cuales provienen de la agricultura, debido a la aplicación de fertilizantes en los suelos agrícolas, crecieron un 14,9%, aunque el mayor incremento lo experimentó el sector del transporte, un 229%. Las emisiones de HFC y SF_6 se han disparado experimentando incrementos del 315% y 179%, respectivamente, en comparación con el año de referencia de 1995 para estos gases.



Nota: El año base se compone de las emisiones de 1990 de CO_2, CH_4 y N_2O, y las emisiones de 1995 de PFC, HFC y SF_6.

FIGURA 17. *Evolución de las emisiones de GEI en España y en la UE-15* (3).

FUENTES DE ENERGÍA ALTERNATIVAS

La amenaza de un cambio climático brusco en el planeta provocado por las emisiones masivas de gases de efecto invernadero, y las previsiones de agotamiento de los combustibles fósiles, sobre todo del petróleo, condicionan las políticas energéticas a escala planetaria. Como se acaba de exponer, la mayoría de los combustibles fósiles se utilizan para la generación de energía eléctrica y para el transporte. La sustitución de fuentes de carbono fósil por otras fuentes de energía primaria en la producción de energía eléctrica, reduce sin duda las emisiones de CO_2, y contribuye por lo tanto a mitigar el calentamiento global. Por este motivo, asistimos a un gran desarrollo de energías alternativas o emergentes para la generación de electricidad. Una buena parte de ellas corresponden a lo que se denomina energías renovables, en particular la energía eólica, solar y la derivada de la biomasa. En nuestro país, el Plan de Energías Renovables 2005-2010 (PER) prevé que en el año 2010 las energías renovables deben suministrar el 12% de la energía primaria, el 29,4% de la producción eléctrica, y el 5,75% de la energía empleada en el transporte (Tabla 3). Si se comparan estas previsiones con los datos recogidos en la Tabla 2, ello supondría triplicar la contribución de estas energías al consumo final de energía en el plazo de seis años.

TABLA 3. *Previsiones respecto a las energías renovables contempladas en el PER*

Tipo de energía	*Potencia instalada (MW)*		*Energía generada 2004 (GWH)*
	2004	2010	
Gran hidráulica	2.897	3.257	5.794
Minihidráulica	1.749	2.199	5.421
Biomasa	344	2.039	2.193
Eólica	8.155	20.155	19.571
Sola fotovoltaica	37	400	56
Solar termoeléctrica	–	500	–
Biogás	141	235	825
Biocarburantes *	–	–	

El PER prevé que los biocarburantes deben suponer en el año 2010 el 5,75% del total de carburantes de automoción.

La Tabla 3 indica que se apuesta decididamente por la energía eólica como la principal suministradora de electricidad en lo que respecta a energías renovables. Cabe destacar también el bajo cociente entre energía producida y energía instalada de todos los sistemas de producción de energía que no hacen uso de la combustión, debido al reducido número de horas/año de funcionamiento. Se

estima que un parque eólico medio funciona un número de horas al año que es la tercera parte del tiempo de funcionamiento de una central nuclear.

Si bien se están produciendo avances significativos en la implementación de energías renovables para cubrir las necesidades energéticas del país en lo que se refiere esencialmente a la producción de energía eléctrica, es necesario abordar de manera específica las necesidades energéticas del sector del transporte, que en su mayoría depende casi exclusivamente del petróleo. Las previsiones que anuncian que alcanzaremos en un plazo no superior a 20 años el cénit en la producción de petróleo, aconsejan buscar alternativas urgentes con el fin de asegurar las necesidades del transporte. Por otra parte, la contribución del transporte al total de emisiones de CO_2, con aproximadamente un 25% del total, aconseja también la sustitución de los combustibles tradicionales por otros sistemas y/o productos que eliminen totalmente o al menos mitiguen esas emisiones. Sin embargo, y a diferencia de lo que ocurre con los sistemas de generación de energía eléctrica a gran escala, no se han encontrado todavía fuentes de energía primaria distintas a los combustibles basados en compuestos de carbono que proporcionen la alta densidad de energía y la autonomía que necesita un vehículo de transporte por carretera. Las soluciones propuestas consisten básicamente en el empleo de vehículos de motor eléctrico que usan como fuente de energía baterías eléctricas, o que emplean hidrógeno almacenado en depósitos en el propio vehículo, para generar energía eléctrica mediante un dispositivo que se conoce como pila de combustible. El problema de ambas alternativas es que se necesitan fuentes de energía primaria para obtener tanto la energía eléctrica almacenada en la batería, como el hidrógeno consumido en la pila de combustible, ya que no existen en la Tierra fuentes naturales de este elemento químico altamente reactivo.

La mayoría de los expertos están de acuerdo en que la estrategia más adecuadas para hacer frente tanto a la cercana escasez de combustibles fósiles como al calentamiento global del planeta derivado de las emisiones de gases de efecto invernadero, teniendo en cuenta la naturaleza de los sistemas de producción, transporte y consumo de energía actuales, consiste en una diversificación de las fuentes de energía primaria, reduciendo progresivamente el empleo de fuentes de carbono fósil en la producción de electricidad, hasta llegar a abandonar completamente su uso en este sector, y en el empleo de combustibles alternativos que, aún basándose en compuestos de carbono, no dependan del petróleo.

COMBUSTIBLES SINTÉTICOS

1. Combustibles derivados del petróleo

Los carburantes consumidos en los distintos medios de transporte poseen características específicas para cada uno de ellos, y todos se producen en las refi-

nerías, en las que se transforma el petróleo crudo en productos aptos para el consumo (Figura 18). El propósito del refino del petróleo es por lo tanto la producción de combustibles, lubricantes y productos básicos para la industria petroquímica a partir del crudo. Para ello se emplean procesos de naturaleza física (destilaciones, extracciones y separaciones) y procesos de transformación química. Estos últimos son una consecuencia de que la demanda del mercado no puede satisfacerse sólo con los productos que provienen de la destilación.

En la Figura 19 se representa los distintos productos obtenidos a partir de un barril de petróleo crudo mediante los procesos que tiene lugar en las refinerías. La mayoría de ellos corresponde a carburantes para distintos vehículos de transporte, desde automóviles hasta aviación, entre los que destaca la gasolina, que representa aproximadamente el 50% del barril. Una pequeña parte son productos pesados como asfaltos, parafinas de alto peso molecular, y coque, residuos carbonosos con muy baja relación atómica H/C. Los productos ligeros son los constituidos por la gasolina para automóviles, y los gases licuados del petróleo (LPG, en inglés); los productos intermedios son queroseno, carburante para aviación y diésel, gasóleo de calefacción, y los productos pesados corresponden a asfaltos, parafinas y coque. Además, se obtienen productos como olefinas ligeras, etileno y propileno, que sirven como materia prima para la industria petroquímica en la producción de polímeros.

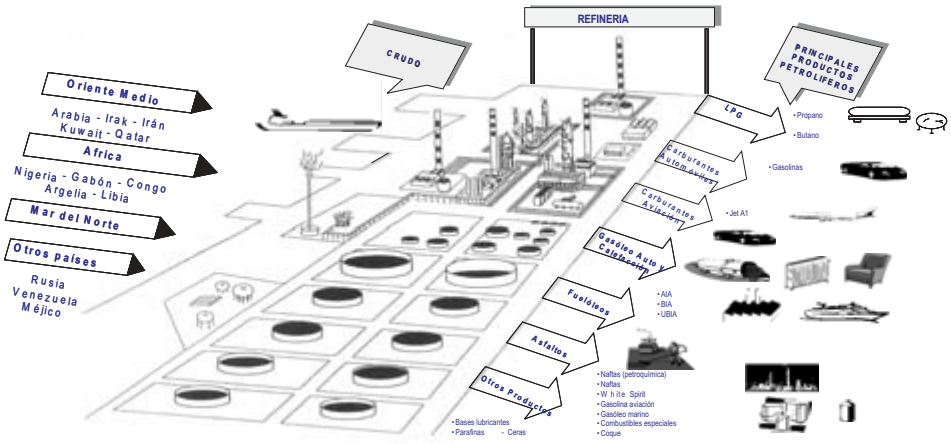


FIGURA 18. *Esquema de una refinería* (8).

La estructura de la demanda mundial de distintos productos petrolíferos experimenta cambios notables con el tiempo, como lo refleja la Figura 20, en la que se observa la demanda creciente de productos ligeros e intermedios, en detrimento de los pesados.

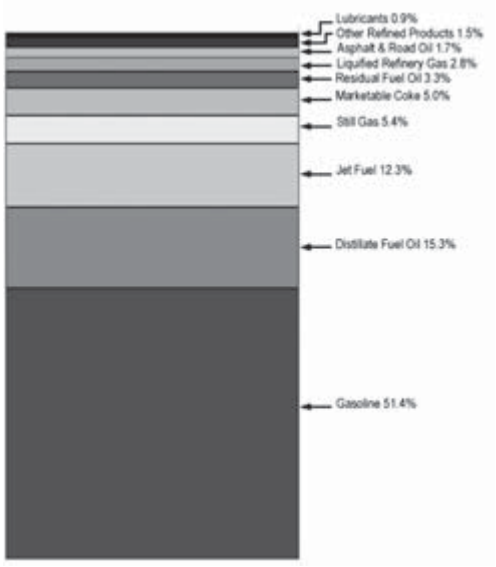


FIGURA 19. *Distribución de productos obtenidos a partir de un barril de petróleo en California (EE.UU).*

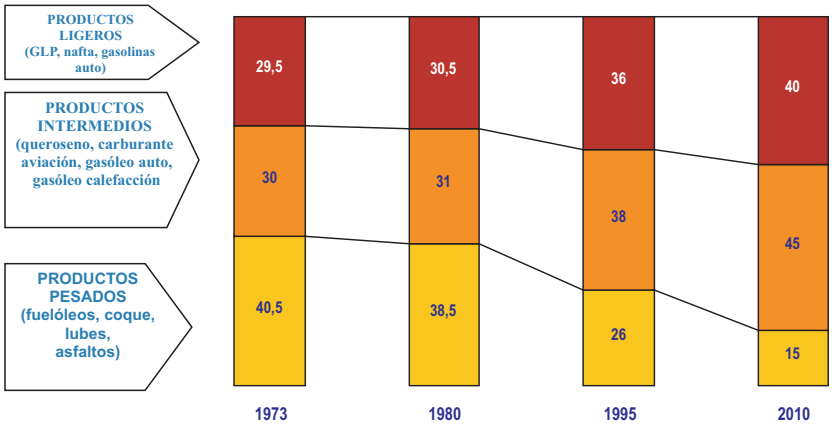


FIGURA 20. *Estructura de la demanda mundial de productos petrolíferos (%)* (8).

La combustión de los carburantes en los motores de combustión interna no sólo genera CO_2, sino también produce emisiones de CO e hidrocarburos, resultantes de una combustión incompleta, óxidos de nitrógeno, partículas pequeñas, sobre todo en los motores diésel, y compuestos de azufre. Se han implementado a lo largo del tiempo diversas medidas con el fin de reducir las

emisiones de contaminantes de los vehículos de combustión interna, en dos vertientes. Por una parte, mejorando la eficiencia de los motores, lo que ha conlleva también un ahorro de combustible, y por otra empleando combustibles de mejor calidad, que en general contienen cada vez menos azufre y compuestos aromáticos, sobre todo benceno, Tablas 4 y 5.

TABLA 4. *Calidad de la gasolina en la Unión Europea* (8)

GASOLINA	*1996*	*2000*	*2005*	*2009*
Azufre	500 ppm	150 ppm	50 ppm*	10 ppm
Benceno	5%	1% máx.	1% máx.	**
Aromáticos	–	42% máx.	35% máx.	**
Olefinas	–	18%	18% máx.	**
Oxigenados	2,5-3,7 máx.	2,7 máx.	–	–
RON/MON	95/85	95/85	95/85	
RVP, kPa	70 máx.	60 máx.		**
E100º C, %	40 mín.	46 mín.		**
E150º C, %		75 mín.		**

TABLA 5. *Calidad del Diésel en la Unión Europea* (8)

DIÉSEL	*1996*	*2000*	*2005*	*2009*
Azufre	500 ppm	350 ppm	50 ppm*	10 ppm
Cetano	49	51	51	**
Poliaromáticos	–	11% máx.	11% máx.	**
Densidad	860 kg/m^3	845 kg/m^3	45 kg/m^3	**

2. Obtención de combustibles sintéticos a partir de vectores energéticos químicos basados en el carbono

La sustitución de los combustibles actuales utilizados en el sector del transporte, manteniendo al mismo tiempo el empleo de motores de combustión interna, requiere la síntesis de distintos tipos de hidrocarburos cuyas características necesariamente tienen que ser similares a las de los combustibles consumidos actualmente en cada subsector del transporte producidos en las refinerías, igualando al mismo tiempo, si no incluso mejorando, su calidad desde el punto

de vista medioambiental. Además, los nuevos combustibles deberían tener un coste bajo.

El esquema de la Figura 21 recoge de manera general las distintas alternativas que se han propuesto para obtener combustibles basados en carbono a partir de fuentes primarias distintas al petróleo.

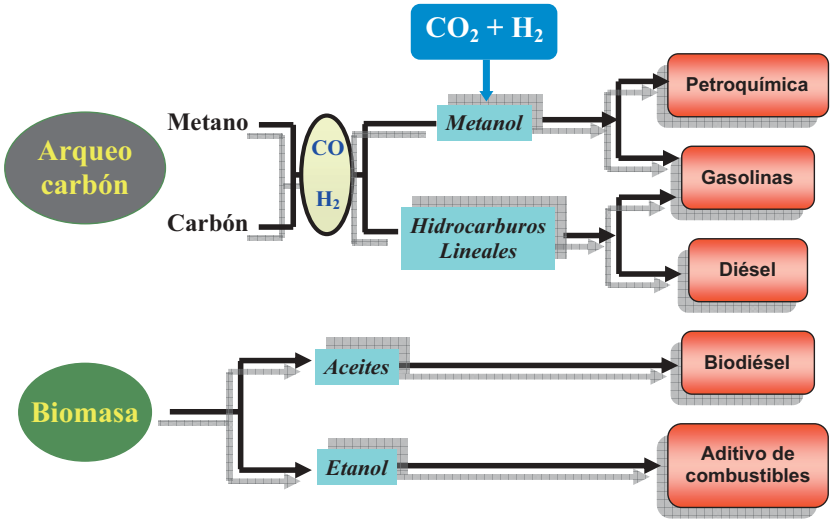


FIGURA 21. *Producción de combustibles líquidos a partir de fuentes distintas del petróleo.*

Dos de las rutas requieren el empleo de fuentes de carbono fósil, el gas natural y el carbón; y las otras dos emplean las fuentes de carbono existentes actualmente en la biosfera, una de ellas utiliza el carbono fijado en la biomasa, y la otra parte del CO_2 presente en la atmósfera. Las dos primeras suponen continuar con las emisiones de CO_2 a la atmósfera, pero emplean tecnologías relativamente bien conocidas que pueden implementarse de manera masiva en poco tiempo, y además tienen un rendimiento energético positivo, es decir, el combustible final produce más energía que la utilizada en su elaboración industrial, por lo que podemos considerarlas como fuentes de energía primaria.

La ruta de transformación de gas natural, que en su mayor parte es metano, en hidrocarburos más pesados incluida en la Figura 21 es indirecta. No obstante, también se han investigado distintos procesos para la conversión directa del gas natural en compuestos orgánicos de mayor valor añadido, tales como su oxidación parcial a metanol o formaldehído, su aromatización a benceno, y la pirólisis a alta temperatura, entre otras. Sin embargo, los rendimientos en todos estos procesos son muy bajos, por lo que ninguna de ellos resulta de momento viable desde un punto de vista industrial.

3. Combustibles a partir de gas natural y carbón. El proceso Fischer-Tropsch

La transformación tanto de gas natural como de carbón en combustibles líquidos requiere una etapa intermedia en la que ambos se hacen reaccionar con vapor de agua a alta temperatura, un proceso que se conoce como reformado, para obtener una mezcla de CO e H_2 denominada gas de síntesis. Este gas de síntesis se puede transformar en hidrocarburos líquidos a través de dos rutas alternativas. Una de ellas es la conocida como síntesis Fischer-Tropsch, en la que el gas de síntesis se hace reaccionar a presiones y temperaturas elevadas en presencia de un catalizador sólido, constituidos por metales de transición del grupo VIII, generalmente Fe o Co. La síntesis de Fischer-Tropsch es una reacción de hidrogenación catalítica de CO muy exotérmica, en la que se obtienen hidrocarburos lineales en un rango amplio de pesos moleculares, que en su mayor parte son n-parafinas y α-olefinas, pequeñas cantidades de alcoholes lineales primarios de cadena corta y otros compuestos oxigenados como subproductos, además de CO_2 y H_2O. Paul Sabatier y Senderens descubrieron en 1902 que era posible obtener metano a partir de una mezcla de CO e H_2, pero fueron el químico alemán Franz Fischer y el ingeniero industrial Hans Tropsch quienes descubrieron en 1922 el proceso que lleva el nombre de ambos (9). Este proceso se ha utilizado históricamente para obtener combustibles líquidos a partir de



FIGURA 22. *Fotografía de Fischer en su laboratorio en 1918.*

carbón en países que por distintas razones no tenían suministro de petróleo, como el caso de Alemania durante la Segunda Guerra Mundial, o la República de Sudáfrica en tiempos del régimen racista que estableció el «apartheid». En este último país, aún se sigue empleando el proceso para obtener combustibles en las plantas industriales del complejo SASOL.

El proceso Fischer-Tropsch da lugar a una mezcla de hidrocarburos lineales saturados que tienen en su mayoría entre 2 y 35 átomos de carbono (Figura 23). Estos hidrocarburos lineales tienen un octanaje muy pequeño, por lo que hay que transformarlos en hidrocarburos ramificados mediante procesos de isomerización. Finalmente, se obtienen combustibles de muy buena calidad análogos a los producidos en las refinerías, pero sin apenas azufre y, en el caso del diésel, con un buen índice de cetano.

Cuando se emplea gas natural como materia prima, el conjunto del proceso se conoce como tecnología GTL (Gas-To-Liquids). Dada la relativa abundancia de gas natural y las redes de transporte y distribución existentes, su tecnología de extracción y su menor contenido de azufre, se le prefiere antes que al carbón como materia prima.

Aspectos químicos de la síntesis Fischer-Tropsch

La reacción de Fischer-Tropsch es muy compleja, habiéndose propuesto varios modelos para explicar su mecanismo. La mayoría de los autores proponen tres etapas que describen de manera general el proceso de formación de los hidrocarburos:

1. Iniciación. En esta etapa el H_2 y el CO se adsorben disociativamente sobre los átomos metálicos presentes en el catalizador.
2. Propagación. Se forman especies CH_2 adsorbidas sobre los centros activos del catalizador. Estas unidades inician un proceso de polimerización, en el que se van añadiendo consecutivamente nuevas unidades CH_2. Esas cadenas en crecimiento permanecen aún adsorbidas, y este proceso explica la formación de hidrocarburos lineales.
3. Terminación. En esta etapa las cadenas se desorben del centro activo, y en función del mecanismo a través del cual se desorben se forman hidrocarburos saturados, α-olefinas o productos oxigenados.

De acuerdo con ese mecanismo general, el peso molecular promedio de los productos formados dependerá de la velocidad relativa de los procesos de polimerización y de desorción. Ello se expresa mediante el parámetro α, denominado probabilidad de crecimiento de la cadena, cuyo valor está comprendido entre 0 y 1. En la Figura 23 se observa cómo aumenta la proporción de hidrocarburos de alto peso molecular a medida que lo hace el valor de α.

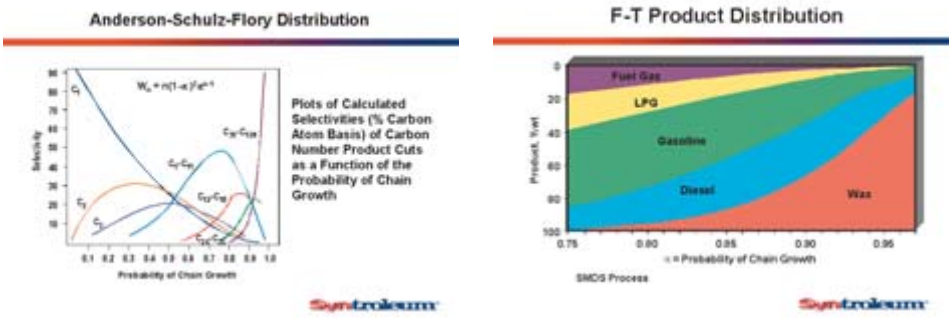


FIGURA 23. *Distribución de productos en la síntesis Fischer-Tropsch.*

Como se ha dicho anteriormente, el proceso de Fischer-Tropsch requiere la utilización de catalizadores metálicos, y en función de la naturaleza de estos catalizadores y de las condiciones de operación, varía la selectividad a los distintos productos de reacción. Los metales más activos son el Ni, Fe, Co y Ru, todos ellos del Grupo VIII de la Tabla Periódica, pero solamente el Fe y el Co tienen interés industrial, ya que el Ni forma mucho metano, y el Ru es excesivamente costoso.

Los catalizadores de hierro se emplean generalmente en forma másica, y además contienen una cierta cantidad de elementos alcalinos que actúan como promotores. Según el tipo de promotor, los catalizadores son más selectivos a olefinas o a ceras. Además, los promotores aumentan la estabilidad del catalizador, es decir, su resistencia a la desactivación o pérdida de actividad con el tiempo de uso.

Los catalizadores de cobalto se emplean generalmente soportados sobre óxidos refractarios de elevada área superficial, tales como SiO_2, Al_2O_3 y TiO_2 con el objeto de aumentar la dispersión del metal sobre la superficie del óxido. En esas condiciones, el metal se encuentra formando pequeñas partículas, que ofrecen una elevada superficie de contacto entre el metal y los gases que van a reaccionar sobre ella, el CO y el H_2. La superficie de esas pequeñas partículas soportadas o dispersas sobre el óxido refractario es muy superior a la del metal no soportado por gramo de metal, con lo que hay que emplear menos peso de metal para tener la misma superficie, un aspecto muy importante dado que el precio del cobalto es muy superior al del hierro. El contenido de cobalto de esos catalizadores varía generalmente entre el 10% y el 25% en peso, y su comportamiento catalítico está fuertemente condicionado por el tipo de soporte utilizado, el método de preparación del catalizador, o los promotores añadidos.

4. Obtención de gasolina a partir de metanol

La segunda ruta de conversión del gas de síntesis en combustibles requiere su conversión inicial en metanol, empleando condiciones de reacción y catalizadores diferentes a los utilizados en la síntesis Fischer-Tropsch. El metanol es un compuesto químico intermedio muy valioso, que puede intervenir en distintos procesos de importancia en el sector de los combustibles sintéticos. En el esquema de la Figura 24 se presentan las dos rutas básicas de transformación del metanol en hidrocarburos.

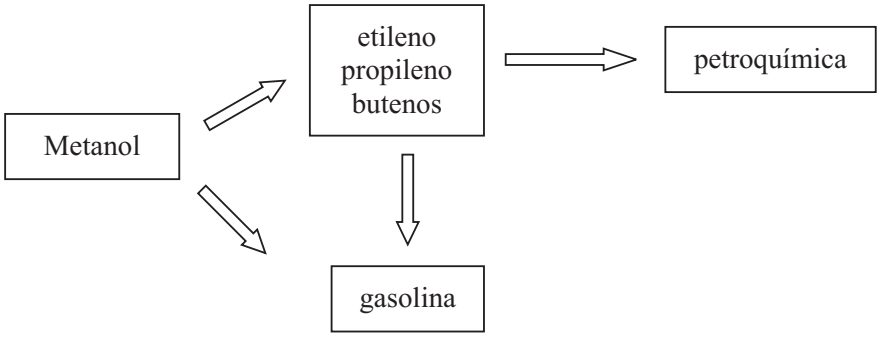


FIGURA 24. *Rutas de obtención de gasolina y olefinas a partir de metanol.*

En primer lugar, puede transformarse en gasolinas mediante el proceso MTG (Metanol-To-Gasoline) desarrollado por la compañía norteamericana Mobil Oil en los años ochenta. La primera planta comercial de conversión de gas natural en gasolina mediante el proceso MTG se puso en marcha en Nueva Zelanda en 1985. El proceso tiene lugar mediante la formación de olefinas ligeras como productos intermedios, que son transformadas *in situ* sobre el catalizador en los correspondientes hidrocarburos. Cuando la conversión es alta, cercana al 100%, se obtiene en general una mezcla de hidrocarburos parafínicos y aromáticos, en la que los hidrocarburos con un número de átomos de carbono de 5 o mayor, es decir, en el rango de la gasolina, y los compuestos aromáticos suman al menos un 80% del total de productos obtenidos.

La naturaleza de los productos obtenidos en el proceso MTG es muy dependiente de las condiciones específicas de operación, en particular de la temperatura y de la presión, así como del catalizador utilizado. En el proceso convencional, la presión a la que operan los reactores está comprendida en el rango 10-25 atm, y la temperatura dentro del rango 350º C-400º C. Sin embargo, empleando catalizadores y condiciones de reacción adecuadas, se pueden obtener como productos mayoritarios mezclas de etileno y propileno, que pueden servir como materias primas para procesos de petroquímica, en particular para la síntesis de polímeros.

Así pues, ajustando las condiciones de operación y los catalizadores, se pueden obtener hidrocarburos con propiedades muy similares a los que se obtienen en las refinerías a partir del crudo de petróleo.

Catalizadores del proceso MTG

La transformación del metanol en hidrocarburos del tipo de los que constituyen la gasolina tiene lugar gracias al empleo de una variedad específica de un aluminosilicato cristalino sintético que pertenece a la familia de aluminosilicatos denominados zeolitas. Las zeolitas son aluminosilicatos cristalinos que poseen una estructura formada por la unión de tetraedros del tipo TO_4, en donde T = Si o Al, a través de los átomos de oxígeno de los vértices. La conexión de unos tetraedros con otros tiene lugar de tal manera, que en la estructura están presentes una serie de cavidades de tamaño molecular, en las que se alojan cationes y moléculas de agua. El tamaño de esas cavidades es función de la estructura cristalina de cada zeolita en particular, es específico para cada una de ellas, y está comprendido entre 3 y 10 Å para las estructuras conocidas actualmente, unas 170 (10). En la Figura 25 se muestra la estructura de la zeolita sintética faujasita, que es el componente principal de los catalizadores de craqueo catalítico utilizados en las refinerías para obtener gasolina a partir de gasoil de muy alto peso molecular, que es el residuo que queda después de destilar el crudo petrolífero a alta temperatura y presión reducida.

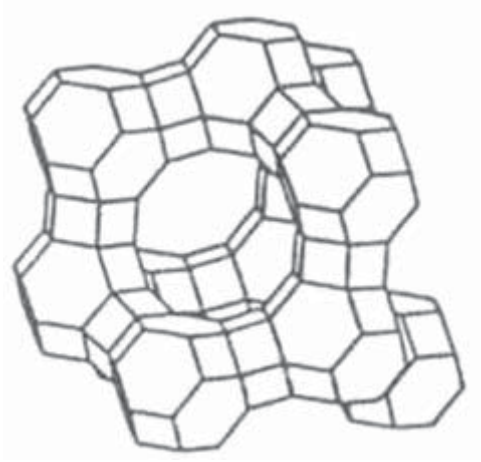


FIGURA 25. *Estructura de la zeolita faujasita. En cada vértice se encuentra un átomo de Si o Al, conectados entre sí a través de un átomo de oxígeno* (11).

La presencia de cationes en la estructura se debe a que la existencia de aluminio en la red genera un exceso de una carga negativa por cada átomo de aluminio,

que ha de ser compensada por la carga positiva del catión para mantener la neutralidad eléctrica del sistema. Estos cationes, que generalmente son iones Na^+, pueden en general intercambiarse por otros, como por ejemplo Ca^{2+} o Mg^{2+}, lo que hace posible su empleo masivo en la industria de los detergentes, en la que han desplazado progresivamente a los polifosfatos como agentes secuestrantes de cationes alcalinotérreos destinados a disminuir la dureza del agua. La mayoría de los detergentes de uso doméstico contienen una zeolita sintética, la zeolita A, con esa finalidad. Por otra parte, el agua que se aloja en las cavidades puede eliminarse reversiblemente mediante calentamiento. Además, si se elimina el agua, las zeolitas pueden adsorber una gran cantidad de compuestos volátiles, con tal de que cumplan una única condición: deben tener un tamaño menor que las aperturas de tamaño molecular que dan acceso al interior de la estructura. Por este motivo, las zeolitas también son conocidas como tamices moleculares, ya que son capaces de adsorber selectivamente moléculas en función de su tamaño.

Si el catión que contiene inicialmente la zeolita se intercambia por un catión H^+, bien directamente o preferiblemente mediante intercambio con iones NH_4^+ seguido de una calcinación a unos 450º C con el fin de descomponer este catión en NH_3 , que se desprende, y dejar el protón en el sólido. De esta manera se obtienen zeolitas que tienen un carácter de ácido Brönsted, y son capaces de catalizar el mismo tipo de reacciones que los ácidos minerales en disolución, como el ácido sulfúrico. Pero, a diferencia de estos últimos, las zeolitas son capaces de llevar a cabo reacciones de catálisis ácida de manera muy selectiva, ya que las dimensiones del interior de las cavidades en las que tiene lugar la reacción catalítica, limitan el tamaño de los productos que pueden formarse. Esta propiedad se denomina selectividad de forma, y es la clave que permite la formación de productos en el rango de las gasolinas a partir de metanol. El catalizador que se emplea en el proceso es una zeolita denominada ZSM-5, que fue sintetizada por investigadores de la compañía norteamericana Mobil Oil en 1972, y cuya estructura se muestra en la Figura 26.

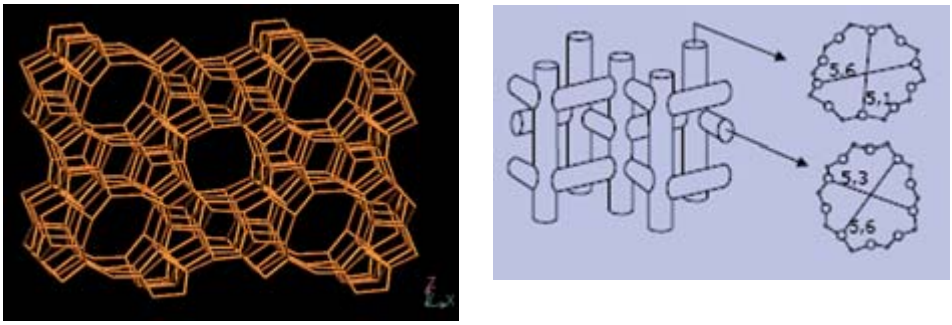


FIGURA 26. *Estructura de la zeolita ZSM-5, en la que se muestra la configuración y tamaño de los dos sistemas de canales* (11).

La zeolita ZSM-5 tiene dos conjuntos de canales que se cortan entre sí delimitados por anillos de 10 tetraedros. Su sección transversal, ligeramente elíptica, tiene un tamaño aproximado de 5,5 Å.

Los centros ácidos presentes en la zeolita son capaces de provocar una serie de reacciones consecutivas del metanol, tal y como se ilustra en la Figura 27.

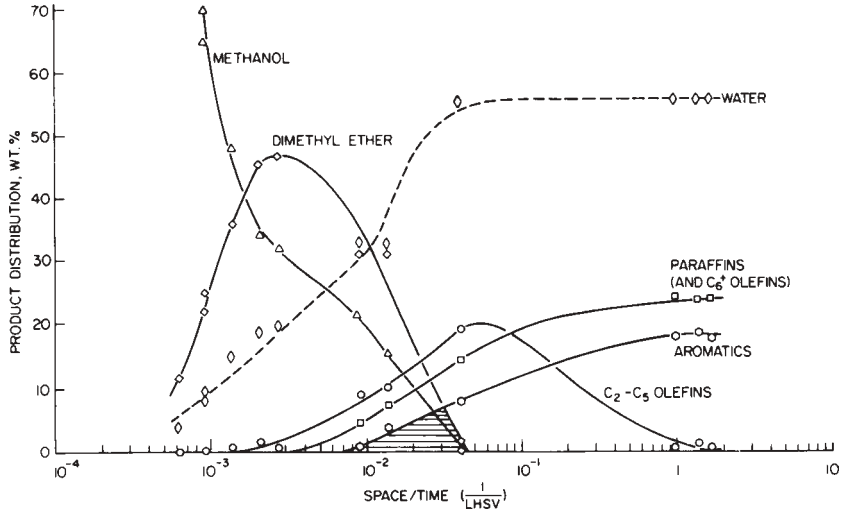


FIGURA 27. *Distribución de productos obtenidos en la reacción de metanol sobre un catalizador ZSM-5 en función de la conversión. T = 375º C* (12).

En primer lugar, se forma dimetiléter, que se descompone *in situ* para dar olefinas, fundamentalmente etileno, que se transforma a continuación mediante un mecanismo complejo en parafinas e hidrocarburos aromáticos de mayor peso molecular. El tamaño relativamente pequeño de los canales de la zeolita limita el proceso de polimerización de las olefinas intermedias, que sólo llega hasta la formación de hidrocarburos del tipo gasolina e hidrocarburos con un número de átomos de carbono inferior a 11. Además, la existencia de los dos sistemas de canales facilita la desorción de los productos formados en su interior, y reduce marcadamente la deposición de productos de muy alto peso molecular que acabarían finalmente envenenando el catalizador. Otras zeolitas que tienen poros de mayor diámetro que los de la ZSM-5, como la mordenita o la ZSM-4, también catalizan la reacción del metanol para dar hidrocarburos, pero, debido a su tamaño de poro (~ 6,5 Å), superior al de la ZSM-5, conducen a la formación de hidrocarburos de alto peso molecular, y sufren una rápida desactivación (Figura 28).

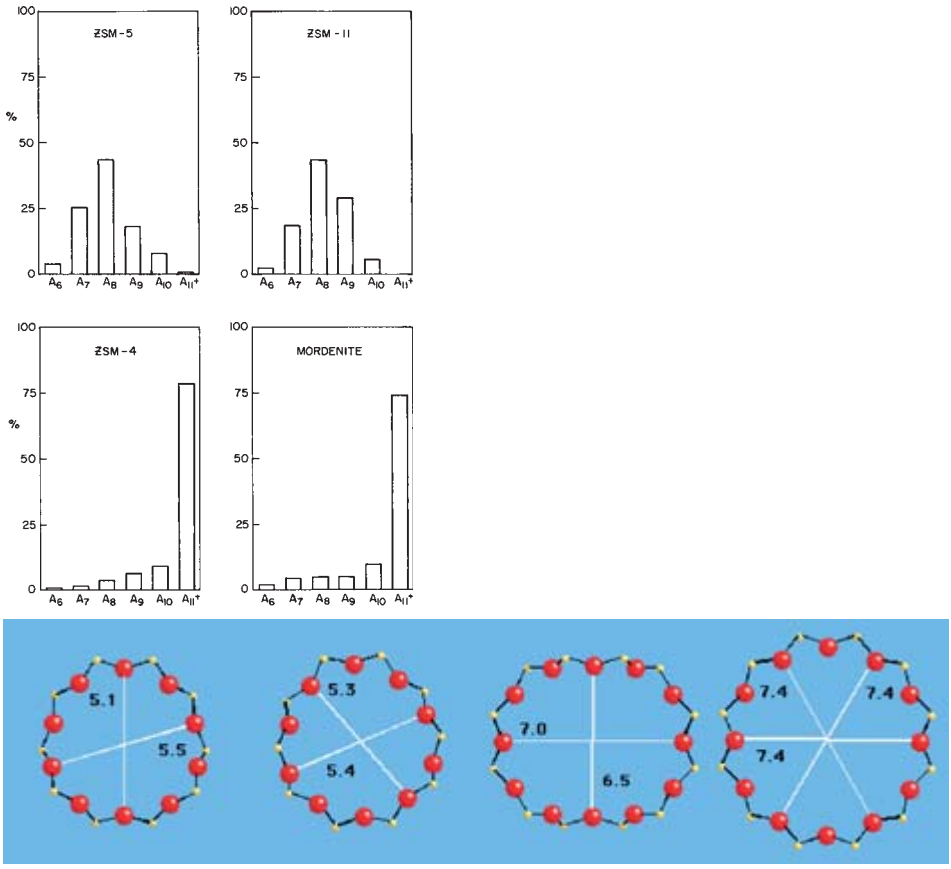


FIGURA 28. *Distribución de productos aromáticos en la reacción de metanol sobre las zeolitas ZSM-5, ZSM-11, mordenita y ZSM-4, y su tamaño de poro* (12).

5. Transformación del CO_2 en combustibles

La viabilidad técnica y comercial del proceso de obtención de gasolinas y olefinas ligeras a partir de metanol, hace posible pensar en el uso de CO_2 como fuente de metanol. En efecto, se conocen catalizadores capaces de catalizar la reacción entre el CO_2 y el H_2 para dar CO y H_2, cuya reacción posterior para dar metanol es un proceso industrial bien conocido, o bien dan lugar directamente a metanol (13):

$$CO + 2H_2 \rightarrow CH_3OH, \qquad \Delta H_{298K} = -90{,}70 \text{ kJ/mol}$$

$$CO_2 + H_2 \rightarrow CO + H_2O \qquad \Delta H_{298K} = +41{,}19 \text{ kJ/mol}$$

$$CO_2 + 3H_2 \rightarrow CH_3OH + H_2O \qquad \Delta H_{298K} = -49{,}51 \text{ kJ/mol}$$

La reacción entre el CO y el H_2 se lleva a cabo industrialmente a unos 250º C y alrededor de 5 MPa de presión. En el caso del CO_2, en esas condiciones, la conversión de equilibrio del CO_2 sería de 27%, y la selectividad a metanol del 68%, con lo que hay que proceder al reciclado de la alimentación, tras separar los productos formados. Los catalizadores comerciales para la síntesis de metanol están basados generalmente en Cu/ZnO soportados sobre una matriz refractaria, generalmente alúmina.

Aunque el proceso de síntesis del metanol es exotérmico, hay que tener en cuenta que es necesario emplear energía para obtener hidrógeno a partir de la disociación electrolítica del agua, por lo que el balance total de energía es negativo, es decir, el proceso global de síntesis de metanol requiere más energía que la liberada por el metanol en su combustión, bien directa, o bien a través de su transformación en otros productos, como hidrocarburos. Además, hay que tener en cuenta que el dióxido de carbono provendría de los gases emitidos por centrales térmicas, o bien de la atmósfera, por lo que, sobre todo en el último caso, habría que realizar costosos procesos de separación para aumentar su concentración en esas mezclas gaseosas antes de proceder a su alimentación a los reactores catalíticos. Por lo tanto, podemos considerar el metanol obtenido mediante este proceso como un vector de transporte de energía, pero no como una fuente primaria de energía. La energía consumida en el proceso debe provenir de alguna otra fuente. Teniendo en cuenta esta condición, existe actualmente la tecnología básica para utilizar el carbono atmosférico como fuente tanto de combustibles líquidos como de distintos hidrocarburos demandados por la industria química.

6. La biomasa como fuente de energía. Biocombustibles: Bioetanol y biodiésel

La necesidad de reducir las emisiones de CO_2 procedentes del uso de combustibles fósiles, ha llevado a considerar el uso de la biomasa como fuente de energía primaria alternativa. Se denomina biomasa al conjunto de la masa o materia de origen biológico presente en la biosfera. A efectos prácticos, sólo se considera la biomasa de naturaleza vegetal como combustible. Desde el punto de vista de su uso como combustible, la biomasa engloba una amplia variedad de materias orgánicas, que se pueden utilizar de distintas maneras según su naturaleza. La Figura 29 ilustra las distintas rutas de transformación de la biomasa en combustibles.

El principio básico que impulsa el empleo de biocombustibles es que, aunque obviamente éstos emiten CO_2 en la combustión, no emiten más que el CO_2 previamente tomado de la atmósfera y fijado por la planta en sus tejidos durante su proceso de crecimiento. De esta manera, el balance global de emisiones de CO_2 sería cero, aunque más adelante se mostrará que aún la combustión de biocarburantes, en las condiciones actuales de producción y procesado de los mismos para

convertirlos en combustibles, produce emisiones netas de CO_2, aunque inferiores a las que produce la combustión de combustibles fósiles. Otros beneficios de los biocarburantes son su carácter renovable, su nulo contenido de azufre y de compuestos aromáticos; en algunos casos, mejoran incluso algunas propiedades de los carburantes clásicos, como la combustión, en el caso de que se utilice etilterbutil éter derivado del bioetanol, o el mayor poder lubricante del biodiésel en comparación con el diésel obtenido del petróleo. Se aduce también su efecto promotor de la economía rural, y su capacidad par aprovechar excedentes agrícolas.

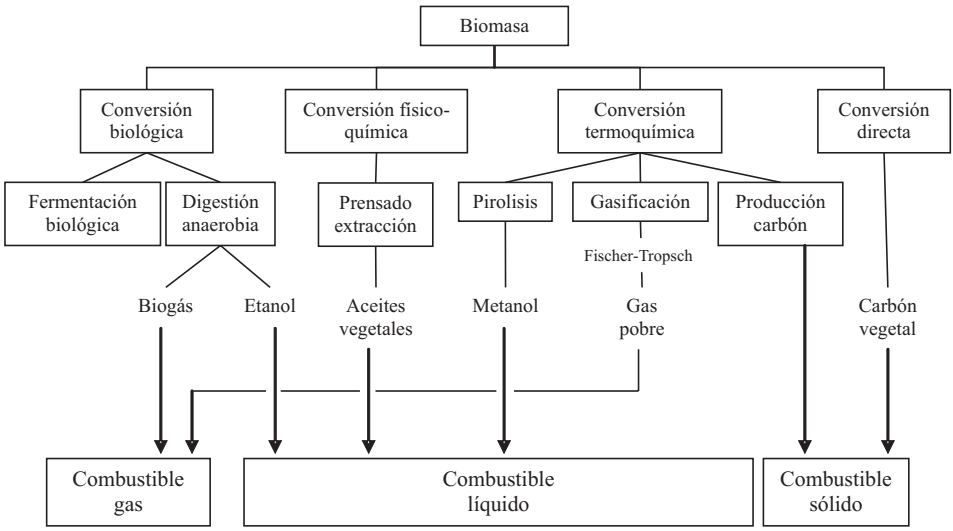


FIGURA 29. *Transformaciones y aplicaciones energéticas de la biomasa.*

6.1. *Biocarburantes. Bioetanol y biodiésel*

Los biocarburantes son combustibles líquidos o gaseosos, producidos a partir de la biomasa. Los tres biocarburantes más importantes son el gas producido mediante fermentación de materia orgánica, denominado por ese motivo biogás, el bioetanol y el biodiésel. El interés de los biocarburantes radica en que pueden sustituir a los combustibles fósiles empleados actualmente en el sector del transporte, y por este motivo los dos más importantes son el bioetanol y el biodiésel.

El esquema de la Figura 30 muestra las rutas básicas para la obtención de ambos biocarburantes.

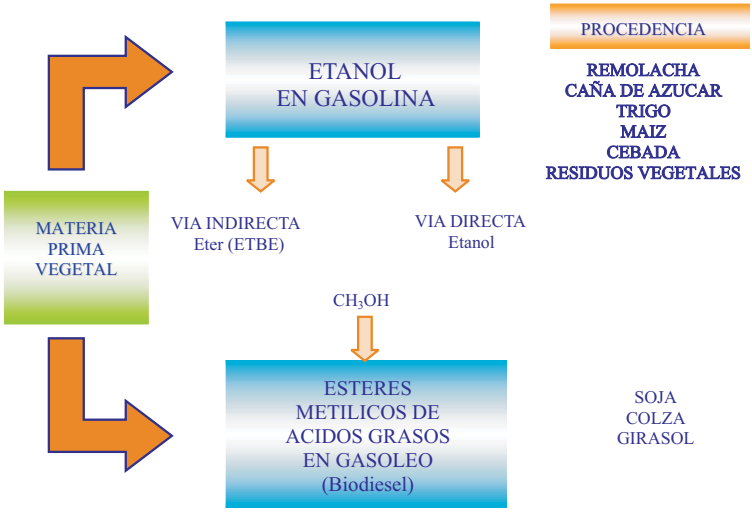


FIGURA 30. *Esquema de conversión de materias primas vegetales en biocarburantes* (8).

Se denomina bioetanol al etanol obtenido mediante la fermentación de materias primas de origen vegetal, entre las que destacan la remolacha, la caña de azúcar, el trigo, el maíz, la cebada o distintos tipos de residuos vegetales. El empleo de una u otra materia prima depende de factores específicos de cada país. Así, en Brasil, líder mundial en el empleo de biocarburantes, se emplea el etanol obtenido a partir de la caña de azúcar en vehículos de combustión interna desde hace más de 25 años, mientras que en Europa, con condiciones climatológicas muy distintas a las de Brasil, se obtiene sobre todo a partir de la remolacha azucarera y el trigo.

Existen dos maneras de utilizar el etanol en motores de combustión interna: se puede simplemente mezclar con la gasolina en distintas proporciones (una mezcla 25% de alcohol y 75% de gasolina suele ser bastante común), o incluso utilizarlo prácticamente puro (95% de etanol) en vehículos adaptados. Sin embargo, resulta incluso más conveniente transformar el etanol en etilterbutileter (ETBE). Este compuesto tiene unas propiedades muy adecuadas para su empleo en motores, pose en particular un octanaje muy elevado, y una tensión de vapor en verano de 45 KPa, por debajo del máximo de 60 exigido por la normativa vigente en 2005. El etanol sin embargo, posee una tensión de vapor de 200, lo que inevitablemente provoca emisiones indeseables de este compuesto a la atmósfera. Otras ventajas añadidas del ETBE son que se incorpora al nivel de las refinerías, en la formulación de las gasolinas, y que no necesita un sistema propio de distribución al usuario, a diferencia del etanol o sus mezclas.



Plantas Bioetanol

Situación	Cartagena	Curtis	Babilafuente
Puesta en Marcha	1999	2002	2005
Producción Bioetanol (millones l/a)	100	120	200

Plantas ETBE en las Ref. Españolas

Emplazamiento	Puesta en Marcha	ETBE (millones l / a)
Algeciras	2000	70
Puertollano		90
Coruña		70
Tarragona		170
Bilbao	2002	100
Huelva	2004	45

FIGURA 31. *Producción de bioetanol y ETBE en España* (8).

En España existen varias plantas de fabricación de bioetanol, con una capacidad total de producción instalada de alrededor de 330.00 Tm, así como de síntesis de ETBE en varias refinerías (Figura 31). Las tres plantas de bioetanol en funcionamiento actualmente pertenecen al grupo Abengoa, que tiene otras en construcción en Vizcaya, Andalucía, y Cataluña, al igual que otros grupos industriales, como Sniace y Acciona, en diversas Comunidades Autónomas.

6.2. *Biodiésel*

Se denomina biodiésel a los ésteres metílicos de los ácidos grasos que se obtienen a partir de grasas animales y aceites vegetales, aunque por el volumen de biodiésel requerido para su uso en el sector del transporte, sólo los aceites vegetales tienen interés práctico. La reacción entre aceites vegetales, que son triésteres de ácidos grasos y glicerina y metanol da lugar a la formación de los correspondientes ésteres metílicos y de glicerina (Figura 32), que se obtiene como subproducto en una proporción que varía en función de la composición química exacta del aceite vegetal de partida, pero que puede estimarse en cerca de 200 kg por cada tonelada de éster metílico.

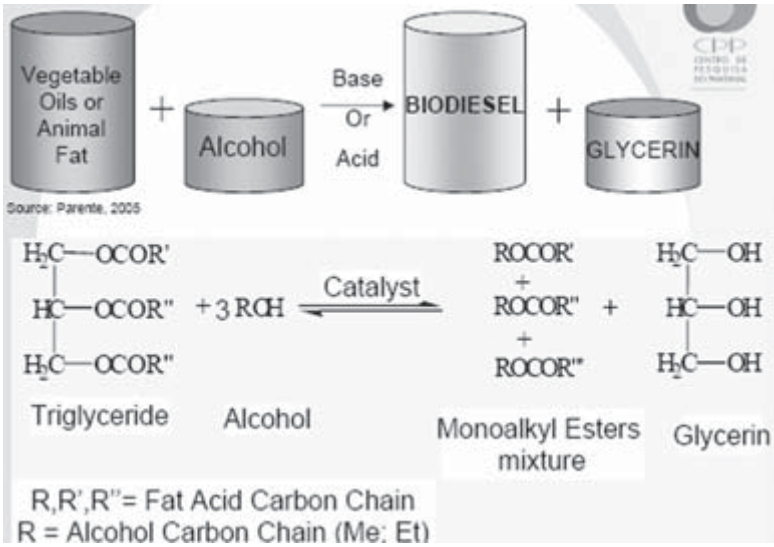


FIGURA 32. *Obtención de biodiésel a partir de aceites vegetales.*

La reacción requiere el empleo de un catalizador básico, como hidróxido o metóxido de potasio, que una vez finalizada la reacción hay que neutralizar y separar de la mezcla resultante. El biodiésel pueden utilizarse solo o bien mezclado en proporciones variables con gasóleo convencional.

El aceite de cacahuete ya se utilizó como combustible en la primera demostración pública del funcionamiento del motor diésel en la Feria Internacional de París de 1889, y los aceites vegetales siguieron utilizándose en ese tipo de vehículos hasta que fueron desplazados por el diésel obtenido del petróleo, a medida que la industria petrolera se desarrollaba a gran escala en la década de los veinte del siglo pasado.

Las propiedades del biodiésel dependen de la composición química del aceite vegetal de partida, en particular del número de átomos de carbono de los ácidos grasos que contienen y del grado de instauración de los mismos. En la Tabla 6 se recoge el índice de cetano de distintos tipos de biodiésel obtenidos a partir de diferentes aceites vegetales. El índice de cetano es una de las características más importantes del diésel, que expresa su tendencia a entrar en ignición por efecto de la compresión, tomando el cetano o n-hexadecano como referencia. Se observa en la tabla que, en general, varía de manera inversa con el grado de instauración del biodiésel, medido mediante el índice de yodo.

TABLA 6. *Características de distintos tipos de biodiésel*

	Composición (%)						
Materia prima	*C12*	*C14*	*C16*	*C18*	*C18 Insat.*	*Índice de iodo*	*N.º cetano*
Colza	–	1	3	2	40*	110-115	58
Girasol–	–	10	–	85	125-135	52	
Oliva	–	1	10	3	85	77-94	60
Soja	–	–	–	–	85-90	125-114	53
Coco	47	15	9	2	9	8-10	70
Palma	–	2	38	5	54	44-58	65
Babassu	45	15	7	4	16	–	–

* El aceite de colza contiene entre un 40 y un 60% de C22 monoinsaturado.

Se observa en la Tabla 6 que la mayoría del biodiésel procede de aceites vegetales muy insaturados, en los que la gran mayoría de los grupos grasos tienen 18 o más átomos de carbono. En Europa, el 70% del biodiésel se obtiene del aceite de colza, sobre todo en Alemania, el 20% del girasol, y el resto de otros aceites y de aceites usados. En España se produjeron 14.000 Tm de biodiésel en 2004.

6.3. *Políticas comunitarias sobre biocarburantes*

La Unión Europea está desarrollando una decidida política de estímulo del empleo de biocarburantes para el transporte, tal y como recogen diversas directrices de las autoridades comunitarias. La producción actual de biocarburantes líquidos en la EU 25 es de unos 2 Mtm aproximadamente, lo que supone menos del 1% del total. Aproximadamente un 20% de esa cifra corresponde al bioetanol, y el resto al biodiésel. Fruto de la política comunitaria es el aumento de la producción de biocarburantes, que se ha multiplicado por 4 entre 1999 y 2004, cuyo objetivo es lograr que en el año 2010 los biocarburantes supongan un 5,75% del total empleado en el transporte, un 8% en el 2020, proponiéndose alcanzar un 25% en el 2030. La Tabla 7 recoge la previsión de demanda de energía para los tres principales combustibles empleados en el sector del transporte, en el período 1990-2030.

TABLA 7. *Previsión de demanda de energía (en Mtm) para los tres combustibles líquidos principales* (14)

	1990	*2000*	*2010*	*2020*	*2030*
Gasolina	132,1	129,8	142,1	145,4	141,6
Keroseno	29,2	45,1	53,0	63,3	72,0
Diésel	103,0	147,7	182,1	207,6	223,6
Total	264,3	322,6	377,2	416,3	437,2

La aplicación de esa norma comunitaria supone que serán necesarios 18 Mtm de biocarburantes en el sector del transporte en el año 2010, y alrededor de 33 Mtm en el 2020. Los informes de la UE afirman que Europa posee un potencial significativo en la producción de biocombustibles, a los que habrá que dedicar nada menos que entre el 4 y el 13% del total de tierras agrícolas para cubrir esa demanda con la producción interna. Para el año 2030 se requerirían alrededor de 100 Mtm, una cifra que sólo se podría alcanzar recurriendo a importaciones masivas de biocarburantes. Incluso hoy en día, ya se están produciendo importaciones de aceites vegetales destinados a la fabricación de biodiésel. No obstante, los informes elaborados por la UE sostienen que al menos la mitad de esas necesidades podrían provenir de biocarburantes obtenidos a partir de los residuos lignocelulósicos generados en las actividades agrícolas, incluida la explotación de madera, y en el procesado de alimentos. Esos residuos se convertirían en gas de síntesis (mezcla de CO y H_2), que suministrarían combustibles líquidos mediante los procesos F-T y MTG descritos anteriormente.

6.4. *Los biocarburantes en Brasil*

Brasil es sin lugar a duda el país en el que se utilizan en mayor cantidad los biocarburantes, esencialmente bioetanol, para el sector del transporte por carretera (Figura 33). Teniendo esto en cuenta, y las previsiones de la UE en lo que se refiere a la necesidad de recurrir a importaciones de biocarburantes para abastecer el mercado interior, es conveniente examinar con algún detalle la situación de los biocarburantes en ese país.

Brasil inició en la década de 1970 un ambicioso programa de fomento del uso masivo de bioetanol, y en mucha menor medida, de biodiésel. Ello estuvo motivado por distintos factores. En primer lugar, por la doctrina de la seguridad nacional de la dictadura entonces gobernante, con la finalidad de reducir la dependencia energética del exterior. A ello se unió la estrecha relación entre los grandes propietarios agrícolas productores de caña de azúcar y la dictadura militar, el bajo coste de la mano de obra, las inversiones en infraestructuras viarias, los bajos precios del azúcar en el mercado internacional, y los subsidios para el cultivo de la caña de azúcar destinada a la producción de etanol, entre otros.

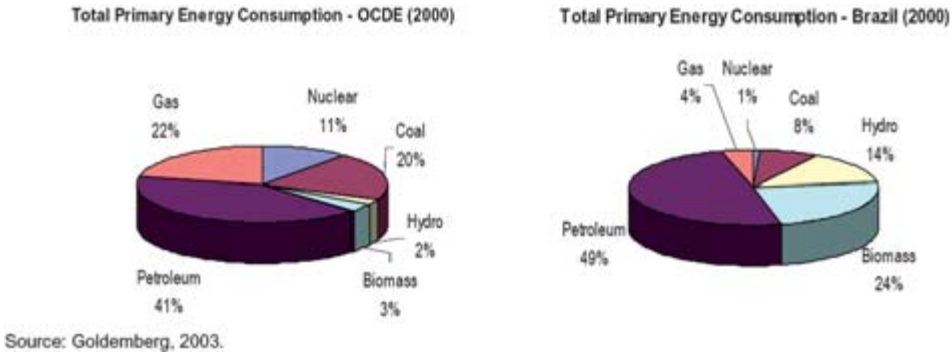


FIGURA 33. *Distribución del consumo de energía en Brasil y OCDE* (15).

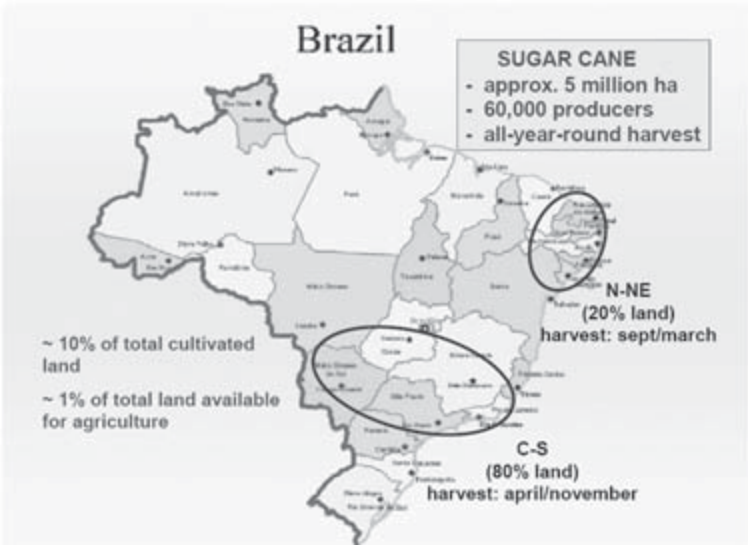


FIGURA 34. *Producción de bioetanol en Brasil* (16).

Según se muestra en la Figura 34, se dedican a la producción de caña de azúcar aproximadamente 50.000 Km^2, alrededor del 10% del total de tierra cultivada del país, produciéndose alrededor de 13×10^9 litros de etanol. Los subsidios finalizaron en 1997, lo que supuso un cierto estancamiento del uso de este biocarburante. Sin embargo, las políticas medioambientales tendentes a reducir las emisiones de gases de efecto invernadero han supuesto un nuevo impulso para la producción de biocarburantes en Brasil, en los que esta vez parece ocupar un lugar destacado el biodiésel.

Desde enero de 2005, se autoriza la venta del combustible tipo B2, que contiene un 2% de biodiésel, que será fijo a partir del 2008, y a partir del año 2013 será obligatorio el tipo B5, que contiene un 5% de biodiésel. La introducción de estos combustibles se impulsa mediante una política fiscal que prima la producción de biodiésel con hasta 90 US$ por metro cúbico. La introducción del B2 supone la necesidad de obtener 800×10^6 litros/año de biodiésel, a partir de $1{,}5 \times 10^6$ hectáreas de terreno cultivado, es decir, aproximadamente 500 litros de biodiésel por hectárea, que se obtiene casi en su totalidad del aceite de soja. Brasil posee una gran variedad de plantas productoras de aceites vegetales, entre las que destacan la palma *dendé,* que puede llegar a producir hasta 6.000 litros de aceite por hectárea; el babassu, otro tipo de palma, con un rendimiento de 1.600 litros de aceite/ha; el árbol castor, con 2.000 l/ha; y la soja, con un rendimiento aproximado de entre 400 y 500 litros por hectárea, o incluso algo superior, en función de las condiciones climáticas y del suelo. Aunque el rendimiento de aceite de las palmas es muy elevado, éstas requieren una gran cantidad de mano de obra, que se estima en unas veinte veces superior a la que necesita la recolección de la soja (17). Aunque este factor es ciertamente muy beneficioso para el desarrollo socioeconómico de las comunidades locales de regiones que poseen una renta muy baja, parece ser que el gobierno brasileño se ha inclinado por la soja como principal suministrador del aceite del que se obtiene el biodiésel, que requiere mucha menor mano de obra, y de la que Brasil es uno de los principales productores mundiales. Los planes gubernamentales establecen como principal zona destinada a los cultivos de soja para la producción de biodiésel la región conocida como *Cerrado,* una región de sabana que se extiende en forma de arco a lo largo de la frontera sur y sureste del Amazonas, con una gran riqueza desde el punto de vista de la biodiversidad (Figura 35).

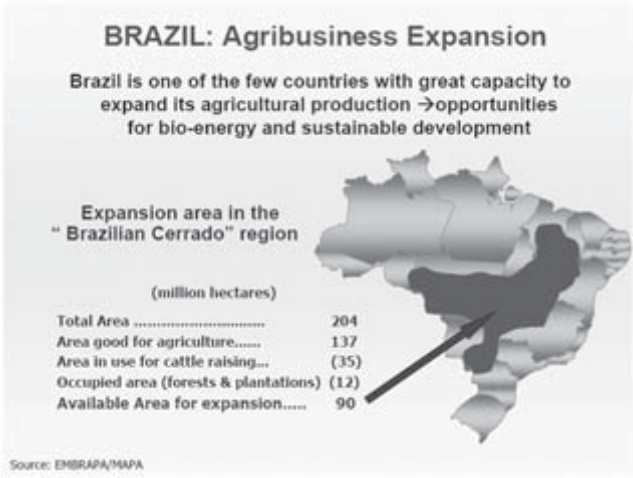


Figura 35. *Área de expansión de la producción de biodiésel en Brasil* (16).

6.5. *Producción de biodiésel y deforestación*

La razón básica para impulsar el consumo de biocarburantes es mitigar las emisiones de gases de efecto invernadero, fundamentalmente CO_2. En efecto, se estima que el biodiésel produce aproximadamente un 80% menos de emisiones de este gas que el diésel obtenido del petróleo. Parecería que el biodiésel no produce emisiones netas de CO_2, ya que al quemarse emite a la atmósfera el gas previamente fijado en la planta durante su crecimiento, pero hay que tener en cuenta que la producción de biodiésel requiere un gran consumo de energía, que en su mayoría es de origen fósil, y además requiere metanol, que se obtiene a partir de fuentes de carbono fósil. Sin embargo, cuando se realiza un análisis del ciclo de vida completo de la producción de este biocarburante, lo que se denomina en inglés «well-to-wheel», es decir, desde el lugar donde se extrae originalmente (el pozo de petróleo, cuando se aplica a este combustible) hasta el vehículo en el que se consume, las conclusiones acerca de las supuestas ventajas del biodiésel sobre el diésel convencional son muy distintas.

En primer lugar, hay que tener en cuenta las grandes cantidades de biodiésel que se van a tener que producir de acuerdo con las previsiones de la UE, a las que muy probablemente se sumen otros países, como el caso de Brasil. El biodiésel que se consuma en Europa a corto/medio plazo no puede provenir de fuentes autóctonas, sino que va a requerir la importación masiva del aceite o aceites vegetales de los que se obtenga, como lo reconocen los propios documentos comunitarios. En este escenario, Brasil aparece como el principal suministrador de la materia prima necesaria, que no es otra que el aceite de soja. Tal y como se indicó anteriormente, el gobierno brasileño ya ha elaborado planes de expansión del cultivo de soja con este fin, y prevé satisfacer no sólo la demanda interna, sino también el mercado exterior (18). La elección de este aceite no es casual, ya que Brasil produjo en el año 2004, 49,79 millones de toneladas de grano de soja, un 26% de la producción mundial, de los que se exportaron el 72.8%, alrededor de 36 millones de toneladas, principalmente a Europa y China. Esto supuso para Brasil unos ingresos equivalentes al 12% del total de sus exportaciones, lo que indica la importancia estratégica que tiene este cultivo para el país. La soja se destina sobre todo a alimentación humana y animal, como los pollos de granja, siendo éste el destino principal de la soja importada por los países europeos. Brasil ya dedica al cultivo de soja 230.000 Km^2, una superficie que se incrementó sólo entre el 2004 y 2005 en 20.000 Km^2 con el fin de satisfacer una demanda en rápido crecimiento (19). Es en este escenario en el que se sitúa la demanda de soja para la producción de biodiésel, siguiendo los planes aprobados por el gobierno brasileño.

En efecto, los millones de toneladas de soja adicionales destinadas a la producción de biodiésel van a requerir nuevos terrenos de cultivo, y es aquí dónde se sitúa el problema medioambiental ligado a la producción de este biocarburante, ya que esas nuevas áreas de cultivo van a provenir de la deforestación de la selva

amazónica y del *Cerrado*. En efecto, actualmente ya existen en la Amazonía brasileña alrededor de 30.000 Km^2 de plantaciones de soja, aumentando cada año la superficie que se destina a este fin. Pero el mayor impacto se produce en la biota conocida como el *Cerrado*, que se ha establecido como zona de expansión de los cultivos de soja destinados a la producción de biodiésel. Esta es una región de alrededor de 2×10^6 Km^2 de sabana tropical extraordinariamente rica en biodiversidad. En esta área, se encuentran unas 10.000 especies de plantas, 161 especies de mamíferos, 837 especies de pájaros, 150 especies de reptiles, y 150 de anfibios (20). De la superficie original, el 55% ya ha sido deforestado para destinarlo a pasto para ganado (42%) o a usos agrícolas (11%). Además, la deforestación avanza a un ritmo anual de entre 22.000 y 30.000 Km^2, (21) y es previsible que ese ritmo se incremente sustancialmente con la expansión de los cultivos energéticos (soja para biodiésel). Sólo el 2% de la superficie del *Cerrado* está protegida legalmente.

Si la deforestación en el *Cerrado* tiene un impacto medioambiental muy negativo sobe el que están llamando la atención recientemente diversos especialistas, es aún peor la deforestación de la región del Amazonas. En esta zona, se deforestaron entre agosto de 2003 y el mismo mes de 2004, 26.000 Km^2, un 6% más que el año anterior, la mitad de ellos en el estado de Matto Grosso. En la última década, la deforestación ha avanzado a un ritmo de unos 25.000 Km^2 anuales (22). El estímulo a la producción de soja para biodiésel va a incrementar sin duda estas cifras. En primer lugar, porque esos cultivos no se circunscriben a la región del Cerrado, sino que como se acaba de señalar la soja es un cultivo en expansión en la región del Amazonas. Se deforesta para dedicar la superficie deforestada a cultivos agrícolas, entre ellos la soja, y a pasto para el ganado. En segundo lugar, a medida que se dediquen terrenos de pasto en las zonas ya deforestadas del Cerrado, los ganaderos se desplazarán hacia las regiones amazónicas fronterizas para deforestarlas y obtener así nuevos suelos para pasto, siguiendo una tendencia ya establecida en la región. Además de la deforestación, el cultivo de soja a gran escala crea problemas de contaminación de las aguas, debido al uso de herbicidas y plaguicidas, pérdida de suelo fértil arrastrado en la estación de las lluvias, y reducción severa de la biodiversidad. A ello hay que añadir su impacto indirecto debido a la construcción de toda la red de infraestructuras necesaria para la producción de la soja y su traslado a los centros de exportación.

Aunque el impacto medioambiental de la producción masiva de soja es muy severo, en el caso de la deforestación de la selva amazónica produce un enorme incremento de las emisiones de gases de efecto invernadero, que es el motivo aducido para su cultivo. La causa de este efecto radica en el contenido en carbono de la biomasa de la selva amazónica, y en menor medida también del *Cerrado*. La selva amazónica contiene de media unas 463 toneladas de masa vegetal seca por hectárea, de las que aproximadamente el 50% corresponden a carbono, es decir, unas 230 toneladas de este elemento (23). Esas cifras muestran que las selvas tropicales del planeta constituyen un enorme depósito de carbono de la bio-

esfera, y su destrucción inevitablemente traslada ese carbono bajo la forma de CO_2 a la atmósfera. El ritmo de la destrucción de selvas tropicales en todo el mundo es de tal magnitud que se estima que, como media en el período 1981-1990, las emisiones netas de gases de efecto invernadero debido al incendio intencionado de selvas tropicales para su reconversión en otros usos, supuso aproximadamente un 30% del total de emisiones antropogénicas de esos gases (24). Sólo las emisiones debidas a la deforestación en Brasil supuso el 5% del total.

Fearnside ha estudiado con detalle el impacto de la deforestación de la selva amazónica sobre las emisiones de gases de efecto invernadero, teniendo en cuenta no sólo los gases emitidos en el proceso de combustión, sino también el carbono fijado por los nuevos usos agrícolas o ganaderos del terreno quemado (23-24). Tomando como referencia el año 1990, durante el que se quemaron 13.800 Km^2 de selva amazónica, y la contribución relativa de cada gas emitido, el análisis exhaustivo del proceso de deforestación realizado por ese autor conduce a estimar que el incendio de cada kilómetro cuadrado de selva y su reconversión en usos agropecuarios produce unas emisiones netas de GEF de 70.000 Tm de CO_2 equivalente. Es decir, unas 700 Tm por hectárea. Sin embargo, por cada hectárea deforestada que se dedique al cultivo de soja, sólo se obtienen entre 400 y 500 litros de aceite por cosecha, que pueden transformarse en una cantidad aproximadamente equivalente de biodiésel. La combustión de ese biodiésel evita la emisión de aproximadamente 1,5 toneladas de CO_2 equivalente de origen fósil, es decir, alrededor de 450 veces menos que los gases emitidos en el proceso de reconversión de una hectárea de selva en una hectárea de plantación de soja. Un análisis similar realizado por el mismo autor sobre las áreas de sabana o *cerrado* existentes en la región amazónica indica unas emisiones netas alrededor de ocho veces inferiores a las de las regiones selváticas, que en todo caso supone unas emisiones netas de GEF en el proceso de deforestación.

El análisis global que se acaba de exponer indica claramente que la estrategia de uso masivo de biodiésel como sustituto del diésel de origen fósil va a incrementar notablemente tanto las emisiones de gases de efecto invernadero como la amenaza sobre los bosques húmedos del planeta, cuya superficie se reduce en varios millones de hectáreas anualmente. Además, no hay que olvidar que el cultivo de soja para su uso como combustible compite directamente con el uso de la tierra para producir alimentos, y ese factor debe ser necesariamente tenido en cuenta en cualquier estrategia que contemple el empleo de cultivos energéticos para satisfacer una cantidad significativa de la demanda de combustibles líquidos.

A los dos graves inconvenientes que se acaban de mencionar, se añade otro factor que cuestiona también de manera decisiva el empleo masivo de biocarburantes, y que es frecuentemente ignorado: la producción tanto de etanol mediante procesos de fermentación de productos vegetales ricos en carbohidratos, como la producción de biodiésel a partir de aceite de soja y de girasol, tienen un balance de energía negativo, es decir, se necesita más energía para producir

un litro de etanol y de biodiésel que la energía que liberan mediante combustión. Pimentel y Pazek (25) han reportado recientemente los resultados de un estudio exhaustivo acerca del balance energético de la producción de etanol a partir de maiz y madera, y de la de biodiésel a partir de aceite de soja y de girasol. Esos autores concluyen que la producción de etanol requiere un 29% más de energía fósil que la que libera el etanol mediante combustión, mientras que en el caso de la madera esa cifra se eleva hasta el 57%. Los autores señalan que, en el caso de Brasil, a pesar de que la caña de azúcar es una materia prima más eficiente que el maíz para la producción de etanol, el balance de energía también es negativo. La producción de biodiésel a partir de aceites de soja y de girasol requiere un 27% y un 118% más, respectivamente, de energía fósil, que la que contiene el biodiésel obtenido. Esos datos confirman los reportados anteriormente por el Departamento de Energía de los Estados Unidos (26). Además, el biodiésel obtenido es entre 3 y 5 veces más caro que el diésel proveniente del petróleo, en función del aceite vegetal de partida. Esos datos ponen claramente de manifiesto que ni el etanol ni el biodiésel son una fuente de energía primaria, sino que, por el contrario, su producción requiere un consumo considerable de energía.

Agradecimientos. El autor agradece al Doctor Jesús Lázaro Muñoz (CEPSA) por el permiso para reproducir aquí parte de las figuras de la referencia 8, y a M. Grande y A. B. Pinar por la ayuda prestada en la elaboración de este documento.

BIBLIOGRAFÍA

(1) Actas de las XV Jornadas del CUEPE (Centre Universitaire d'etude des problemas de l'energie), Universidad de Ginebra (Suiza), mayo de 2005.
(2) JANCOVICI, JEAN-MARC. http://www.manicore.com
(3) Sostenibilidad en España, 2005. Informe de Primavera. Observatorio de la Sostenibilidad en España. Universidad de Alcalá. Madrid.
(4) MARTÍNEZ DEL OLMO, Wenceslao (Repsol-YPF). ¿Llegó el fin del petróleo? Análisis madri + d, 16 de febrero de 2006. http://ww.madridmasd.org
(5) HUBBERT, M. KING (1956): Nuclear energy and the fossil fuels, Spring Meeting of the Southern District Division of Production. American Petroleum Institute.
(6) Ingeniería ambiental, Gerard Kiely, McGrawHill (1999).
(7) DOADRIO VILLAREJO, A. L. (2005): *Contaminación y Energía.* Instituto de España, Madrid.
(8) LÁZARO MUÑOZ, J. (2006): *La mejora de la calidad ambiental de los combustibles.* IV Congreso Andaluz de Ingeniería Química, Málaga.
(9) FISCHER, F., TROPSCH, H. (1922): Patente alemana 411.216.
(10) *Zeolitas: síntesis, propiedades y aplicaciones.* Pérez-Pariente, J. y García, J. (editores). Servicio de Publicaciones de la Universidad de Alicante (2003).
(11) www.iza-structure.org
(12) CHANG, C. D., SILVESTRI, A. J. (1977): The conversion of methanol and Other O-Compounds to Hydrocarbons over Zeolite Catalysts. *J. Catal.* **47:** 249-259.

(13) (a) LEE, S. (1990): Metanol Synthesis and Technology, CRC Press, Boca Raton, Florida, USA; (b) JOO, O. S.; JUNG, K. D.; MOON, I.; ROZOVSKII, A. YA; LIN, G. L.; HAN, S. H., UHM, S. J. (1999): *Ind. Eng. Chem. Res.* **38** (5), 1808; (c) MAHAJAN, D.; GOLAND, A. (2003): *N. Catal. Today* **84:** 71-81; (d) GALLUCCI, F.; PATURZO, L., BASILE, A. (2004): *Chem. Eng. Process.* **43:** 1029-1036.
(14) Biofuels in the European Union. A Vision for 2030 and Beyond. 2006.
(15) SOUZA, P. T. DA. UFMT-UNU Pantanal Regional Environmental Programme. Brasil.
(16) SZWARC, A. (2004): Ministry of Science and Technology (Brasil). Use of Biofuels in Brazil. Workshop on Mitigation. SBSTA 21/COP 10. Buenos Aires (Argentina).
(17) MEIRELLES FILHO, J. (2004): O Livro de Ouro da Amazonia. Río de Janeiro. Ediouro.
(18) www.biodiesel.gov.br
(19) (a) SCHLESINGER, S. Soy in Brazil. Documento de trabajo preparado por el autor en representación de FASE (Brasil), para la reunión EU NGO sobre la soja, celebrada en los días 19-20 de septiembre de 2005. (b) FEARNSIDE, P. M. (2001): Soybean cultivation as a threat to the environment in Brazil. *Environmental Conservation* **28** (1), 23-38.
(20) SILVA, J. M.; C. DA, BATES, J. M. (2002): Biogeogrqphic Patterns and conservation in the South American Cerrado: A Tropical Savanna Hotspot. *BioScience* **52** (3), 225-23.
(21) KLINK, C. A., MACHADO, R. B. (2005): Conservation of the Brazilian Cerrado. *Conservation Biology* **19** (3), 707-713.
(22) FEARNSIDE, P. M. (2005): Deforestation in Brazilian Amazonia: History, Rates and Consequences. *Conservation Biology* **19** (3), 680-688.
(23) FEARNSIDE, P. M. (2000): Global warming and tropical land-use change: greenhouse gas emissions from biomass burning, decomposition and soils in forest conversion, shifting cultivation and secondary vegetation. *Climatic Change* **46:** 115-158.
(24) FEARNSIDE, P. M. (1997): Grenhouse gases from deforestation in Brazilian Amazonia: net committed emissions. *Climate Change* **35:** 321-360.
(25) PIMENTEL, D., PATZEK, T. W. (2005): Ethanol Production Using Corn, Switchgrass, and Wood; Biodiesel Production Using Soybean and Sunflower. *Natural Resources Research,* **14** (1) 65-76.
(26) SHEEHAN, J.; CAMOBRECO, V.; DUFFIELD, J.; GRAQBOSKI, M., SHAPOURI, H. (1998): An overview of biodiesel and petroleum diesel life cycles: Nrel/tp-590-24772. National Renewable Energy Laboratory. U.S. Dep.. of Energy.

VIII. Las células fotovoltaicas como alternativa energética

ANTONIO L. DOADRIO VILLAREJO y MARÍA LÓPEZ GARCÍA



El Doctor Antonio L. Doadrio Villarejo es Doctor en Farmacia. Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia y su actual Secretario. Es Profesor de Química Inorgánica y Bioinorgánica en la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense. El trabajo lo ha realizado en colaboración con doña María López García, alumna interna del Departamento.

Con el término fotovoltaico se designan distintos fenómenos y tecnologías que permiten la conversión directa de la energía de la radiación solar en energía eléctrica mediante el empleo de unos dispositivos llamados células solares.

Aunque el efecto fotovoltaico fue descubierto por el francés Edmund Becquerel en 1839, no fue hasta 1941 cuando se fabricó la primera célula solar de selenio en que se conseguía una eficiencia del 1%. Desde entonces, se han ido produciendo importantes avances, impulsados inicialmente por la carrera espacial, que han hecho de la tecnología fotovoltaica una tecnología madura y fiable. Los rendimientos en células especiales de laboratorio y de baja radiación superiores al 30% y la tecnología del silicio monocristalino, se han convertido en lastecnología líder, consiguiendo rendimientos de hasta el 17% sin concentración en células comerciales.

En la actualidad, se trabaja en nuevas tecnologías buscando la reducción en los costes, que siguen siendo relativamente elevados, para competir con la energía eléctrica producida en centrales térmicas. El precio de las instalaciones conectadas a red se ha reducido considerablemente en las últimas décadas, pasando de más de 30 dólares/W_p en 1980 a 6 dólares/W_p en 1998; 10 dólares correspondían al coste de los paneles y los 20 dólares restantes a otros gastos, mientras que en 1998, de los 6 dólares/W_p, 3,5 dólares correspondían al coste de los paneles y 2,5 dólares eran debidos a otros gastos.

A pesar de que el mercado fotovoltaico ha estado restringido prácticamente a instalaciones aisladas, éstas han permitido un rápido crecimiento de la capacidad de producción de la industria fotovoltaica, pasando de los 15 MW_p en 1980 a más de 150 MW_p en 1998.

Motivados por los problemas ambientales del sector energético y concretamente por los compromisos adquiridos para la reducción de emisiones de CO_2, los gobiernos de la Unión Europea se han lanzado en apoyo decidido de las energías renovables siguiendo las directrices recogidas en el libro blanco de las Energías Renovables. Bajo la premisa de que el coste de los sistemas fotovoltaicos se mantiene elevado porque el mercado es reducido y, que este mercado no se expande debido a los elevados costes de las instalaciones, el sector fotovoltaico se haya en un circulo vicioso difícil de romper, si las administraciones públicas no intervienen directamente mediante subvenciones y garantías de venta de la energía producida y con precios especiales que permitan una relativa rentabilidad. Esto explica las subvenciones y apoyos que actualmente recibe el sector fotovoltaico y las instalaciones fotovoltaicas conectadas a la red eléctrica. En esta situación se plantea como objetivo para el año 2010 alcanzar una producción mundial de $1GW_p$.

Gran parte de la producción mundial que no disfruta de los beneficios de la energía eléctrica vive en zonas rurales no electrificadas caracterizadas por una gran dispersión y bajas densidades de población. En estas zonas no resulta económicamente rentable la extensión de la red eléctrica, siendo la solución fotovoltaica un solución muy interesante, especialmente para instalaciones de potencias inferiores a 1 kW, que suelen ser las más demandadas. Es esta la razón por la que la energía solar fotovoltaica cumplirá un importante papel en la electrificación de zonas rurales y en la universalidad del acceso a la energía eléctrica y a los servicios que esta proporciona.

PRINCIPIOS DE OPERACIÓN

Las células fotovoltaicas convierten la energía de la luz en energía eléctrica. El proceso de producción de corriente en un material sólido con la ayuda de la luz solar, no fue entendido completamente hasta 1939. El rendimiento de conversión es fundamental en los dispositivos fotovoltaicos y hace de la energía solar fotovoltaica una energía más competitiva que otras fuentes. Los primeros dispositivos fotovoltaicos tenían rendimientos del 1%-2%, mientras que en la actualidad los módulos fotovoltaicos comerciales tienen rendimientos del 7%-17% en función de su tecnología.

La Figura 1 ilustra los principios de operación de una célula fotovoltaica hecha de materiales semiconductores (normalmente silicio). Son especialmente tratados para formar dos capas diferentemente dopadas (tipo p y tipo n) que forman un campo eléctrico, dando lugar a una cara positiva y otra negativa. Cuando la

luz solar incide en la célula se liberan electrones que pueden ser separados por el campo eléctrico, dando lugar a una corriente eléctrica. Una célula fotovoltaica típica de 100 cm^2 puede producir en torno a 1,5 W (0,5 V y 3 A).

Un módulo fotovoltaico consiste en un conjunto de células fotovoltaicas eléctricamente conectadas unas a otras, encapsuladas, montadas en un laminado y una estructura soporte o marco. Los módulos están diseñados para suministrar electricidad a un determinado voltaje (normalmente 12 ó 24 V). La corriente producida depende del nivel de insolación. La estructura del módulo protege a las células del medio ambiente, haciendo que sean muy duraderas y fiables.

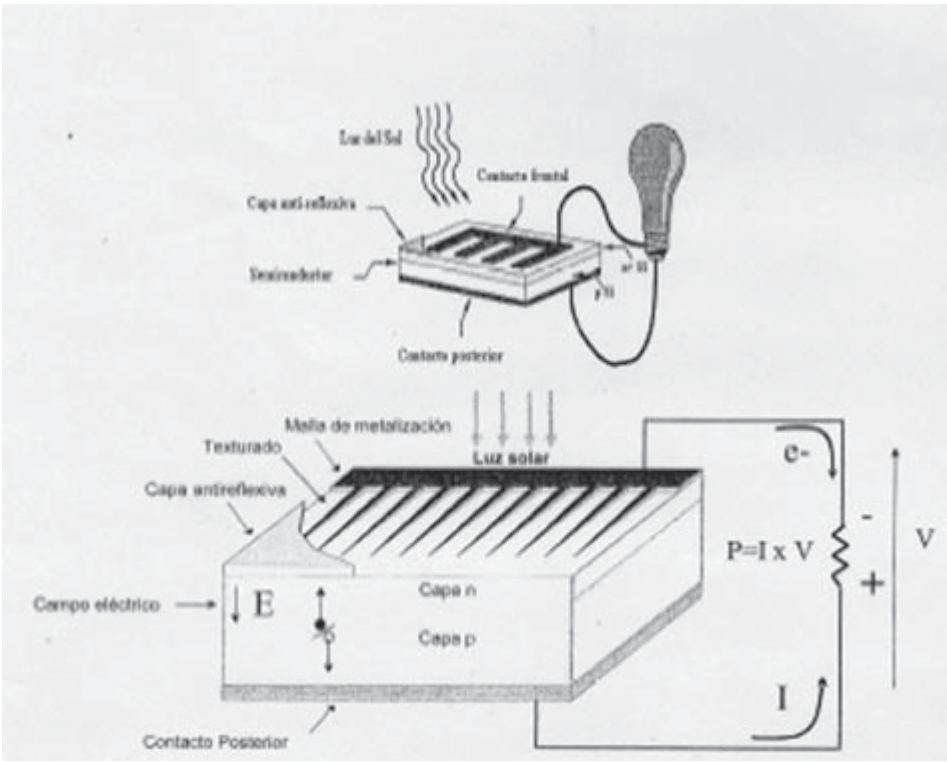


Figura 1. *Principios de operación de una célula fotovoltaica.*

Aunque un solo módulo puede ser suficiente para muchas aplicaciones, es habitual conectar dos o más módulos para formar un generador fotovoltaico. Los generadores o módulos fotovoltaicos producen corriente continua (DC) y pueden ser conectados en serie y/o en paralelo para producir cualquier combinación de corriente y tensión, hasta alcanzar la potencia necesaria para cada aplicación.

Un módulo o generador fotovoltaico por sí mismo no bombea agua ni ilumina una casa durante la noche. Para ello, es necesario un sistema fotovoltaico completo que consiste en un generador fotovoltaico junto a otros componentes, conjuntamente conocidos como «restos del sistema» o BOS (del inglés balance of system). Los sistemas fotovoltaicos se pueden clasificar como autónomos o conectados a la red eléctrica, o según el tipo de aplicación como: electrificación rural (lugar de difícil emplazamiento y acceso, viviendas de uso temporal, refugios de montaña), electrificación urbana (alumbrado de vías urbanas y de edificios públicos como museos o colegios), electrificación domésticas, telecomunicaciones espaciales, telecomunicaciones terrestres, agrícolas y ganaderas, de seguridad y señalización, centrales eléctricas y otras como detección de incendios, combustible para vehículos, etc.

LA CÉLULA FOTOVOLTAICA

En 1839 el físico experimental Edmund Becquerel, a los diecinueve años de edad observó que ciertos materiales, cuando eran expuestos a la luz, producían corriente eléctrica. Esto es conocido actualmente como el efecto fotovoltaico. Este efecto fue estudiado en sólidos, como el selenio, por Heinrich Hertz en 1870. Las células de selenio convertían la luz en electricidad con rendimientos del 1% al 2%, por lo que fueron rápidamente utilizadas en los campos de la fotografía y en dispositivos para la medida de la luz. Los principales avances para su comercialización se produjeron a partir de 1940, cuando se desarrolló el proceso Czochralski para producir silicio monocristalino de alta pureza. En 1954, los científicos Chapin, Fuller y Pearson de los laboratorios Bell, basándose en el proceso Czochralski, desarrollaron la primera célula fotovoltaica monocristalina con un rendimiento del 6%.

Aunque en los años 1950 hubo algunos intentos de utilizar células de silicio en productos comerciales, fue en el desarrollo de la tecnología espacial donde encontró su principal aplicación. En 1958, el satélite espacial Vanguard contaba con un pequeño generador fotovoltaico para alimentar su radio. En la actualidad las células fotovoltaicas satisfacen las necesidades energéticas de casi todos los satélites y la energía fotovoltaica continúa jugando un importante papel en la tecnología aeroespacial.

La industria electrónica, especialmente la tecnología de transistores de semiconductores, también contribuyó al desarrollo de las células fotovoltaicas. Los transistores y las células fotovoltaicas están hechas de materiales similares y operan basándose en mecanismos físicos también similares. Como resultado, se produce una transferencia de tecnología de los avances en la investigación de los transistores.

A pesar de estos avances, los dispositivos fotovoltaicos de los años setenta eran todavía demasiado caros para usos terrestres. Las crisis energéticas de años

posteriores hicieron renacer el interés en estos dispositivos con grandes inversiones económicas en todo el mundo en investigación, desarrollo, producción y demostración.

FUNDAMENTOS DE LAS CÉLULAS SOLARES

1. Estructura de bandas y materiales semiconductores

Según la teoría cuántica, los electrones de un átomo pueden poseer únicamente determinados valores o niveles de energía. En un sólido de estructura cristalina, las órbitas de los electrones de diferentes átomos se solapan parcialmente e interaccionan entre sí, de forma que los niveles de energía permitidos se convierten en bandas de energía, constituidas por un conjunto continuo de niveles de energía próximos. A muy bajas temperaturas (alrededor de 0 K), los electrones de los átomos ocupan los menores valores de energía posibles, es decir, llenan todos los niveles inferiores. Recibe el nombre de banda de valencia la banda de mayor energía que, a esta temperatura, permanece completamente llena, esto es, con la totalidad de sus niveles energéticos ocupados por electrones. A la banda de energía inmediatamente superior, completamente vacía a dicha temperatura, se la denomina banda de conducción. Ambas pueden estar separadas por una banda prohibida, inaccesible para los electrones.

En los sólidos conductores, las bandas de valencia y de conducción están solapadas, con lo que los electrones están dotados de una gran movilidad al disponer, en la práctica, de una única banda de niveles de energía ocupada tan sólo parcialmente. En los sólidos aislantes, en cambio, la banda de valencia está completamente llena, y la de conducción completamente vacía, siendo la banda prohibida que las separa muy ancha, con lo que es necesario un gran incremento de energía (del orden de unos 7 eV) para pasar un electrón de la banda de valencia a la de conducción.

Los materiales semiconductores, en cambio, si bien poseen una disposición de bandas de energía análoga a la de los aislantes, la anchura de la banda prohibida es considerablemente menor (normalmente inferior a unos 3 eV). La anchura de este salto, Eg, es una característica fundamental de los semiconductores (Figura 2). En la Tabla I se indica los saltos energéticos de los principales semiconductores, resaltándose en cursiva los que son más utilizados para el aprovechamiento fotovoltaico de la energía solar. El silicio, Si, es, con diferencia, el material semiconductor más empleado, siendo, además, uno de los elementos químicos más abundantes de la corteza terrestre.

TABLA I. *Saltos energéticos de los principales semiconducores*

Semiconductor	E_g *(eV)*
Te	0,33
Ge	0,67
$CuInSe_2$	1,05
Si cristalino	1,12
Cu_2S	1,20
InP	1,34
GaAs	1,42
CdTe	1,45
CdSe	1,72
Si amorfo	1,75
Cu_2O	2,10
GaP	2,25
CdS	2,42
TiO_2	3,00

Existen fundamentalmente dos tipos de semiconductores: los semiconductores intrínsecos, que conducen la corriente eléctrica debido a las características de su estructura atómica, y los conductores extrínsecos, que aumentan su conductividad a base de añadir a un semiconductor intrínseco, ciertas impurezas.

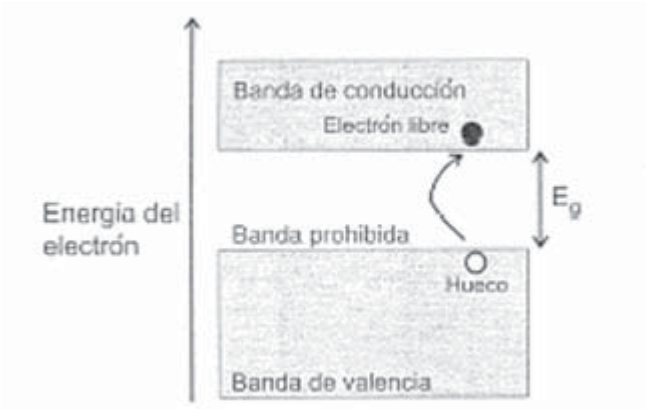


FIGURA 2. *Saltos energéticos en los semiconductores.*

Los semiconductores intrínsecos más importantes son silicio y germanio, siendo el primero el constituyente fundamental de los sistemas solares fotovoltaicos. Ambos son elementos con valencia 4, esto es, poseen cuatro electrones

en la capa de valencia y poseen estructura cristalina cúbica. Son, además, sólidos covalentes, por lo que sus átomos están ligados por electrones de valencia compartidos (similares a lo que sucede en el enlace covalente entre moléculas). Cada uno de los cuatro átomos más próximos a un átomo determinado forma con éste un enlace covalente constituido por un intercambio de dos electrones, uno en cada átomo. Se establecen en total cuatro enlaces covalentes con ocho electrones compartidos, que forman parte de la banda de valencia. A temperatura de 0 absoluto, los electrones no se hayan sometidos a vibración externa y permanecen fijos en la banda de valencia, mientras que la banda de conducción está totalmente vacía, con lo que los semiconductores intrínsecos se comportan como aislantes perfectos. Cuando al aumentar la temperatura u otra causa, la energía cinética de un electrón alcanza el valor correspondiente a la energía de activación (la energía necesaria para superar la banda prohibida es 1,12 eV para el Si), el electrón abandona su estado en la banda de valencia y pasa a ocupar un estado en la banda de conducción, comportándose a partir de ese momento como un electrón libre de un metal; al aplicar una diferencia de potencial en los extremos del semiconductor, el electrón se desplaza en el sentido contrario al del campo eléctrico formado. En la banda de valencia a su vez, se ha creado un vacío o hueco correspondiente al nivel de energía que ha dejado vacante el electrón, que puede ser ocupado por electrones de la banda de valencia, con lo que se origina, bajo la acción del mismo campo eléctrico, una corriente de los electrones de valencia, de forma que el hueco y la carga positiva a la que equivale, se desplazan en la misma dirección del campo eléctrico. Así pues, un semiconductor intrínseco conduce la electricidad debido al desplazamiento, en sentidos opuestos, de huecos y electrones libres, ambos en igual número.

Una forma de conseguir que existan electrones libres en la banda de conducción es a base de introducir impurezas en el semiconductor intrínseco, es decir, dopándolo, dando lugar a un semiconductor extrínseco (Figura 3).

Se describe seguidamente este proceso para el caso habitual del silicio. Los cristales de silicio forman una red cristalina en la que, debido a sus cuatro electrones de valencia, cada átomo se enlaza con los cuatro vecinos más próximos situados en los vértices de un tetraedro. Tal y como se ha explicado y de acuerdo con la teoría cuántica, la energía de los orbitales de valencia que forman los enlaces corresponde a un conjunto de estados que forman la banda de valencia. La banda energéticamente superior a ésta es la banda de conducción, separada por un salto energético o banda de energías prohibidas (gap). Supongamos que algunos átomos de fósforo se añaden al crisol de silicio fundido en el que se creará el cristal. Los átomos de fósforo poseen cinco electrones de valencia, cuatro de ellos formarán enlaces con el silicio circundante, pero a temperatura ambiente el quinto pasará a la banda de conducción, quedando las impurezas de fósforos ionizadas con carga positiva. Este tipo de impurezas se conoce como impurezas donadoras.

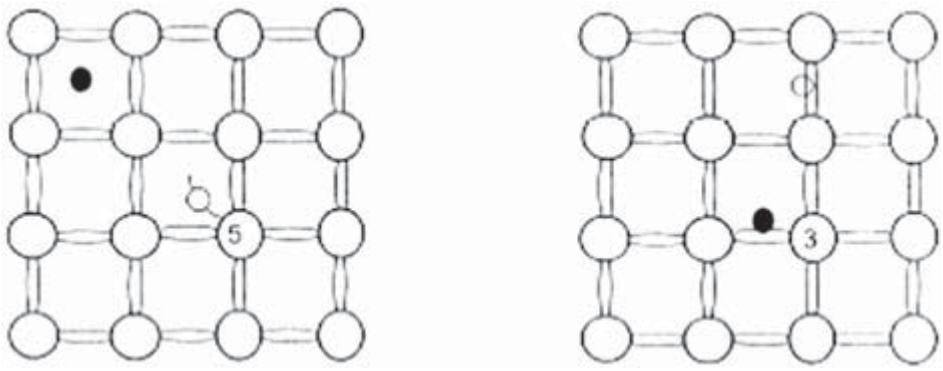


Figura 3. *Impurezas donadoras y aceptoras en el Si. Impureza donadora a la izquierda y aceptora a la derecha.*

Los electrones en la banda de conducción son móviles, con lo que el semiconductor adquiere cierta conductividad debido a las cargas negativas, denominándose semiconductor de tipo n (por tener predominancia de portadores de carga negativas: electrones). Se produce una situación similar aunque complementaria, cuando las impurezas introducidas son átomos de boro; este átomo tiene tres electrones de valencia. A temperatura ambiente, prácticamente todos los átomos de boro han captado un electrón de la banda de valencia y poseen, por tanto, carga negativa, quedando en dicha banda de valencia los huecos correspondientes, que actúan como partículas cargadas positivamente. Este tipo de impurezas se llaman impurezas aceptadoras, y un semiconductor con estas características eléctricas se denomina semiconductor de tipo p (por tener predominancia de portadores de carga positivos: huecos).

2. Unión entre semiconductores

El funcionamiento de la célula solar se basa en la formación de uniones entre materiales semiconductores con distintos dopajes; estas uniones generan un campo eléctrico. Se denomina unión p-n (Figura 4), al contacto de una zona de tipo p con una zona de tipo n de un mismo semiconductor, no presentándose en la unión discontinuidad notable de la red cristalina.

La primera de dichas zonas tiene mayoría de huecos libres como portadores de carga, con los correspondientes iones negativos ligados a la red cristalina; la otra zona, de tipo n, tiene en cambio, una mayoría de electrones libres como portadores de carga y los correspondientes iones positivos ligados. Al poner en contacto un semiconductor tipo p con uno tipo n, la movilidad de los electrones en el segundo hace que estos se difundan hacia el primero, dejando atrás una capa positivamente cargada por los átomos donantes. De forma análoga, los huecos se difunden hacia la zona tipo n dejando una zona cargada negativamente. Próxima

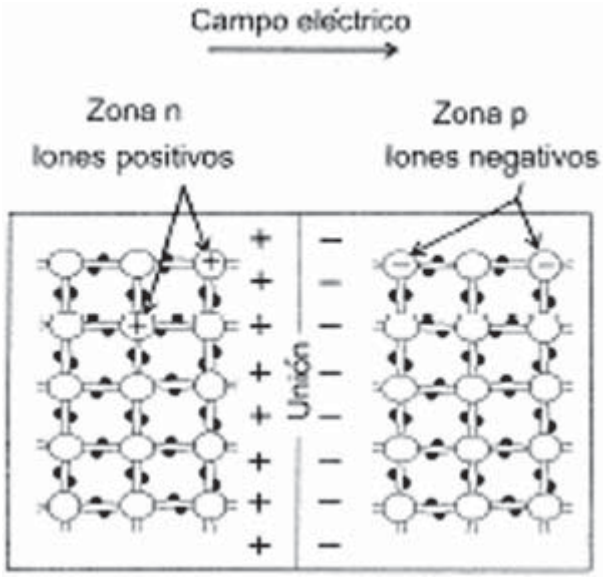


Figura 4. *Zonas p y n y unión entre ellas.*

a la unión se origina pues, una zona sin prácticamente cargas móviles. De este modo, suponiendo el cristal aislado, las cargas fijas de los átomos donantes dan lugar al establecimiento de una diferencia de potencial estática de equilibrio entre ambas regiones, que impide la continuación de las corrientes de difusión de unos y otros portadores a través de la unión y, por tanto, la igualación de las concentraciones de portadores de carga de ambas zonas. La diferencia de potencial generada es del orden de 0,5 V en el caso del silicio. El campo eléctrico creado en esta unión, empuja a nuevos electrones y huecos promovidos a la banda de conducción a moverse en direcciones opuestas, siendo expulsados fuera de la zona de unión, de modo que si se conecta un circuito eléctrico exterior se establece una corriente eléctrica originada por los electrones que han sido expulsados por el campo eléctrico y que, tras recorrer el circuito eléctrico externo vuelven a entrar en el semiconductor por la cara opuesta.

3. Absorción de la luz y efecto fotovoltaico

Una célula fotovoltaica convencional de silicio se fabrica a partir de una barra cristalina de silicio dopado con boro, cortado en discos de un espesor de 0,3 mm. Una de sus caras se coloca en una atmósfera gaseosa, a alta temperatura, rica en fósforo, con el que, mediante procesos de difusión, se consigue una elevada concentración de fósforo en dicho extremo (en un espesor entre 0,3 y 1 mm aproximadamente), superior a la concentración inicial de boro. Con ello,

se constituye una unión p-n, fundamento de la célula solar fotovoltaica. Seguidamente, se deposita una rejilla conductora metálica sobre esta cara, y una capa metálica conductora sobre la capa opuesta, a fin de que actúen de electrodos colectores de las cargas eléctricas generadas y para establecer las conexiones eléctricas entre células (Figura 5).

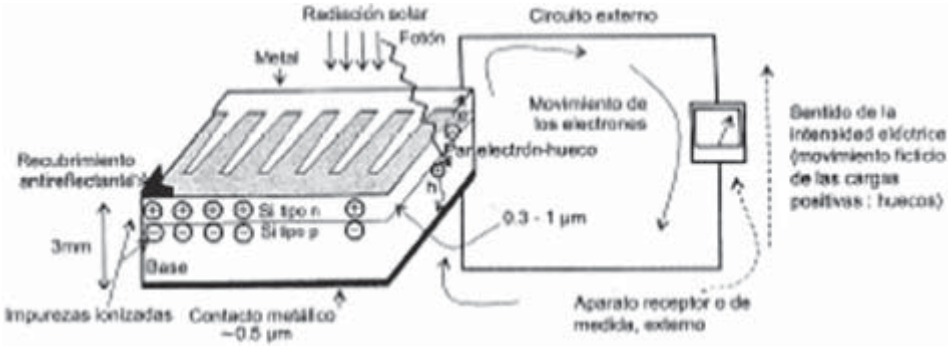


FIGURA 5. *Célula convencional de silicio.*

Cuando un flujo de fotones incide sobre la célula construida a partir de la unión entre semiconductores tipo p y n, parte de ellos son absorbidos en el material. Los fotones que poseen una energía mayor al salto energético entre la banda de conducción y la banda de valencia pueden ser absorbidos y forzar el salto de un electrón entre estas dos bandas. Como este salto deja un hueco en la banda de valencia, se dice que la absorción de un fotón genera un par electrón-hueco. Si esta generación tiene lugar a una distancia de la unión inferior a la denominada longitud de difusión, existe una alta probabilidad de que estos portadores de carga eléctrica (el electrón y el hueco), sean separados por el elevado campo eléctrico existente en la unión p-n, produciéndose la separación de ambas cargas; el electrón se desplaza hacia la zona n y el hueco hacia la zona p, creándose con ello una corriente de electrones desde la zona n a la zona p. Si se conectan ambas regiones mediante un circuito eléctrico exterior, se establece una corriente eléctrica a través de éste. En esto consiste, precisamente, el efecto fotovoltaico; es la conversión directa según el mecanismo que se acaba de explicar, de radiación electromagnética en corriente eléctrica, mediante un dispositivo llamado célula fotovoltaica.

El salto energético entre bandas limita la porción de radiación que puede ser absorbida en un semiconductor. Una célula de silicio puede aprovechar alrededor de un 65% de la radiación solar recibida. En este caso de células construidas a partir de otros semiconductores, con distinta anchura energética de la banda prohibida, la energía mínima de los fotones de luz incide para producir pares electrón-hueco es distinta, así como la fracción de la energía incidente que pueda aprovechar.

Inmediatamente después de su creación, el electrón y el hueco puede recombinarse y decaer a sus estados iniciales, no pudiendo ser aprovechados para generar corriente eléctrica. Existe una elevada probabilidad de que esto suceda si la longitud de difusión es muy corta, en cuyo caso en un corto recorrido se producirá la recombinación del electrón y el hueco, de forma que la energía luminosa que, en un principio fue absorbida para crear el par, se recupera en forma de calor, hecho no deseable en las células fotovoltaicas, pues es este uno de los mecanismos más importantes de pérdidas en las células solares. Por este motivo, los pares de portadores creados en las zonas más alejadas de la unión p-n tendrán pocas posibilidades de alcanzar la unión y contribuir a la generación de corriente eléctrica, a menos que la longitud de difusión sea lo suficientemente grande, para lo cual se precisa que el cristal del semiconductor (típicamente silicio), sea estructural y químicamente muy puro, esto es, monocristal y con bajísima concentración de impurezas, distintas de las impurezas donadoras y aceptoras.

El efecto fotovoltaico se produce de forma prácticamente instantánea, de forma que las células fotovoltaicas generan electricidad inmediatamente después de ser iluminadas. La separación del par electrón-hueco generado por un fotón y, por tanto, la producción de energía eléctrica, sólo puede tener lugar si la energía electrostática de las cargas, después de su separación, no excede la energía del par en el semiconductor, igual al salto energético de la banda prohibida (gap), Eg . Esto fija un valor máximo para la tensión de forma que:

$$Eg = qE \times V$$

Siendo V la tensión entre los terminales de la célula solar (V) y qE la carga eléctrica del electrón.

En otras palabras, la tensión máxima de una célula solar, expresada en voltios, V, es numéricamente igual al salto energético del ancho de la banda prohibida del semiconductor, expresada en eV, pues V = Eg/qE. En la práctica, la tensión en los terminales de una célula solar es bastante menor a la teóricamente obtenible mediante la expresión anterior, si bien ambas están directamente relacionadas, de modo que, a mayor ancho de banda de un semiconductor, mayor es la tensión real que se obtendrá entre sus terminales.

Muchos semiconductores son buenos absorbentes de luz y captan todos los fotones con energía por encima del salto de bandas en una capa de unas pocas micras. Son los llamados semiconductores de salto de banda directos o gap directo. El silicio cristalino, entre otros, sigue un proceso de absorción más complejo. En éste, un cuarto de las vibraciones de la red debe participar en la conversión de un fotón en un par electrón-hueco para conservar el momento. Esto disminuye notablemente la capacidad de absorción y son necesarios varios cientos de micras de grosor para alcanzar absorciones elevadas. Estos semiconductores son llamados de salto de banda indirecto o gap indirecto.

TECNOLOGÍAS DE FABRICACIÓN

El silicio es el material más conocido y utilizado para la fabricación de células con aplicaciones comerciales, siendo a la vez uno de los materiales más abundantes en la corteza terrestre, 20%, en forma de minerales de SiO_2 y silicatos. Sin embargo, para la producción de células solares se necesita material de elevada pureza, que hay que fabricar. El silicio es un elemento muy resistente a ataques químicos excepto a una mezcla de HF y HNO_3, y es soluble en KOH y NaOH. Cuando se expone al aire, se forma casi inmediatamente una capa de óxido, SiO_2, de 10 a 20 Å, que aumenta gradualmente a 50-60 Å.

En el silicio monocristalino, la estructura atómica del material es uniforme, ya que su estructura completa ha sido crecida de un único cristal. Esta uniformidad es ideal para la transferencia de electrones a través del material de un modo eficiente. Por otro lado, el silicio multicristalino está formado por un conglomerado de estructuras macrocristalinas, en cuyas uniones o fronteras de grano se impide el paso de los electrones en procesos recombinativos. No obstante, su proceso de fabricación es mucho más barato y los rendimientos de los dispositivos comerciales se acercan bastante a los del silicio monocristalino.

Conceptualmente se pueden diferenciar dos tecnologías: la del silicio cristalino y las tecnologías de lámina delgada.

La transformación de arena en silicio de elevada pureza se puede realizar a través de los siguientes pasos:

1. Reducción de SiO_2 a Si de baja pureza con C en hornos de arco eléctrico.
2. Transformación en un compuesto químico intermedio como el triclorosilano.
3. Purificación por destilación u otros medios.
4. Reducción del compuesto intermedio a Si con bajo contenido en impurezas.
5. Crecimiento cristalino, con purificación adicional.

Con estos pasos, se pueden conseguir niveles de impurezas en el intervalo de partes por millón. Es necesario prestar especial atención a la presencia de elementos que actúan como fuertes elementos de recombinación tales como Au, Cu y Fe.

SILICIO CRISTALINO Y MULTICRISTALINO

El elemento base de la fabricación de las células fotovoltaicas es el silicio, muy abundante en la corteza terrestre. El silicio policristalino de grado semiconduc-

tor, utilizado por la industria microelectrónica, y de grado solar, es de menor pureza (1 ppma) y más barato. Hasta el momento los fabricantes de células han satisfecho un 70% de sus necesidades con excedentes de silicio de grado semiconductor.

Mediante métodos de cristalización del polisilicio se obtienen las obleas utilizadas en la industria fotovoltaica. En estos procesos de cristalización se logran en unos casos monocristales, dando lugar al silicio cristalino, mientras que en otros el resultado es un conglomerado de cristales, llamado silicio multicristalino. Existen varios métodos para la obtención de lingotes de silicio cristalino, basados en una semilla de inicio de la cristalización, tales como el método de zona flotantes (FZ), el método de Czochralski (CZ) o métodos de colada. Estos lingotes se cortan para producir obleas mediante sierras multi-hoja.

En el proceso de Czochralski se parte de polisilicio fundido en un crisol, se pone una semilla en contacto con su superficie y se eleva y se hace rotar lentamente sobre sí misma, obteniéndose unos lingotes cilíndricos monocristalinos.

En el proceso de Zona Flotante (FZ) se produce un cristal más puro que en el anterior, debido a la no contaminación del crisol. Este método consiste en fundir localmente una barra de polisilicio mediante una bobina de radiofrecuencia, partiendo de un extremo donde se coloca la semilla de crecimiento del monocristal.

Los lingotes de material monocristalino o multicristalino obtenido han de cortarse en obleas de silicio, de espesor igual al espesor de una célula, 300 μm, en un proceso de corte en que se llega a despreciar hasta el 20% del material. Actualmente, también se están utilizando nuevos procesos alternativos de crecimiento de silicio cristalino en láminas (células crecidas por el borde), en las que se minimiza el Si desperdiciado en el corte de la oblea tradicional.

FABRICACIÓN DE UNA CÉLULA CONVENCIONAL

Los pasos en la fabricación de una célula fotovoltaica convencional a partir de una oblea de silicio son:

Limpieza de las obleas. Cuya finalidad es la limpieza previa que elimine los restos de metales procedentes de las sierras de corte y restos orgánicos y metálicos procedentes de los procesos de fabricación de las obleas. Para estas limpiezas se utilizan ácidos con gran capacidad de disolver metales como el HCl, HNO_3 o combinaciones del tipo $HCl + H_2O_2$ y $NH_4OH + H_2O_2$.

Decapado. Que se realiza por inmersión de las obleas en una disolución acuosa de NaOH al 30% y caliente. El objetivo es la eliminación de las tensiones, irregularidades y defectos de la superficie debidos a los procesos de corte de las obleas, eliminando unas micras de material. Con ello, se mejoran los tiempos de vida de los portadores en la región de emisor próximo a la superficie

y se favorecen tratamientos posteriores como la texturización y las metalizaciones que requieren superficies lisas.

Texturización. Consiste en crear en la superficie unas micropirámides para conseguir reducir las pérdidas por reflexión del 30 al 10%, obligando a que se produzca una segunda absorción de la luz reflejada. La formación de las micropirámides se consigue atacando la superficie de las obleas cristalizadas en una orientación, con una disolución acuosa de NaOH y de KOH al 2%, dejando al descubierto los planos cristalográficos. Este proceso no es aplicable a las obleas de silicio multicristalino, ya que no poseen una orientación definida. En estos casos, las pérdidas por reflexión se reducen mediante capas antireflexivas. Los efectos de la texturización son dobles, por un lado se reducen las pérdidas por reflexión por incidencia múltiple y además aumenta el camino óptico de la luz en el interior del material, incentivando la fotogeneración cerca de la unión p-n y aumentando el rendimiento cuántico.

Limpieza previa a la formación de la unión p-n. Consiste en la eliminación del óxido superficial resultante de los anteriores procesos mediante la inmersión en HF diluido, posterior aclarado con agua desionizada y un secado rápido final.

Predeposición de dopante. Las obleas de partida suelen ser de tipo p (dopadas con Bromo). La unión p-n se hace por difusión de dopante tipo n (normalmente fósforo) en la cara frontal de la oblea. Previamente a la difusión el dopante tipo n ha de ser depositado en la superficie de la oblea. Se utilizan varios métodos como: serigrafía, centrifugación, por fuente sólida, por fuente líquida o por fuente gaseosa.

Formación de la unión p-n por difusión. Que consiste en la introducción del dopante tipo n, predepositado, substituyendo átomos de silicio en el interior de la red. Para ello se introducen en hornos (de cinta o de cuarzo) a altas temperaturas (900 a 1.000º C). Los productos químicos empleados como fuente primaria de fósforo son: el Oxicloruro de Fósforo, Pentóxido de Fósforo y Fosfina.

Limpieza de restos de la difusión. Cuyo proceso depende de la tecnología usada en la formación de la unión y, suelen constar de una batería de baños químicos con diversos ácidos (HF, HCl).

Formación del contacto metálico posterior. Deposición de metal realizada mediante serigrafía.

Formación del contacto metálico frontal. Similar al anterior, pero en este caso la disposición de los dedos de contacto es determinante en el rendimiento final, estableciendo un compromiso entre el haz de la luz y la superficie necesaria para disminuir la resistencia serie.

Aislamiento de las zonas n y p. Que consiste en preparar los bordes de las células resultantes de los procesos anteriores mediante ataques químicos o cortes con sierra o láser, para que el emisor y la base no estén conectados eléctricamente, debido a que el dopante de la cara frontal también se difunde por los bordes.

Deposición de la capa antireflexiva. Consiste en el deposición de una capa fina de un material transparente con índice de refacción óptimo n = 2,3, para adaptar los índices de refracción del silicio (n = 3,6 como valor promedio) y el vidrio (n = 1,5). Además, el índice de refracción de los materiales encapsulantes entre la capa antireflexiva y el vidrio ha de ser n = 1,5. El espesor de la capa se elige igual a $\lambda/4$, para producir un cero de reflexión a la longitud de onda, por sumarse en la superficie de la capa la onda incidente y la reflejada en oposición de fase. Ésta se elige en función de la respuesta espectral de la célula y del espectro solar, maximizando la absorción de fotones, que suele tomar un valor de λ = 0,4 μm, con el objeto de minimizar la reflexión a una longitud de onda de 0,6 μm, que coincide con el máximo del espectro solar. A otras longitudes de onda la reflexión se incrementa, no siendo superior al 20%-30%, para cualquier longitud de onda. Se utilizan materiales como el SiO, SiO_2, Si_3N_4, Al_2O_3, TiO_2 o Ta_2O_5, SiN/Si, F_2Mg/SZn/Si. El silicio pulido tiene coeficientes de reflexión entre el 33% y el 54% en el intervalo espectral de interés (0,35 μm-1,1 μm). Una capa antireflexiva disminuye esta reflexión en promedio al 10%, dos pueden reducirla al 3%. La combinación de capas antireflexivas con procesos de texturado (formación de micropirámides) reducen las pérdidas de reflexión al 3% y al 0,7%, con una y dos capas, respectivamente.

Campo superficial posterior. Consiste en la formación de una unión p-p^+ en la parte posterior para formar un campo eléctrico, lo que disminuye la recombinación de portadores minoritarios en la superficie posterior.

Pasivación con hidrógeno. Utilizado en células multicristalinas, consiste en la neutralización con hidrógeno de la gran cantidad de defectos y dislocaciones (niveles adicionales en el gap), aumentando el tiempo de vida de los portadores minoritarios.

Con el objetivo de aumentar el rendimiento de las células a lo largo de la historia se han ido mejorando o proponiendo nuevos dispositivos de diseño avanzado como las células de emisor profundo, células de contactos enterrados, células de emisor y contacto posterior pasivados o células de contactos posteriores puntuales. Mientras que el rendimiento de las células de laboratorio están en el intervalo del 18% al 23%, el rendimiento del módulo comercial se sitúa entre el 12-16%.

Las células tienen un espesor entre 100-500 μm. Aunque 100 μm son suficientes para unas células con buena absorción de la luz y pasivación de la superficie posterior, se utilizan espesores mayores debido en parte a motivos de facilidad de manipulación en el proceso de fabricación, disminuyendo el índice de roturas. De hecho se pueden fabricar células con rendimientos del 12% con espesores de célula de 50 μm.

El material de partida suele ser silicio tipo p (base), con un dopaje tal que posea una resistividad desorden de 1 Ω/cm. El silicio tipo n posee menor recombinación en superficie, por lo que se sitúa en la parte frontal y tiene una

resistividad del orden de 100 Ω/cm. Se dopa lo suficiente para mejorar la conductividad del silicio, pero sin reducir la calidad del material, evitando que los portadores se recombinen antes de llegar a la unión. El espesor del emisor es de 0,1 μm-0,5 μm, con el objeto de que la mayor parte de los portadores generados por los fotones incidentes lo hagan a distancias inferiores a la longitud de difusión. De este modo aumenta la probabilidad de colección (cuando un portador generado llega a la unión p-n, su probabilidad de poder ser extraído de la célula es la unidad). La malla de metalización, cuyos dedos tiene una anchura entre 20 a 200 μm, separados 1-5 mm, tiene como objetivo la conducción de la corriente. Su diseño ha de estar optimizado, manteniendo un compromiso entre el área sombreada y la resistencia del metal. Suelen estar compuesta por Ti (400 Å)/Pd (200 Å)/Ag (5 μm). Se suele añadir una capa de soldadura de Pb-Sn para proporcionar la suficiente sección con el fin de disminuir la resistencia serie. El contacto posterior no necesita ser transparente, pero tiene mucha importancia en el rendimiento de la célula, especialmente a medida que las células se hacen más delgadas. Es habitualmente de aluminio depositado por evaporación al vacío. Se utiliza un proceso de difusión de Al, obteniendo una capa de p^+ que disminuye la resistividad del contacto posterior, y si esta capa p^+ es suficientemente gruesa (0,2 μm necesita 4 horas a 700-800º C), produce un campo posterior que reduce la recombinación superficial.

BALANCE ENERGÉTICO

Un estudio detallado del método utilizado junto con el cálculo de la producción energética y las emisiones que se dejan de emitir a la atmósfera respecto a la producción de energía mediante carbón, ofrece los resultados que se observan en la Tabla II.

VIABILIDAD

El modelo de desarrollo económico actual, basado en el uso intensivo de recursos energéticos de origen fósil, provoca impactos medioambientales negativos y desequilibrios socioeconómicos, que obligan a definir un nuevo modelo de desarrollo sostenible. Entre las políticas que pueden articularse para asegurar la sostenibilidad del modelo energético, la política de fomento de las energías renovables se cuenta entre las principales. De este modo, el libro blanco de las Energías Renovables de la Unión Europea sitúa como objetivo general una aportación de las fuentes de energía renovable en un porcentaje del 12% de la energía primaria demandada en la Unión Europea para el año 2010; que en el caso de energía solar fotovoltaica se sitúa en unos 3000 MW, es decir, unas 100 veces más que la existente en 1995. En el año 2003, la energía instalada únicamente llegaba a los 573 MW, en donde Alemania se situaba número uno con

Tabla II. *Balance energético de una instalación fotovoltaica*

Mes	*Energía generada o vertida a red mensualmente (MWh)* *Sistema de guiado en dos ejes (Gm = 35%)*
Enero	6,704
Febrero	9,468
Marzo	15,408
Abril	19,033
Mayo	21,742
Junio	24,912
Julio	28,298
Agosto	24,223
Septiembre	19,212
Octubre	12,408
Noviembre	8,108
Diciembre	6,197
Total	**195,858**
Horas utiles año	**1.860**
Potencia Pico instalada (kWp)	**105,300**

el 70% de la producción europea. España se situaba en torno a 37 MW, con un objetivo para el año 2010 en torno a 400 MW.

Del estudio de mercado realizado por el IDAE (Instituto Desarrollo Actividades Energéticas), el sector de la energía fotovoltaica presenta una serie de barreras que podrían impedir el desarrollo correcto del sector. En su Plan de Energía Renovables, 2005-2010, presenta una serie de medidas para reducirlas y poder así aminorarlas. Entre las principales destacar:

- Rentabilidad insuficiente - Mantenimiento de las primas establecidas en el Real Decreto 436/2004.
- Limitación de las primas actuales hasta alcanzar los 135 MW - Cambiar este límite a 400.
- Dificultades de conexión de usuarios a alta tensión - Posibilitar conexión a la red a usuarios de alta tensión.
- Falta de incentivos para instalaciones innovadoras - Apoyo a la innovación.
- Trámites administrativos no proporcionados y homogéneos - Coordinación entre CCAA.

Efectivamente, el sector de la energía renovable presenta el problema de estar aletargado, en fase de nacimiento, donde los costes de inversión son tan altos que impiden hacer rentable las instalaciones y muy por debajo de los objetivos marcados por el plan de fomento 1999-2010. Por este motivo, el Gobierno lanzó el Real Decreto 234/2004, por el que se establecía una serie de primas sobre la producción energética para productores de energía en régimen especial (energías renovables), por las que se intenta relanzar el sector, entrar en la fase de crecimiento y conseguir reducir los costes de fabricación. Con estas primas, la viabilidad del proyecto se convierte en un hecho real, y como tal, puede observarse en el altísimo número de solicitudes existentes para instalaciones solares.

Además, los análisis de rentabilidad resaltan una TIR y un período de retorno de la inversión en torno al 7,2% y trece años, respectivamente, sobre una inversión total en torno a los 6 €/Wp. Teniendo en cuenta el tipo de riesgo nulo de este tipo de instalaciones, el proyecto es altamente interesante. Por su lado, las entidades financieras, junto a la posibilidad de rentabilizar el proyecto mediante deuda, pueden fidelizar clientes propios vinculándoles al proyecto, clientes que intentan montar pequeñas instalaciones pero que debido a los problemas expuestos, les son rechazadas.

CONCLUSIONES

- Estamos ante un sector en fase de nacimiento y con unas expectativas de crecimiento altísimas (los especialistas asumen que para el año 2050 en torno al 60% de la energía consumida procederá de la energía solar).
- El posicionamiento español es conseguir ser el número uno a nivel mundial, al igual que lo es en energía eólica, y desbancar a los actuales países que se encuentran por delante: Japón, Alemania y Países Bajos.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

(1) Células fotovoltaicas. http://energienucleara.go.ro/cap_07.htm.
(2) Energía solar fotovoltaica. http://www.cecu.es/temas%20interes/medio%20ambiente/res&rue/htm/dossier/2%20fotovoltaica.htm.
(3) Celdas Solares. www.textoscientificos.com/energia/celulas.
(4) Photovoltaic cell. ww.sierrasolar.com/ss3/photovoltaic_cell.
(5) Solar Energy. www.history.rochester.edu/class/solar/cells.htm.
(6) ÁLVARO, M.; CARBONELL, E.; ATIENZAR, P., GARCÍA, H. (2006): A Novel Concept for Photovoltaic Cells: Clusters of Titanium Dioxide Encapsulated within Zeolites as Photoactive Semiconductors. *Chemphyschem.* **7,** 1996-2002.

(7) FTHENAKIS, V. M. (2005): Life Cycle Analysis: Some Science and Energy Policy Issues. Department of Earth & Environmental Engineering, Fall 2005 Seminar Series, September 30.
(8) FTHENAKIS, V. M. (2005): Photovoltaics and the Environment, 407th Brookhaven National Laboratory Lecture, Sept. 21.
(9) FTHENAKIS, V. M. and H. C. KIM, Life Cycle Energy Use and Greenhouse Gas Emissions Embedded in Electricity Generated by Thin Film CdTe Photovoltaics, MRS Conference, Nov. 2005, Boston, MS.
(11) FTHENAKIS, V. M. and WANG, W. (2005): Advances on Recycling of CdTe and CIGS Photovoltaic Modules, 20th EURPVSEC, Barcelona, Spain, June 6-10.
(12) FTHENAKIS, V. (2005): Promising Advances in Photovoltaics, Critical Issues Editorial, *Chemical Engineering Progress,* **101** (4), 5.
(13) WANG, W. and FTHENAKIS, V. M.: Feasibility of Recycling of Cadmium-Telluride Photovoltaics, The Minerals, Metals & Materials Society (TMS) Extraction & Processing Division (EPD) Congress 2005, pp. 1053-1064.
(14) FTHENAKIS, V. M.; ALSEMA, E., and M. J. DE WILD-SCHOLTEN: Life Cycle Assessment of Photovoltaics: Perceptions, Needs, and Challenges, 31st IEEE Photovoltaic Specialists Conference, Jan. 3-7, 2005, Orlando, FL.
(15) TOM MARKVART, LUIS CASTANER (2004): Solar Cells: Materials, Manufacture and Operation. Elsevier.
(16) M. BURESCH (1983): Photovoltaic energy systems: Design and installation. McGraw-Hill Book Co, 347.
(17) J. NELSON (2002): The Physics of Solar Cells. Imperial College Press. London.
(18) YOSHIHIRO HAMAKAWA (2004): Thin-Film Solar Cells: Next Generation Photovoltaics and Its Applications. Springer Series in Photonics. Vol. 13.
(19) ANTONIO LUQUE (2003): Handbook of Photovoltaic Science and Engineering. Willey-VCH.
(20) Photovoltaics in the built environment: a design guide for architects and engineers. Washington, DC. US Dept. of Energy, 1997.

IX. Compuestos orgánicos volátiles en el medio ambiente

JOSÉ MARÍA SÁNCHEZ MONTERO y ANDRÉS R. ALCÁNTARA LEÓN



El Doctor José M.ª Sánchez Montero es Profesor Titular del Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica de la Universidad Complutense. Miembro del Grupo de Biotransformaciones de la UCM-UA de Madrid. Académico Correspondiente de la Real Academia Nacional de Farmacia. Coordinador de la Sección de Biocatalisis Aplicada de la SEBIOT.



El Doctor Andrés R. Alcántara León es Profesor Titular del Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica de la Universidad Complutense y Miembro del Grupo de Biotransformación (BTG) de la UCM-UA de Madrid. Vocal y Secretario Electo de la SEBIOT (Sociedad Española de Biotecnología).

Los compuestos orgánicos volátiles (COVs), a veces llamados VOC (por sus siglas en inglés), son compuestos orgánicos constituidos fundamentalmente por carbono, que se convierten fácilmente en vapor o gas y que tienen a 20º C una presión de vapor igual o mayor a 0,01 kPas, o una volatilidad equivalente en las condiciones particulares de uso. En general son compuestos con puntos de ebullición que oscilan entre 50 y 260º C (WHO, 1989; Guenther *et al.,* 1995; Rudd, 1995). Los heteroátomos más habituales que forman parte de los COVs suelen ser oxígeno, flúor, cloro, bromo, azufre o nitrógeno. El término COV agrupa a una gran cantidad de tipos de compuestos químicos, entre los que se incluyen los hidrocarburos alifáticos y aromáticos (clorados o no), y otros compuestos como aldehídos, cetonas, éteres, ácidos y alcoholes.

Los COVs son liberados por la quema de combustibles, como gasolina, madera, carbón o gas natural. También son liberados por disolventes, pinturas, pegamentos y otros productos empleados y almacenados en los hogares y centros de trabajo.

Muchos compuestos orgánicos volátiles se usan comúnmente en disolventes de pintura y de laca, repelentes de polillas, aromatizantes del aire, materiales empleados en pasatiempos, conservantes de madera, sustancias en aerosol, disolventes de grasa, productos de uso en la industria automovilística y líquidos para la industria de lavado en seco (U.S. EPA, 1998).

CLASIFICACIÓN DE COVS

De todo lo anteriormente expuesto se puede concluir de una manera general que existen dos grupos principales de compuestos orgánicos:

1. Los tradicionales Major Air Pollutants (MAP) o principales agentes contaminantes que comprenden dióxido de azufre, dióxido de nitrógeno, monóxido de carbono, partículas y los contaminates secundarios de ozono.
2. Hazardous Air pollutants o Agentes contaminantes peligrosos (HAP) entre los que están comprendidos agentes químicos, físicos y biológicos de diferentes tipos. Los HAP están generalmente presentes en la atmósfera en mucha menor concentración que los MAP, aunque son más difíciles de controlar debido a que en muchas ocasiones no son identificados (Wiederkehr y Yoon, 1998). Entre los HAP los más importantes son los COVs y los PAH:

   2a) Compuestos orgánicos volátiles (COVs) emitidos principalmente a través de la combustión parcial de carburantes y a través de la evaporación de disolventes orgánicos. De ellos destacan el benceno y el 1,3-butadieno por ser potencialmente cancerígenos. Ambos son emitidos principalmente a través de la combustión de petróleo y sus derivados.

   2b) Hidrocarburos poliaromáticos (PAH): son compuestos emitidos en cantidades pequeñas a la atmósfera, pero son potencialmente cancerígenos (Enya *et al.,* 1997; Larsen and Larsen, 1998).

TABLA 1. *Relación de sustancias volátiles precursoras de ozono, según Directiva 2002/3/CE del Parlamento Europeo y del Consejo relativa al ozono*

Etano	cis-2-Buteno	n-Heptano	1,2,3-Trimetilbenceno
Etileno	1,3-Butadieno	n-Octano	1,3,5-Trimetilbenceno
Acetileno	n-Pentano	i-Octano	Hidrocarburos totales no metánicos[1]
Propano	i-Pentano	Benceno	Formaldehido
Propeno	1-Penteno	Tolueno	
n-Butano	2-Penteno	Etilbenceno	
i-Butano	Isopreno	m+p-Xileno	
1-Buteno	n-Hexano	o-Xileno	
trans-2-Buteno	i-Hexeno	1,2,4-Trimetilbenceno	

[1] HTNM corresponde a la suma de todos los identificados y no identificados por cromatografía de gases en el intervalo C2 a C12.

La liberación de COVs al aire puede compararse sobre la base de su capacidad para formar ozono en relación a etileno también denominado factor de producción de ozono troposférico (POCP, Photochemical Ozone Creation Potential). Es importante señalar el control de la incidencia en el Medio Ambiente por el concepto POCP [$NO + O_3 = NO_2 + O_2$]. Dicho control se fundamenta en el acuerdo denominado Protocolo de MONTREAL y posteriormente firmado por todos los Estados miembros de United Nations Economic Commission for Europe (UNECE) el 21 de noviembre de 1991. La conversión a equivalentes de etileno está basada en la European Chemical Industry Council (CEFIC, 1998). Para 2003, POCP relacionado con emisiones de disolventes fue de 2,21 millones de kilogramos equivalentes a etileno. En las moléculas orgánicas más complejas se mide su importancia como contaminante por su capacidad de producir ozono.

El factor de producción de ozono fotoquímico (POCP) asociado a cada tipo de compuestos se indica en la Tabla 2.

TABLA 2. *Factor de producción de ozono fotoquímico*

Compuesto	*POCP*
Alquenos	84
Aromáticos	76
Aldehídos	44
Alcanos	42
Cetonas	41
Esteres	22
Alcoholes	20

La mayoría de los compuestos orgánicos volátiles son peligrosos contaminantes del aire. Cuando se mezclan con óxidos de nitrógeno, reaccionan para formar ozono, en el nivel del suelo o «smog» (de smoke: humo y fog: niebla). Este término se usa para designar la contaminación atmosférica que se produce en algunas ciudades como resultado de la combinación de unas determinadas circunstancias climatológicas y unos concretos contaminantes. A veces, no muy frecuentemente, se traduce por neblumo (niebla y humo). Hay dos tipos muy diferentes de smog:

SMOG INDUSTRIAL

El llamado smog industrial o gris fue muy típico en algunas ciudades grandes, como Londres o Chicago, con mucha industria, en las que, hasta hace unos años, se quemaban grandes cantidades de carbón y petróleo pesado con mucho azufre, en instalaciones industriales y de calefacción (Wichmann, 2004). En estas ciudades se formaba una mezcla de dióxido de azufre, gotitas de ácido sulfúrico formado a partir del anterior y una gran variedad de partículas sólidas en suspensión, que originaba una espesa niebla cargada de contaminantes, con efectos muy nocivos para la salud de las personas y para la conservación de edificios y materiales (Fenger, 1999).

En la actualidad en los países desarrollados los combustibles que originan este tipo de contaminación se queman en instalaciones con sistemas de depuración o dispersión mejores y raramente se encuentra este tipo de polución, pero en países en vías de industrialización como China o algunos países de Europa del Este todavía es un grave problema en algunas ciudades.

SMOG FOTOQUÍMICO

En muchas ciudades el principal problema de contaminación es el llamado smog fotoquímico. Con este nombre nos referimos a una mezcla de contaminantes de origen primario (NO_x e hidrocarburos volátiles) con otros secundarios (ozono, peroxiacilo, radicales hidroxilo, etc.) que se forman por reacciones producidas por la luz solar al incidir sobre los primeros.

Esta mezcla oscurece la atmósfera dejando un aire teñido de color marrón rojizo cargado de componentes perjudiciales para los seres vivos (Whittaker *et al.,* 2004). Aunque prácticamente en todas las ciudades del mundo hay problemas con este tipo de contaminación, es especialmente importante en las que están en lugares con clima seco, cálido y soleado, y tienen muchos vehículos. El verano es la peor estación para este tipo de polución y, además, algunos fenómenos climatológicos, como las inversiones térmicas, pueden agravar este problema en determinadas épocas ya que dificultan la renovación del aire y la eliminación de los contaminantes.

En la situación habitual de la atmósfera la temperatura desciende con la altitud lo que favorece que suba el aire más caliente (menos denso) y arrastre a los contaminantes hacia arriba.

En una situación de inversión térmica una capa de aire más cálido se sitúa sobre el aire superficial más frío e impide la ascensión de este último (más denso), por lo que la contaminación queda encerrada y va aumentando.

Las reacciones fotoquímicas que originan este fenómeno suceden cuando la mezcla de óxidos de nitrógeno e hidrocarburos volátiles emitida por los automóviles y el oxígeno atmosférico reaccionan, inducidos por la luz solar, en un complejo sistema de reacciones que acaba formando ozono. El ozono es una molécula muy reactiva que sigue reaccionando con otros contaminantes presentes en el aire y acaba formando un conjunto de varias decenas de sustancias distintas como nitratos de peroxiacilo (PAN), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radicales hidroxilo (OH), formaldehído, etc. Estas sustancias, en conjunto, pueden producir importantes daños en las plantas, irritación ocular, problemas respiratorios, etc.

ANTECEDENTES E IMPORTANCIA DEL ESTUDIO

La importancia de los compuestos orgánicos volátiles (COVs) generados por la actividad humana en la química atmosférica se estableció en los años cincuenta en los estudios realizados sobre el smog de Los Ángeles (Haagen-Smit *et al.,* 1953). En dichos estudios se identificó el papel clave de la oxidación de estos compuestos, en presencia de luz solar y óxidos de nitrógeno, como una fuente de ozono y otros oxidantes. El conocimiento de la formación fotoquímica del smog se ha desarrollado desde entonces con ayuda de cámaras, cinéticas químicas de laboratorio, experimentación en campo, monitorización de la calidad del aire y estudios de modelado computacional.

A raíz de estos estudios, el smog fotoquímico ha sido detectado en casi todas las grandes ciudades a niveles que sobrepasan los valores establecidos de protección de la salud humana. Sin embargo, a pesar de la importancia que han cobrado últimamente los COVs, son escasas las investigaciones llevadas a cabo para su identificación, determinación y cuantificación, especialmente en ambientes rurales.

Los procesos biogénicos naturales también suponen un aporte de COVs a la atmósfera e incluyen las emisiones de plantas, árboles, animales, incendios forestales, procesos anaerobios en turberas y pantanos, etc. Por otra parte, algunos COVs también están presentes en la atmósfera como resultado de la degradación fotoquímica de otros COVs.

El estudio de los COVs resulta de especial relevancia debido a que dichos contaminantes juegan un papel importante en muchos de los problemas medioambientales actuales:

a) *Agotamiento del ozono estratosférico*. Muchos COVs presentan gran estabilidad química y son capaces de alcanzar la estratosfera. Si contienen cloro o bromo en su estructura, los procesos de fotolisis estratosférica y la destrucción a cargo del radical hidroxilo pueden conducir a la liberación de compuestos desencadenantes de la destrucción de ozono (Derwent, 1995).

b) *Efectos tóxicos o carcinogénicos en la salud humana*. Muchos COVs causan efectos directos sobre la salud humana mediante su olor, o por su efecto narcótico. Especial interés tienen aquellos que presentan efectos carcinogénicos como el benceno y el 1,3-butadieno (WHO, 2000), que son agentes inductores de leucemia, o los hidrocarburos policíclicos aromáticos, que están clasificados como carcinogénicos y mutagénicos (Ho y Lee, 2002).

c) *Formación fotoquímica de ozono troposférico*. En presencia de óxidos de nitrógeno y luz solar, los COVs reaccionan formando ozono (Atkinson, 2000), que no sólo resulta alarmante para la salud humana, sino también para cultivos y vegetación, receptores sobre los que ejerce un efecto fitotóxico (Sandermann *et al.,* 1997; Krupa y Manning, 1988). Por tanto, los COVs no sólo presentan problemas de acción directa, sino también como contaminantes secundarios, siendo precursores de sustancias oxidantes.

d) *Potenciación del efecto invernadero global*. Si los COVs que se acumulan en la troposfera tienen la capacidad de absorber radiación infrarroja terrestre o solar pueden potenciar el efecto invernadero. Algunos compuestos carecen de dicha capacidad, pero pueden modificar las distribuciones globales de otros gases que sí la poseen. En consecuencia, pueden contribuir mediante la formación de ozono troposférico (gas de efecto invernadero que posee un potencial 2.000 veces superior al CO_2) o aumentando o disminuyendo la distribución de radical hidroxilo troposférico y, por tanto, perturbando la distribución de metano (Derwent, 1995).

e) *Acumulación y persistencia en el ambiente*. Algunos COVs, especialmente los de alto peso molecular, superan los procesos de oxidación y se vuelven persistentes, siendo adsorbidos sobre partículas y transportados a largas distancias (Guo *et al.,* 2004).

Debido a los motivos enunciados anteriormente, la mayor parte de los estudios sobre COVs se han desarrollado en ciudades (Ho y Lee, 2002; Fernández-Martínez *et al.,* 2001; Pankow *et al.,* 2003; Mohamed *et al.,* 2002; Brocco *et al.,* 1997), donde sus mayores concentraciones están relacionadas con el tráfico y determinadas actividades industriales; no obstante, también se han realizado estudios en espacios interiores (Baek *et al.,* 1997; Chao y Chan, 2001; Lee *et al.,* 2002; Park y Jo, 2004), como restaurantes, colegios, etc., donde la pobla-

ción ocupa la mayor parte de su tiempo y la exposición total a determinados COVs es superior a la esperada. Sin embargo, los estudios en zonas rurales son muy escasos (Cerqueira *et al.,* 2003; Guo *et al.,* 2004). Asimismo, a pesar de conocerse su actividad como precursores de ozono, pocos son los estudios que relacionan ambos parámetros.

FORMACIÓN FOTOQUÍMICA DE OZONO TROPOSFÉRICO

La emisión de una gran variedad de gases contaminantes (óxidos de nitrógeno y COVs) en la troposfera (10-15 Km de distancia) pueden presentar un alto riesgo como resultado de la oxidación de estos. Esto puede llevarnos a una gran variedad de productos oxidados que son potencialmente más dañinos que sus precursores. Debido a que la mayor parte de los procesos químicos que dirigen este tipo de reacciones están gobernados por la luz solar, los productos oxidados son denominados comúnmente como contaminantes fotoquímicos secundarios e incluyen contaminantes fotoquímicos como el ozono (O_3). De lo dicho anteriormente podemos concluir su importancia, así como la identificación y cuantificación de los procesos que implican la generación de ozono y otros contaminantes fotoquímicos secundarios. (Atkinson *et al.,* 1997 a,b; DeMore *et al.,* 1997).

Los óxidos de nitrógeno, fundamentalmente el óxido nítrico (NO) y el dióxido de nitrógeno (NO_2), generalmente agrupados bajo la fórmula común NO_X, son librados a la troposfera (la capa más baja de la atmósfera) a partir de diversas fuentes biogénicas o antropogénicas (Logan, 1983; IPCC, 1995; Lee *et al.,* 1997). Se calcula que aproximadamente un 40% de las emisiones globales provienen de la quema de combustibles fósiles, lo que incide directamente en la inmediata vecindad de la atmósfera planetaria, fundamentalmente en forma de NO, con alrededor del 10% de NO_2. Este último puede también formarse en pequeña proporción a partir del NO por reacción con oxígeno, mediante la ecuación [1].

No obstante, en las condiciones troposféricas más habituales, la proporción de NO_2 producido a través de la ecuación [1] es mínimo, pues la mayoría del dióxido de nitrógeno se produce a través de la rápida reacción (en aproximadamente un minuto) con O_3 (ozono) indicada en la ecuación [2]:

$$2NO + O_2 \rightarrow 2\ NO_2 \qquad [1]$$

$$NO + O_3 \rightarrow NO_2 + O_2 \qquad [2]$$

Por otra parte, durante las horas de luz solar, el dióxido de nitrógeno es convertido de nuevo en óxido nítrico según muestran las ecuaciones [3] y [4]:

$$NO_2 + h\nu\ (\lambda < 420\ \text{nm}) \rightarrow NO + O(^3P) \qquad [3]$$

$$O(^3P) + O_2\ (+M) \rightarrow O_3\ (+M) \qquad [4]$$

donde M representa un tercer componente, generalmente N_2. Por tanto, las ecuaciones [2]-[4] forman un ciclo con una nula producción neta, tal y como aparece representado en la **Figura 1**.

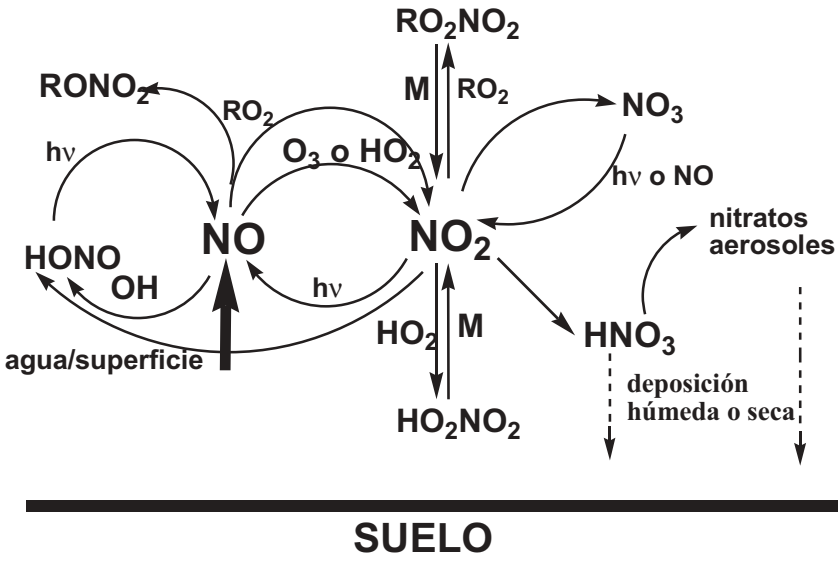


Figura 1. *Interconversiones entre los diferentes compuestos oxidados de nitrógeno mediadas por la luz solar en la troposfera.*

En efecto, en ausencia de ninguna otra reacción secundaria, estaríamos ante un estado estacionario, de manera que las concentraciones de NO y NO_2 estarían relacionadas con la concentración de O_3. Así pues, debido a su rápida interconversión, el comportamiento del óxido nítrico y del dióxido de nitrógeno está íntimamente interconectado, por lo que se les agrupa bajo la denominación global de NO_X.

No obstante, existen otros procesos químicos mediados por la luz solar que interconvierten las dos especies a través de radicales libres. Especialmente importantes son los que proceden a través de radicales peróxido, ya sean del tipo hidroperóxido (H-O-O·) o de tipo orgánico (R-O-O·), los cuales se originan en la troposfera como intermedios en la oxidación fotoquímica tanto de monóxido de carbono (CO) como de otros COVs, como veremos más adelante. Las rutas adicionales para la interconversión entre las especies NO_X se reflejan en las ecuaciones [5] y [6]:

$$(HO_2\cdot) + NO \rightarrow (HO\cdot) + NO_2 \quad [5]$$

$$(RO_2\cdot) + NO \rightarrow (RO\cdot) + NO_2 \quad [6]$$

Sin embargo, como estas dos rutas de conversión de NO hasta NO_2 no consumen ozono, la introducción del exceso de NO_2 generado vía [5] y [6] en el proceso fotolítico representado en [3] y [4] implica una fuente neta de producción de ozono a nivel troposférico, con las funestas consecuencias que se comentarán más adelante.

Existen otras transformaciones químicas de NO_X que llevan a la generación de un amplia variedad de compuestos oxidados de nitrógeno, tanto de tipo orgánico como inorgánico, normalmente denominados NO_Y, que incluye NO, NO_2, óxidos superiores (trióxido de nitrógeno, NO_3, o pentóxido de nitrógeno, N_2O_5), oxiácidos (ácido nítrico, HNO_3; ácido peroxinítrico, HO_2NO_2; y ácido nitroso, HONO), peroxinitratos orgánicos (RO_2NO_2), o nitratos orgánicos ($RONO_2$). De esta forma, a las especies NO_Y excluyendo a NO_X se les suele llamar NO_Z (Volz-Thomas y cols., 1995; Colvile y cols., 1996). La mayoría de estas especies se generan durante el día, a través de diferentes procesos representados en la Figura 1.

PAPEL DE LOS COVs EN LA FORMACIÓN FOTOQUÍMICA DE OZONO

Está perfectamente establecido desde hace mucho tiempo (Haagen-Smit y Fox, 1954, 1956; Leighton, 1961) que la formación de ozono en la troposfera está promovida por los COVs. Tal y como hemos indicado anterioremente, se pueden originar especies radicalarias del tipo peróxido, los cuales catalizan la oxidación total de los COVs hasta dióxido de carbono y agua, originándose igualmente especies oxidadas intermedias de naturaleza carbonílica (aldehídos, cetonas o monóxido de carbono), y la consecuente generación colateral de ozono. En efecto, una ingente variedad de COVs emitidos de diversas fuentes biogénicas y antropogénicas pueden entrar a formar parte de este ciclo de oxidación esquematizado en la **Figura *2*** para un alcano genérico (RH) hasta su primer estadio de oxidación (R_HO).

De manera común a los procesos de oxidación troposférica de la mayoría de los compuestos orgánicos, la oxidación se inicia a través de radicales hidroxilo (HO·) (ecuación [7]), desencadenado una rápida secuencia de reacciones tal y como se indica a continuación:

$$(HO\cdot) + RH \rightarrow (R\cdot) + H_2O \qquad [7]$$

$$(R\cdot) + O_2\ (+RO_2\cdot)\ (+M) \qquad [8]$$

$$(RO_2\cdot) + NO \rightarrow (RO\cdot) + NO_2 \qquad [6]$$

$$(RO\cdot) \rightarrow \rightarrow (\textit{compuestos carbonílicos}) + (HO_2\cdot) \qquad [9]$$

$$(HO_2\cdot) + NO \rightarrow (HO\cdot) + NO_2 \qquad [5]$$

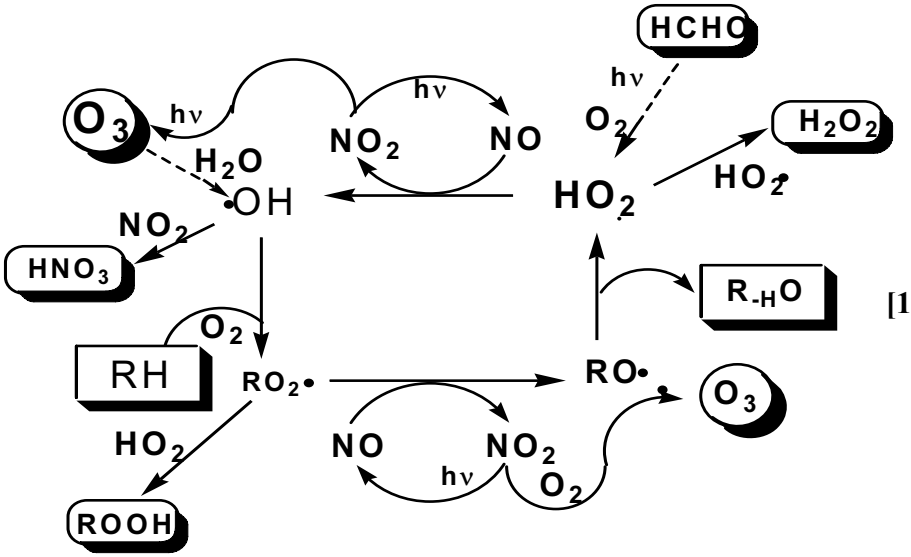


Figura 2. *Representación esquemática de la oxidación catalizada por radicales de un hidrocarburo saturado (RH) hasta su primer producto de oxidación (RHO).*

Puesto que se generan radicales hidroxilo en el último paso (ec. [5]) estamos ante un ciclo catalítico en el cual las diversas especies radicalarias actúan como propagadores del mismo. Tal y como vimos anteriormente, los procesos [5] y [6] juegan un papel fundamental en el ciclo de interconversión de NO hasta NO_2 y la subsiguiente liberación de ozono.

El proceso genérico [9] muestra cómo los radicales RO· se convierten en hidroperóxido. El mecanismo de este paso depende obviamente de la naturaleza de RO· y, por ende, de la estructura del compuesto orgánico de partida. Para pequeños radicales (ejemplo, CH_3O·), la producción de hidroperóxido consta de un solo paso, por reacción con oxígeno, originando a su vez un producto de oxidación tipo aldehído o cetona, del tipo genérico $R_{-H}O$ (formaldehído en este caso), tal y como se indica en la Figura 2, ecuación [10].

Los radicales orgánicos de cadena más larga pueden también sufrir otros procesos de descomposición térmica o de isomerización, para cadenas de al menos 4 átomos de carbono. En estos casos, el mecanismo implica diversos pasos, lo que conlleva la existencia de otros intermedios radicalarios, aunque en la mayoría de los casos se genera el radical hidroperóxido en el paso final. Por tanto, si asumimos la reacción [10] como el mecanismo general de reacción de los radicales RO·, el proceso general de oxidación del alcano RH hasta $R_{-H}O$ se puede representar en la ecuación [11].

$$RH + 4O_2 \rightarrow R_{-H}O + H_2O + 2O_3 \qquad [11]$$

Así pues, por cada molécula de alcano que se oxida en la troposfera se generan dos moléculas de ozono, con los consiguientes perjuicios ya comentados. Y lo que es aun más grave, como la fotolisis del ozono es una de las principales fuentes de producción de radicales hidroperóxido, tal y como se comentará más adelante, nos encontramos ante un perverso círculo vicioso autocatalítico.

No obstante, sólo estamos ante la punta del iceberg, puesto que los primeros compuestos generados por oxidación ($R_{-H}O$) pueden seguir oxidándose por mecanismos similares, generando más ozono, hasta que llegan a su último grado de oxidación (CO_2). El penúltimo producto oxidado es de manera habitual el monóxido de carbono (CO), pues de hecho su mayor fuente de producción es la oxidación atmosférica de compuestos orgánicos. Por supuesto, su oxidación hasta dióxido de carbono también genera radicales hidroperóxido y ozono:

$$H\cdot + O_2\ (+M) \rightarrow HO_2\cdot\ (+\ M) \qquad [13]$$

$$HO\cdot + CO\ (+M) \rightarrow HOCO\cdot\ (+\ M) \qquad [14]$$

$$HO\cdot + CO \rightarrow H\cdot + CO_2 \qquad [12]$$

$$HOCO\cdot + O_2 \rightarrow HO_2\cdot + CO_2 \qquad [15]$$

Hemos descrito de manera sucinta la química subyacente a la oxidación atmosférica de alcanos; por lo que respecta a otros COVs, los mecanismos suelen ser similares. De manera genérica, para COVs de bajo peso molecular (como metano, etano, etileno, metanol, terc-butanol, acetaldehído, acetona y éter dimetíco), los mecanismos son bien conocidos (Atkinson, 1994, 1997; Atkinson y cols., 1997a; Jenkin y cols., 1997a). Para muchos otros, los mecanismos de oxidación definidos por analogía con los anteriores son bastante consistentes con los datos experimentales, y se puede de esta forma postular posibles mecanismos de oxidación para otros COVs de los que se disponga de pocos datos experimentales (Porter y cols., 1997). No obstante, existen aun dudas acerca de los mecanismos de oxidación de hidrocarburos aromáticos o de terpenos.

Por tanto, la velocidad de oxidación de los COVs depende de la concentración ambiental de radicales $HO_X\cdot$, la cual está controlada por un delicado balance entre los procesos que los originan y los que los destruyen.

Así, estos radicales [hidroxilo (HO·) e hidroperóxido ($HO_2\cdot$)], se generan a través de la fotolisis de diferentes especies que existen en la atmósfera a nivel de trazas. En efecto, la radiación solar que penetra en las capas más bajas de la atmósfera lo hace en ondas de longitudes de onda mayores de 290 nm, por lo que las especies que son potenciales generadores de radicales serán aquellas que sean capaces de absorber a dichas longitudes de onda, de manera que se debe romper el enlace más débil de la estructura molecular (Jenkin y Clemitshaw, 2000). Entre los compuestos que son capaces de generar estos radicales citare-

mos el ozono, diversos aldehídos volátiles (fundamentalmente formaldehído), así como el ácido nitroso (HONO).

Por lo que se refiere a su eliminación, existen diferentes mecanismos por los que desaparecen, y se transforman en los llamados reservorios, puesto que pueden volver a producirse a partir de los mismos vía reacciones termo o fotoquímicas. La forma más habitual de desaparición es a través de la coligación de dos radicales entre sí (dos radicales hidroperóxido originarían una molécula de peróxido de hidrógeno y una de oxígeno; un radical hidroxilo coligado con un radical hidroperóxido originaría una molécula de agua y otra de oxígeno), o bien a través de las ya comentadas reacciones con estructuras tipo NO_X.

EFECTOS DE LOS COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES PARA LA SALUD

Los efectos de los compuestos orgánicos volátiles para la salud pueden variar mucho según el compuesto y comprenden desde un alto grado de toxicidad hasta ausencia de efectos conocidos. Esos efectos dependerán de la naturaleza de cada compuesto y del grado y del período de exposición al mismo. La exposición a estos contaminantes puede realizarse por inhalación, ingestión o contacto con la piel. La mayor parte de los estudios se refieren a contaminación en espacios interiores debido a la mayor abundancia de estos contaminantes y son menores los estudios referidos a exteriores (Godish, 1989; Lee *et al.,* 2001, 2002a, 2002b; Li *et al.,* 2001; USEPA, 1991).

En general, la exposición a largo plazo a los compuestos orgánicos volátiles puede causar lesiones del hígado, riñones y el sistema nervioso central y cáncer. La exposición a corto plazo puede causar irritación de los ojos y las vías respiratorias, dolor de cabeza, mareo, trastornos visuales, fatiga, pérdida de coordinación, reacciones alérgicas de la piel, náusea y trastornos de la memoria (6,7-10 USEPA, 1991; DHS, 1989; Godish, 1981,1990; USEPA, 1987).

Como veremos a continuación, muchos de los disolventes más habituales presentan diversos riesgos tanto medioambientales como para la salud, puesto que la mayoría son bastante volátiles.

A) Así, por ejemplo, los hidrocarburos saturados, amén de su volatilidad y alto grado de inflamabilidad, suponen un grave riesgo si son inhalados, afectando al Sistema Nervioso Central (originando desinhibición y/o depresión), a los pulmones, de manera que una exposición prolongada a los mismos puede originar cardiomiopatías, atrofia cerebral, o inclusive demencia. Y ya se ha comentado anteriormente sus efectos nocivos como consecuencia de la generación de ozono en la troposfera.

B) Los compuestos orgánicos clorados son la base de muchos productos químicos sintéticos usados en el hogar; siendo algunos de ellos cancerígenos.

Los hidrocarburos halogenados, tipo cloroformo, diclorometano, tetracloruro de carbono o 1,1,1-tricloroetano, por citar alguno de los más empleados de entre este tipo de compuestos, los cuales poseen una enorme capacidad de disolver a un altísimo número de compuestos orgánicos. Estos disolventes, muy volátiles, pueden originar problemas de irritación y dermatitis a nivel tópico, y si se inhalan, conducen a alteraciones en el SNC, riñón, hígado o corazón. Inclusive, se piensa que este tipo de disolventes pueden ser carcinogénicos, mutagénicos o teratogénicos. De especial importancia son los hidrocarburos que contienen tanto cloro como flúor, los llamados clorofluorocarbonados, o más habitualmente, CFCs. Estos compuestos (los más representativos serían el triclorofluorometano o el diclorodifluorometano, los llamados freones), aunque presentan un menor riesgo de producir los efectos nocivos de los hidrocarburos que solamente contienen cloro, representan un grave peligro, pues dada su extrema volatilidad ascienden hasta la estratosfera y producen la consabida destrucción de la capa de ozono. También se incluyen entre éstos a los bifenilos policlorados (PCB) contaminantes industriales prohibidos en la actualidad y los cloruros de polivinilo (PVC). En el caso del cloruro de vinilo es un carcinógeno bien conocido para el hombre. Su metabolito epoxi puede provocar un tumor muy raro, el angiosarcoma de hígado. Presenta una reactividad óptima que le permite alcanzar el núcleo celular sin ser inactivado, como ocurre con otros compuestos de vinilo más ricos en cloruros. Una vez en el núcleo se une de forma covalente con el ADN. El efecto de los compuestos clorados como el cloroformo se ha relacionado en varios estudios con los cánceres de vejiga y recto (Morris *et al.,* 1992). Los PCB se han utilizado en muchas aplicaciones industriales como aislantes eléctricos En España existe un escaso conocimiento sobre la cantidad de PCB almacenados y las condiciones de las instalaciones que las contienen) (Portaa *et al.,* 2004). Diversos estudios han observado que en España muchas muestras de carne, pescado, huevos, leche, mantequilla, queso, cereales, contienen residuos de PCB o isómeros de lindano como el β-hexaclorociclohexano (Portaa *et al.,* 2004).

C) Por lo que respecta a los hidrocarburos aromáticos (benceno, tolueno, xilenos, benzonitrilo, o aromáticos clorados), su volatilidad también les hace peligrosos, en especial en el caso del benceno, compuesto cabeza de serie. Cuando se liberan, diferentes microorganismos pueden degradarlos mediante procesos de oxidaciones a mayor o menor escala, pero si estos compuestos llegan a entornos anaeróbicos (como suelos, por ejemplo), su degradación se ralentiza de manera considerable. El benceno es un conocido cancerígeno humano y una fuente importante de él, es la pintura, aunque se puede encontrar en resinas, aceites, plásticos, detergentes, explosivos, productos farmacéuticos, etc. Generalmente es liberado al medio ambiente a través de la combustión de la gasolina, la cual contiene aproximadamente un 1% de benceno. El benceno es absorbido en el organismo siguiendo varios caminos entre los que incluimos inhalación, contacto a través de la piel, e ingestión produciendo en función del tiempo y tipo de exposición a diferentes tipos de lesiones. Parece ser que el benceno es metabolizado por el híga-

do para originar diferentes tipos de metabolitos, entre ellos el muconaldehido (2,4-hexadienodial), el cual se une de manera covalente tanto a las cadenas de ADN como a diferentes proteínas (Latriano y cols., 1986), por lo que la exposición continuada al benceno tiene efectos mutagénicos y teratogénicos y se ha relacionado con el aumento de leucemia en la población, como se ha podido comprobar en estudios realizados en laboratorio (Suh *et al.,* 2000). Sobre la base de los estudios realizados en humanos y animales se ha calculado que la inhalación de benceno produce una unidad de riesgo para cancer de 8,3 * 10^{-6} ($\mu g/m^3$) (ATSDR, 1991). Se estima que el 70-75% del riesgo de cáncer se atribuye a compuestos como el benceno, 1,3 butadieno y formaldehído (Morello-Frosch *et al.,* 2000). El humo del tabaco también contiene benceno. Por otra parte, las alfombras son una fuente muy importante de benceno y formaldehído. Una alfombra típica puede contener más de 120 diferentes agentes químicos.

D) Los alcoholes (metanol, etanol, n-propanol, o iso-propanol) son un tipo de disolventes relativamente «verdes», aunque su volatilidad e inflamabilidad puede originar, si existe una exposición prolongada, problemas de irritación ocular, dolores de cabeza, fatiga o pérdida de concentración.

E) Los éteres (fundamentalmente el éter dietílico o el tetrahidrofurano, THF) son muy frecuentemente usados para disolver productos orgánicos, pues posteriormente pueden eliminarse con facilidad por una simple destilación, aunque su extremada volatilidad origina riesgos de explosión, acentuada por la posibilidad de formar peróxidos inestables. Generalmente se les suele considerar como no muy nocivos para el entorno, pero recientemente se ha detectado que el empleo de terc-butil metil éter (TBME) como sustitutivo del tetraetilplomo en las gasolinas puede conllevar diferentes riesgos para la salud humana o animal (US. EPA, 93).

F) Por último, los disolventes polares apróticos, tipo acetona, 2-butanona, acetonitrilo, N,N-dimetilformamida (DMF), dimetilsulfóxido (DMSO), o hexametilfosforamida (HMPA), tan habituales en cualquier laboratorio orgánico, tampoco están exentos de peligros. Las cetonas presentan una casuística semejante a los éteres, mientras que el acetonitrilo puede inhibir la cadena respiratoria. La DMF puede originar daños renales o hepáticos, e inclusive puede conducir a problemas de impotencia; el DMSO origina dermatitis y malfuncionamiento hepático, y finalmente, la HMPA, aunque es menos volátil, también puede incidir sobre los pulmones, riñones y CNS.

No incluido en esta clasificación, pero de gran importancia por su toxicidad es el formaldehído. El formaldehído es un gas incoloro emitido por muchos materiales de la construcción y productos relacionados como gomas y resinas. Sin embargo el formaldehído es usado fundamentalmente como un intermedio químico en la fabricación de urea, fenol y resinas de melamina así como en otras muchas aplicaciones. Debido a que el formaldehído es un sensibilizador del sistema inmunológico puede causar alergias múltiples y sensibilidades a sustancias totalmente no relacionadas, si la exposición es permanente. Tos, asma y

bronquitis son también síntomas de exposición a formaldehído. Exposiciones continuas a formaldehído se han asociado con una mayor incidencia de cáncer de pulmón y cáncer nasofaríngeo. La unidad de riesgo de inhalación para el formaldehído se ha estimado en 1,3 * 10^{-5} ($\mu g/m^3$).

Cuando el 1,3 butadieno y otras sustancias encontradas en los COVs (e.g.: propano, propeno, butano o vinil acetileno) son quemados, se generan cantidades significativas de compuestos aromáticos polinucleares (HAPs). Estos compuestos no volátiles constituyen un grupo de contaminantes considerado de estudio prioritario debido a sus propiedades mutagénicas, tóxicas y cancerígenas. En zonas urbanas, las mayores emisiones se hayan asociadas al tráfico, en particular a los motores diésel, mientras que las calefacciones domésticas de carbón y madera principalmente, seguidas de las emisiones de procesos industriales de producción de aluminio y coque serían las fuentes principales en zonas rurales e industriales De lo dicho se deduce que estas sustancias son extraordinariamente ubicuas, siendo el mas conocido el 3,4 α-benzopireno presente en el humo del tabaco. Es un mutágeno indirecto, ya que debe ser biotransformado previamente a su metabolito epoxi para ejercer su acción genotóxica. Este último tiene gran afinidad por el ADN, con el que forma fácilmente aductos (Rodríguez, 1993). Se han descrito tumores de pulmón y piel (cara, manos, escroto) en trabajadores expuestos directamente a este tipo de sustancias.

Los niños son potencialmente una población de riesgo debido a que son especialmente vulnerables debido a que sus mecanismos de desintoxicación no están completamente desarrollados y sus órganos están en formación. Además están más expuestos que los adultos; un niño menor de cinco años consume tres a cuatro veces más comida y bebe más agua y zumos que un adulto por unidad de peso corporal. En un estudio realizado en Minneapolis se analizó la concentración de once COVs en sangre en una muestra de 150 niños comprobando que la concentración de estos compuestos excedió a la de los adultos incluyendo fumadores (Sexton *et al.,* 2005). En España la red INMA está llevando a cabo un estudio sobre los efectos de contaminantes entre los que se analizan los COVs sobre 3.600 mujeres desde el inicio del embarazo hasta los 4-6 años de edad (Ramon *et al.,* 2005). Otra causa muy importante de contaminación en ambientes interiores surge de los residuos de la combustión. El monóxido de carbono es un gas incoloro, inodoro que como es bien sabido, causa la muerte en niveles ligeramente altos. Sin embargo, menos conocido es el hecho de su gran toxicidad en dosis mucho más bajas, donde puede tener serios efectos en funciones cognoscitivas superiores tales como la memoria, la concentración y el razonamiento. La exposición crónica del monóxido de carbono también puede resultar en sensibilidades químicas múltiples ya que interfiere con los métodos de desintoxicación en el hígado causando una sobrecarga tóxica.

En la UE, las emisiones del tráfico han bajado entre 1990 y 2000 cerca del 21% de NOx, 36% de CO, 38% de compuestos orgánicos volátiles no metano (COVMN), y 43% de SO_2. Este alentador e importante resultado es la conse-

cuencia de la introducción de los escapes catalíticos, de la renovación de los vehículos, y de la utilización de carburantes que contaminan menos el ambiente. Por lo tanto esto significa que la innovación tecnológica es una interesante ayuda para mejorar la calidad del aire y para bajar la contaminación pero, actualmente, la mayoría de la población europea está expuesta a niveles de contaminación mucho más elevados del límite tolerable. Los estudios realizados sobre los niños son muy variados y nos muestran los efectos relativos a enfermedades respiratorias agudas, pero también los efectos relativos a problemas respiratorios menos graves como la tos y el catarro. Estos efectos son más evidentes en los niños, con predisposiciones al asma y a las alergias por lo que probablemente podemos concluir que las alergias al ambiente se vuelven más agudas a causa de los agentes contaminantes del aire.

REEMPLAZO DE DISOLVENTES

Los disolventes orgánicos están hoy día presentes en numerosísimos productos tanto industriales como de consumo diario, como pinturas, tintes, cosméticos, limpiadores tanto domésticos como industriales, y por supuesto en los combustibles. Asimismo, juegan un papel fundamental en los procesos químicos, tanto para disolver reactivos, como para facilitar procesos de aislamiento y purificación, o inclusive para lavar el material de laboratorio una vez utilizado.

De todo lo dicho queda patente la necesidad de minimizar la exposición humana a disolventes, por lo que el estudio de diferentes sistemas de reemplazo de los mismos con medios de reacción alternativos constituye un campo apasionante de trabajo. No obstante, para que se pueda producir un reemplazo eficiente, el disolvente alternativo tiene que cumplir una serie de condiciones:

- Debe disolver los materiales de partida y los reactivos.
- Debe ser inerte y no interferir en la reacción deseada.
- Debe, a ser posible, tener un efecto positivo en la velocidad de reacción.

Una vez cumplidos estos requisitos, asimismo debe superar las siguientes cuestiones:

- ¿Cómo de eficiente es la reacción en el nuevo disolvente? Las reacciones colaterales indeseadas que conducen a subproductos, ¿se ven eliminadas o al menos disminuidas con el uso del nuevo disolvente?
- ¿Es el disolvente no tóxico, o al menos presenta una toxicidad disminuida con respecto al disolvente que pretende reeemplazar?
- ¿Representa el disolvente una disminución del riesgo de contaminación medioambiental?

- ¿Tiene una volatilidad adecuada, que conduzca a un riesgo menor de emisión y/o de exposición?
- ¿Es soluble en agua? Si efectivamente lo es, ¿este hecho simplifica o complica el aislamiento y purificación de los productos de interés? ¿Origina el disolvente alternativo complicaciones a la hora del reciclado?
- ¿Es soluble en disolventes apolares? Si efectivamente lo es, ¿implica un riesgo de acumulación en grasas o tejidos humanos?
- ¿Es biodegradable? Si efectivamente lo es, ¿son inocuos sus metabolitos?
- ¿Se puede disponer del disolvente puro, o contiene impurezas nocivas?

Es claro que muchas de estas preguntas son de difícil respuesta, sobre todo a la hora de decidir si un disolvente alternativo puede ser inocuo para la salud, si no existen suficientes datos bibliográficos al respecto. En la actualidad, no obstante, existen **TRES ALTERNATIVAS SOSTENIBLES,** de menor a mayor novedad, que pasaremos a explorar.

1. Uso de disolventes convencionales más sostenibles

Esta alternativa consiste en sustituir los disolventes empleados por otros, también convencionales, pero que representen un menor riesgo de toxicidad, una menor volatilidad, y que se puedan reciclar fácilmente.

En este sentido, a nivel de reducción de toxicidad, los parámetros fisicoquímicos, a los que habría que prestar especial atención, son la volatilidad (cuantificada a través de la velocidad de evaporación referida al acetato de butilo, y el «punto flash»); la solubilidad en agua (para poder minimizar problemas de vertidos accidentales); el coeficiente de partición en un sistema n-octanol/agua (conocido como log P), que nos dará idea de la facilidad para atravesar membranas con la consecuente bioacumulación; y por último el umbral odorífero (capacidad de detectar un disolvente a través del sistema olfativo, en el entorno generalmente de ppm).

Por lo que respecta al impacto medioambiental, podemos utilizar diferentes parámetros, tales como la vida media del disolvente en la atmósfera, la capacidad de contribuir a la formación de ozono troposférico, y la escala de tiempos de su biodegradación.

Finalmente, y de manera cuantitativa, indicaremos que, en Estados Unidos de Norteamérica, la Agencia Nacional de Protección de Incendios (NFPA) asigna un ranking de riesgos para la salud, de riesgos de inflamación y de riesgos de relatividad que va desde 0 a 4, siendo el nivel 0 el más seguro; por otra parte, también en el mismo país la Administración de Seguridad y Salud en el Trabajo (OSHA) establece lo que se llaman los límites permisibles de exposición (PEL).

De forma general, comentaremos algunas de estas sustituciones:

- Se consideran que los alcoholes son disolventes relativamente seguros, especialmente si los comparamos con otros disolventes orgánicos. En este sentido, etanol e *iso*-propanol son las mejores opciones.
- Por otra parte se recomienda sustituir benceno por tolueno o xileno, que aunque pueden originar similares problemas de salud si se produce una acumulación o un contacto con la piel, son menos volátiles y no parecen presentar problemas de carcinogénesis (en este sentido, la ruta metabólica que transforma el benceno en ácido mucónico para el tolueno conduce al ácido benzóico, que es inocuo).
- El reemplazo de hidrocarburos halogenados por disolventes más sostenibles es complicado. En este sentido, el «menos malo» de todos ellos sería el diclorometano.
- Los éteres se pueden reemplazar por poliéteres (como, por ejemplo, el 1-metoxi-2(2-metoxietoxi)etano (éter metoxietílico o diglime)), que presentan una mucho menor volatilidad y toxicidad, manteniendo la excelente capacidad de solubilización de compuestos orgánicos.
- Por lo que respecta a los disolventes polares apróticos, éstos pueden ser reemplazados por otros que presenten menor toxicidad como, por ejemplo, acetato de etilo, 1,3-dimetil-6,4,5,6-tetrahidro-2(1H)-pirimidin-2-ona (DMPU, dimetilpropilenurea), 1-metil-2-pirrolidinona (NMP), o el carbonato de propileno.

Estas sustituciones no son sin duda la mejor solución, pero al menos suponen un primer paso que se puede hacer inmediatamente y sin ninguna implementación de tecnología adicional.

Diseño de nuevos disolventes

El diseño de nuevos disolventes y medios de reacción constituye una de las fronteras de la Química Sostenible. Comentaremos brevemente algunos aspectos de interés.

La búsqueda de disolventes con menor toxicidad ambiental y menor volatilidad es una tarea de vital importancia. En este sentido, puede llegar a ser razonable llevar la cabo la síntesis de novo de nuevos disolventes (en lugar de emplear los métodos tradicionales de aislamiento de fuentes naturales), si el aumento de sostenibilidad del proceso es muy elevado. Por ejemplo, el empleo de lactato de etilo (obtenido a través de procesos de fermentación biodegradable y fácilmente reciclable) como disolvente de polímeros y resinas supone una alternativa excelente. O por ejemplo, el reemplazo de acetona por 4-hidroxi-4-

metil-2-pentanona permite mantener las características de la primera (alta capacidad de solubilización de muchos productos orgánicos, y miscibilidad con el agua), con una disminución sustancial de la volatilidad del disolvente.

Por lo que respecta a los CFCs, existe la posibilidad de reemplazarlos por hidrocarburos fluorados (HFCs), que siguen manteniendo las capacidades de los primeros en su uso como agentes refrigerantes, pero no conducen a la destrucción del ozono estratosférico y son más seguros.

Por obvias razones, el agua se considera el disolvente sostenible por antonomasia, pero su uso como disolvente en reacciones orgánicas es muy limitado por razón de la escasa solubilidad de la mayoría de los compuestos orgánicos en disoluciones acuosas. Además, muchos reactivos comunes para un químico orgánico (cloruro de tionilo, compuestos organometálicos…) son incompatibles del todo punto con agua. No obstante, se han hecho ingentes esfuerzos en este campo (Li y Chan, 1997; Lindström, 2002), y por ejemplo, se han descrito adiciones a aldehídos de equivalentes a los compuestos de Grignard (magnesianos) empleando medio acuosos y sustituyendo el magnesio por indio (Li y Chan, 1991), o antimonio (Li y Chan, 2000), o hidrogenaciones conjugadas de compuestos carbonílicos α, β-insaturados en medios acuosos catalizadas por análogos de catalizadores de Wilkinson (Grosselin y cols., 1991).

Recientemente está cobrando fuerza el empleo de fluidos supercríticos y líquidos iónicos como nuevos disolventes. En el caso de los primeros, se definen como gases que se han comprimido y calentado de modo que muestren propiedades de líquido y de gas al mismo tiempo, al superar lo que se conoce como el punto crítico. El CO_2 supercrítico es el más empleado, pues las condiciones de su punto crítico (73 atm de presión y 31.1º C) son fáciles de alcanzar. La ventaja de su empleo se centra en su gran capacidad de disolución de diferentes compuestos orgánicos y su gran facilidad de eliminación simplemente por disminución de la presión del sistema, por lo que vuelve al estado gaseoso sin dejar trazas.

Los líquidos iónicos son sales orgánicas que son líquidas a temperatura ambiente, y están formadas de forma genérica por un anión orgánico o inorgánico (fluoroborato, acetato, cloruro, hexafluotrofosfato…) y un catión consistente en un compuesto orgánico nitrogenado tipo imidazolio o piridinio, fundamentalmente. Este tipo de compuestos pueden disolver muchos compuestos orgánicos, son esencialmente no volátiles y pueden usarse hasta temperaturas en torno a 300º C, lo que les confiere una alta versatilidad, y por tanto su utilización parece muy interesante (Andrade y cols., 2005; Jastorf y cols., 2005), aunque todavía hay que profundizar en el estudio de su biodegradabilidad (García y cols., 2005).

Diseño de procesos sin disolventes

Sin duda esta sería la mejor opción. Si atendemos al papel de los disolventes en una reacción química (favorecer la mezcla íntima de los reactantes, facilitar

la separación y purificación de los productos de reacción, y dispersión de energía en los procesos exotérmicos), podemos pensar que en ciertas reacciones se puede prescindir de ellos, como en reacciones entre sólidos, entre gases y sólidos, o bien directamente en fase gaseosa. Diferentes ejemplos de este tipo de procesos ya han sido descritos (Metzger, 2001), y sin duda representan la mejor alternativa para la eliminación de la emisión de COVs al medio.

LEGISLACIÓN

La legislación referida a temas mediombientales se ha movido en dos sentidos: por una parte tenemos la Química verde y por otra parte la eliminación de residuos una vez producidos. De este modo, el objetivo principal de la Química Verde es reducir los problemas medioambientales generados por la producción química no con soluciones de final de tubería, es decir no eliminando la contaminación una vez producida, sino atacando el problema de raíz: utilizando procesos químicos que no produzcan residuos.

En 1987 la Comisión de Medio Ambiente y Desarrollo de Naciones Unidas elaboró el informe Nuestro Futuro Común, más conocido como el Informe Bruntland. Allí quedó definido el concepto de Desarrollo Sostenible: satisfacer las necesidades del presente sin comprometer la capacidad de las generaciones futuras para desarrollarse. Siguiendo esta filosofía, y poco después de haberse aprobado la Ley de Prevención de la Contaminación de 1990, la Oficina de Prevención de la Contaminación y Sustancias Tóxicas de la EPA (Office of Pollution Prevention and Toxics, OPPT) empezó a explorar la idea de desarrollar productos y procesos químicos nuevos o mejorar los existentes para disminuir el peligro a la salud humana y al medio ambiente. En 1991, la OPPT puso en marcha el programa modelo de subvenciones a la investigación «Rutas Sintéticas Alternativas para la Prevención de la Contaminación». Así apareció la Química Verde (Green Chemistry) con el objeto de promover tecnologías químicas innovadoras que redujeran el uso o generación de sustancias químicas peligrosas en el diseño, fabricación y uso de los productos químicos.

En cuanto a la eliminación de residuos una vez producidos en la Tabla 3 se presentan algunas fechas históricas en la lucha contra la contaminación.

En lo que respecta a disolventes, en 1999 se estableció la Directiva 1999/13/CE del Consejo de 11-03-1999, relativa a la limitación de las emisiones de compuestos orgánicos volátiles debidas al uso de disolventes orgánicos en determinadas actividades e instalaciones. Tiene por objeto prevenir o reducir los efectos directos o indirectos de las emisiones de compuestos orgánicos volátiles al medio ambiente, principalmente a la atmósfera, por medio de medidas y procedimientos que deben aplicarse en las actividades definidas en el anexo I, en la medida en que se lleven a cabo por encima de los umbrales de consumo de disolvente enumerados en el anexo II A. Establece las obligaciones aplicables a instalacio-

TABLA 3

Sustancia	*Efecto sobre el medio ambiente*	*Normativa*	*Año*
CFCs CCl_4,CH_3Cl, $CHCl_2$	Destrucción del ozono estratosférico	Protocolo de Montreal	**1987**
Halones, HBFCs Combustibles fósiles	Efecto invernadero Calentamiento global	Protocolo de Kioto	**1997**
Sustancias tóxicas/ peligrosas	Contaminación acuíferos	Directiva marco 2000/60/CE	**2000**
Contaminantes orgánicos persistentes	Bioacumulación Toxicidad Persistencia	Programa UNEP Convención de Estocolmo	**1997**
Disolventes	Emisión de COV	Directivas 99/13/CE, 2001/81/CE	
	Formación de ozono troposférico	Programa CAFÉ	**1999**
	Salud ocupacional	**REACH**	

nes nuevas y a las ya existentes, y los requisitos que deben cumplir. Sin perjuicio de lo dispuesto en la Directiva 96/61/CE (prevención y control de la contaminación), los Estados miembros podrán definir y aplicar planes nacionales para reducir las emisiones procedentes de las actividades e instalaciones industriales.

Anexo I: se especifican las actividades a las cuales aplica la Directiva: Recubrimiento con adhesivos, procesos de recubrimiento, recubrimiento de bobinas, limpieza en seco. Fabricación de calzado, barnices, tintas y adhesivos y productos farmacéuticos. Imprenta, conversión de caucho natural o sintético, limpieza de superficies, proceso de extracción de aceite vegetal y de refinado de grasa y aceite vegetal, renovación del acabado de vehículos, recubrimiento de alambre de bobinas, impregnación de fibras de madera, y laminación de madera y plástico.

Anexo II A: umbrales y controles de emisión de los contaminantes y la industria de recubrimiento de vehículos tiene una mención especial.

Anexo II B: sistemas de reducción de emisiones.

Anexo III: orienta sobre la realización de un plan de gestión de disolventes.

Directiva 2001/81/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 23-10-2001, sobre techos nacionales de emisión de determinados contaminantes atmosféricos

Trata de limitar las emisiones de contaminantes acidificantes y eutrofizantes y de precursores de ozono para reforzar la protección en la Comunidad del medio ambiente y de la salud humana frente a los riesgos de los efectos nocivos de la acidificación, la eutrofización del suelo y el ozono en la baja atmósfera, y avanzar hacia el objetivo a largo plazo de no superar las cargas y los niveles críticos y de proteger de forma eficaz a toda la población frente a los riesgos conocidos para la salud que se derivan de la contaminación atmosférica mediante la fijación de techos nacionales de emisión, tomando como referencia los años 2010 y 2020, y procediendo a revisiones sucesivas. A más tardar en el año 2010, los Estados miembros limitarán sus emisiones nacionales anuales de los contaminantes dióxido de azufre (SO_2), óxidos de nitrógeno (NO_x), compuestos orgánicos volátiles (COVs) y amoníaco (NH_3) a cantidades no superiores a los techos de emisión citados en el Anexo I. Anexo I: Techos nacionales de emisión de SO_2, NO_x, COVs y NH_3 previstos. Anexo II: Techos de emisión para SO_2, NO_x y COVs. Anexo III: Metodologías para la elaboración de inventarios y previsiones de emisiones.

En el mes de mayo de 2001, la Comisión Europea adoptó el Programa «Aire puro para Europa» (CAFE), el cual daba inicio a finales de 2004 y que prevé una estrategia integrada para luchar eficazmente contra la contaminación atmosférica.

El programa CAFE desarrolla una de las líneas de actuación del Sexto Programa de Acción en materia de Medio Ambiente, que recoge las prioridades de actuación ambientales para los próximos diez años (2001-2010) bajo el título «Medio Ambiente 2010: el futuro en nuestras manos», y que se centra en las cuatro áreas siguientes:

El cambio climático.

La salud y el Medio Ambiente.

La Naturaleza y la biodiversidad.

La gestión de los recursos naturales.

En España, el Ministerio de Medio Ambiente ha creado un «Grupo Director» el cual tiene programadas una serie de reuniones. Asimismo, también se han planificado diversas actividades y talleres sobre elaboración de planes y programas de mejora de la calidad del aire así como instrumentos y políticas de gestión de la calidad del aire. Todo ello con el objetivo de elaborar «La Estrategia Temática Española de Calidad del Aire».

Entre sus prioridades destacan dos aspectos fundamentalmente: las partículas de diámetro inferior a 2,5 micras ($PM_{2,5}$) en relación a sus valores límite y techo y, por otra parte, debatir acerca de los valores límite de los óxidos de nitrógeno (NO_x) y de los compuestos orgánicos volátiles (COV's). Por otra parte la norma-

tiva respecto a Compuestos Orgánicos Volátiles (COV's) se encuentra regulada por el *Real Decreto 117/2003, de 31 de enero, sobre limitación de emisiones de compuestos orgánicos volátiles debidas al uso de disolventes en determinadas actividades.* Esta legislación recoge los límites aplicables a las emisiones de compuestos orgánicos volátiles en general y límites específicos para el tricloroetileno, disolvente empleado en algunas operaciones de limpieza de superficies, por tratarse de un compuesto orgánico volátil halogenado con la frase R40.

Por último, cabe destacar que el objetivo global de este Programa es el de desarrollar una estrategia integrada a largo plazo que permita proteger la salud humana y el medio ambiente de los efectos de la contaminación atmosférica.

Este objetivo se materializa con la propuesta de Reglamento REACH (Reglamento para el Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de productos químicos), recientemente aprobado en el Parlamento Europeo. En grandes rasgos, el programa plantea el que cada industria química realice ensayos y evaluaciones de riesgos para todas las sustancias que produce o importa. Esta información, es evidentemente esencial para poder realizar las evaluaciones de riesgos. En general, se trata de la misma información que se necesita para clasificar y etiquetar las sustancias, para poder establecer las pautas de actuación, controles y seguimiento de los trabajadores que las producen y utilizan, controlar sus vertidos y emisiones a los ríos y a la atmósfera, gestionar adecuadamente sus residuos, así como para poder aplicar medidas si se produce un accidente durante el transporte o la producción.

BIBLIOGRAFÍA

ANDRADE, C. K. Z., ALVES, L. M. (2005): Environmentally benign solvents in organic synthesis: Current topics. *Curr. Org. Chem.* **9,** (2), 195-218.

ATKINSON, R. (1994): Gas-phase tropospheric chemistry of organic compounds. *Journal of Physical Chemistry Reference Data*, Monograph **2,** 1-216.

— (1997): Gas-phase tropospheric chemistry of volatile organic compounds: 1. Alkanes and alkenes. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* **26** (2): 215.

— (2000): Atmospheric chemistry of VOCs and NOx. *Atmospheric Environment* **34:** 2063-2101.

ATKINSON, R.; BAULCH, D. L.; COX, R. A.; HAMPSON, R. F.; KERR JR., J. A.; ROSSI, M. J., TROE, J. (1997a): Evaluated kinetic and photochemical data for atmospheric chemistry; supplementV-IUPAC sub-committee on gas kinetic data evaluation foratmospheric chemistry. *Journal of Physical Chemistry Reference Data* **26** (3): 521-1011.

— (1997b): Evaluated kinetic and photochemical data for atmospheric chemistry; supplement VI } IUPAC sub-committee on gas kinetic data evaluation for atmospheric chemistry. J*ournal of Physical Chemistry Reference Data* **26** (6): 1329-1499.

ATSDR. Toxicological Profile for Benzene(Draft). Atlanta, GA: Agency for toxics substances and Disease registry, 1991.

BAEK, S-O.; KIM, Y-S., PERRY, R. (1997): Indoor air quality in homes, offices and restaurants in Korean urban areas—indoor/outdoor relationships. *Atmospheric Environment* **31,** Issue 4, 529-544.

Brocco, D.; Fratarcangeli, R.; Lepore, L.; Petricca, M., Ventrone, I. (1997): Determination of aromatic hydrocarbons in urban air of Rome. A*tmospheric Environment* **31,** Issue 4, 557-566.

Cerqueira, M. A.; Pio, C. A.; Gomes, P. A.; Matos, J. S., Nunes, T. V. (2003): Volatile organic compounds in rural atmospheres of central Portugal. *The Science of the total Environment* **313,** 49-60.

Chao, C. Y., Chan, G. Y. (2001): Quantification of indoor VOCs in twenty mechanically ventilated buildings in Hong Kong. *Atmospheric Environment* **35,** Issue 34, 5895-5913.

Colvile, R. N.; Choularton, T. W.; Cape, J. N.; Bandy, B. J.; Bower, K. N.; Burgess, R. A.; Davies, T. J.; Dollard, G. J.; Gallagher, M. W.; Hargreaves, K. J.; Jones, B. M. R.; Penkett, S. A., Storeton-West, R. L. (1996): Processing of oxidised nitrogen compounds by passage through winter-time orographic cloud. *Journal of Atmospheric Chemistry* **24** (3), 211-239.

«Concentraciones de compuestos tóxicos persistentes en la población española: el rompecabezas sin piezas y la protección de la salud pública». *Gaceta Sanitaria 2002,* **16** (3): 257-66. Publicación de Ediciones Doyma, S. L. 2004.

DeMore, W. B.; Sander, S. P.; Golden, D. M.; Hampson, R. F.; Kurylo, M. J.; Howard, C. J.; Ravishankara, A. R.; Kolb, C. E., Molina, M. J. (1997): Chemical kinetics and photochemical data for use in stratospheric modelling. Evaluation number 12. NASA panel for data evaluation. *Jet Propulsion Laboratory Report,* 97-104.

Derwent, R. G. (1995): Sources, Distributions and Fates of VOCs in the Atmosphere. En: Hester, R. (Editor). Volatile Organic Compounds in the Atmosphere. Cambridge, GBR: The Royal Society of Chemistry.

DHS. Cancer Risk Assessment for Formaldehyde. California Air Resources Board, Stationary Source Division, for use as Part B report for the identification of formaldehyde as a toxic air contaminant, California Department of Health Services, November. 1989.

Enya, T.; Suzuki, H.; Watanabe, T.; Hirayama, T., Hisamatsu, Y. (1997): 3-Nitrobenzanthone, a powerfull bacterial mutagenand suspected human carcinogen found in diesel exhaust andairborne particles. *Environmental Science and Technology* **31,** 2772-2776.

European Chemical Industry Council (CEFIC) «Responsible Care HSE Reporting Guidelines» for VOCs. 1998.

Fenger, J. (1999): Urban air quality. *Atmospheric Environment* **33,** 4877-4900.

Fernández-Martínez, G.; López-Mahía, P.; Muniategui-Lorenzo, S.; Prada-Rodríguez, D., Fernández-Fernández, E. (2001): Measurement of volatile organic compounds in urban air of La Coruña, Spain. Water, *Air and Soil Pollution* **129,** 267-288.

García, M. T.; Gathergood, N., Scammells, P. J. (2005): Biodegradable ionic liquids Part II. Effect of the anion and toxicology. *Green. Chem.,* **7,** 9-14.

Godish, T. (1981): Formaldehyde and building-related illness. J. *Environ. Health* **44** (3), 116-121.

— (1989): Indoor Air Pollution Control. Lewis Publishers, MI.

— (1990): Residential formaldehyde. *J. Environ. Health* **53** (3): 34-37.

Grosselin, J. M.; Mercier, C.; Allmang, G., Grass, F. (1991): Selective hydrogenation of alpha,beta-unsaturated aldehydes in aqueous organic 2-phase solvent systems using ruthenium or rhodium complexes of sulfonated phosphines .*Organometallics*, **10:** 2126-2133.

Guenther, A.; Hewitt, C. N.; Erickson, D.; Fall, R.; Geron, C.; Graedel, T.; Harley, P.; Klinger, L.; Lerdau, M.; McKay, W. A.; Pierce, T.; Scholes, B.; Steinbrecher, R.; Tallamraju, R.; Taylor, J., Zimmerman, P. (1995): A global model of natural volatile organic compound emissions. *Journal of Geophysical Research* **100:** 8873-8892.

GUO, H.; WANG, T.; SIMPSON, I. J.; BLAKE, D. R.; YU, X. M.; KWOK, Y. H.; LI, Y. S. (2004): Source contributions to ambient VOCs and CO at a rural site in eastern *China. Atmospheric Environment* **38:** 4551-4560.

HAAGEN-SMIT, A. J., FOX, M. M. (1954): Photochemical ozone formation with hydrocarbons and automobile exhaust. *Journal of Air Pollution Control Association* **4:** 105-109.

— (1956): Ozone formation in photochemical oxidation of organic substances. *Indian Enginering Chemistry* **48,** 1484.

HAAGEN-SMIT, A. J.; BRADLEY, C. E., FOX, M. M. (1953): Ozone formation in photochemical oxidation of organic substances. *Industrial and Engineering Chemistry* **45:** 2086-2089.

HO, K. F., LEE, S. C. (2002): Identification of atmospheric volatile organic compounds (VOCs), polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and carbonyl compounds in Hong Kong. T*he Science of the total Environment* **289:** 145-158.

IPCC (1995). Climate Change 1994 - Radiative Forcing and Climate Change and an Evaluation of the IPCC IS92 Emission Scenarios. Cambridge University Press, Cambridge,UK.

JASTORFF, B.; MOLTER, K.; BEHREND, P.; BOTTIN-WEBER, U.; FILSER, J.; HEIMERS, A.; ONDRUSCHKA, B.; RANKE, J.; SCHAEFER, M.; SCHRODER, H.; STARK, A.; STEPNOWSKI, P.; STOCK, F.; STORMANN, R.; STOLTE, S.; WELZ-BIERMANN, U.; ZIEGERT, S., THOMING, J. (2005): Progress in evaluation of risk potential of ionic liquids-basis for an eco-design of sustainable products. *Green Chemistry* **7, 5:** 362-372.

JENKIN, M. E., CLEMITSHAW, K. C. (2000): Ozone and other secondary photochemical pollutants: chemical processes governing their formation in the planetary boundary layer. *Atmospheric Environment* **34:** 2499-2527.

JENKIN, M. E.; SAUNDERS, S. M., PILLING, M. J. (1997a): The tropospheric degradation of volatile organic compounds: a protocol for mechanism development. *Atmospheric Environmen*t **31** (1): 81-104.

KRUPA, S. V., MANNING, W. J. (1988): Atmospheric ozone: Formation and effects on vegetation. *Environmental Pollution* **50:** 101-137.

LARSEN, J. C., LARSEN, P. B. (1998): Chemical carcinogens. In: Hester, R. E., Harrison, R. M. (Eds.), Air Pollution and Health. Issues in Environmental Science and Technology, Vol. 10. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, pp. 33-56.

LATRIANO, L., GOLDSTEIN, B. D., WITZ, G. (1986): Formation of muconaldehyde, an opening metabolite of benzene, in mouse liver microsomes: an additiional pathway for toxic metabolites. *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA, **83:** 8356-8360.

LEE, D. S.; KOHLER, I.; GROBLER, E.; ROHRER, F.; SAUSEN, R.; GALLARDO-KLENNER, L.; OLIVIER, J. J. G., DENTENER, F. J. (1997): Estimation of global NOx emissions and their uncertainties.*Atmospheric Environmen*t **31** (12): 1735-1749.

LEE, S. C.; LI, W. M., AO, C. H. (2002b): Investigation of indoor air quality at residential homes in Hong Kong-case study. *Atmospheric Environment.* **36:** 225-237.

LEE, S. C.; LI, W. M., CHAN, L.Y. (2001). Indoor air quality at restaurants with different styles of cooking in metropolitan Hong Kong. *Total Environ.* **279** (1-3): 181-193.

LEE, S-C.; GUO, H.; LI, W-M., CHAN, L-Y. (2002a): Inter-comparison of air pollutant concentrations in different indoor environments in Hong Kong, *Atmospheric Environment* **36:** Issue 12, 1929-1940.

LEIGHTON, P. A. (1961): Photochemistry of Air Pollution. Academic Press, New York.

LI, C. J., CHAN, T. H. (1997): «Organic reactions in aqueous media». Wiley Interscience: New York 1997.

— (1991): Organometallic reactions in aqueous media with indium, *Tetrahedron Lett.* **32:** 7017-7020.

— (2000): Organometallic reactions in aqueous media. Antimony-mediated allylation of carbonyl compounds with fluoride salts. *Tetrahedron Lett.* **41:** 5009-50012.

Li, W. M.; Lee, S. C., Chan, L.Y. (2001): Indoor air quality at nine shopping malls in Hong Kong. *Sci. Total Environ.* **273:** 27-40.

Lindström, U. M. (2002): Stereoselective Organic Reactions in Water. *Chem. Rev.*, **102:** 2751-2772.

Logan, J. A. (1983): Nitrogen oxides in the troposphere: global and regional budgets. *Journal of Geophysical Research* **88** (NC15): 785-807.

Metzger, J. O. (2001): Organic reactions without organic solvents and oils and fats as renewable raw materials for the chemical industry. *Chemosphere* **43:** 83-87.

Mohamed, M. F.; Kang, D., Aneja, V. P. (2002): Volatile organic compounds in some urban locations in United States. *Chemosphere* **47,** Issue 8, 863-882.

Morello-Frosch, R. A.; Woodruff, T. J.; Axelrad, D. A., Caldwell, J. C. (2000): Air toxics andhealth risks in California: the public health implications of outdoor concentrations. *Risk Anal.* **20** (2), 273-291.

Morris, R. D.; Audet, A. M.; Angelillo, I. F.; Chalmers, M. D., Mosteller, F. (1992): Chlorination, chlorination by-products and cancer: a meta-analysis. American *Journal of Public Health* **82** (7): 955-63.

Pankow, J. F.; Luo, W.; Bender, D. A.; Isabelle, L. M.; Hollingsworth, J. S.; Chen, C.; Asher, W. E., Zogorski, J. S. (2003): Concentrations and co-occurrence correlations of 88 volatile organic compounds (VOCs) in the ambient air of 13 semi-rural to urban locations in the United States. *Atmospheric, Environment* **37,** Issue 36: 5023-5046.

Park, K-H., Jo, W-K. (2004): Personal volatile organic compound (VOC) exposure of children attending elementary schools adjacent to industrial complex. *Atmospheric Environment* **38:** 1303-1312.

Portaa, M.; Kogevinasa, M.; Zumetaa, E.; Sunyera, J., Ribas-Fitóa, N.: Grupo de Trabajo sobre Compuestos Tóxicos Persistentes y Salud del IMIM*.

Porter, E.; Wenger, J.; Treacy, J.; Sidebottom, H.; Mellouki, A.; Teton, S., Le Bras, G. (1997): Kinetic studies on the reactions of hydroxyl radicals with diethers and hydroxyethers. *Journal of Physical Chemistry* A **101** (32): 5770-5775.

Ramón, Rosa; Ballester, Ferràn; Rebagliato, Marisa; Ribas, Núria; Torrent, Maties; Fernández, Marieta; Sala, María; Tardón, Adonina; Marco, Alfredo; Posada, Manuel; Grimalt, Joan, y Sunyer, Jordi (2005): Red de investigación «infancia y medio ambiente» (red inma): protocolo de estudio, *Rev. Esp. Salud Pública*, **79:** 203-220.

Rodríguez, H. (1993): Studies on the mutagenic mechanisms of the potent environmental carcinogen. *Diss Absstr Int* **53** (7): 3321.

Rudd, H. J. (1995): Emissions of volatile organic compounds from stationary sources in the United Kingdom: speciation. AEA Technology Report, AEA/CS/REMA-029. AEA Technology. Oxfordshire, UK.

Sandermann, H.; Wellburn, A. R., Heath, R. L. (1997): Forest Decline and Ozone: Synopsis. En: Sandermann, H.; Wellburn, A. R.; Heath, R. L. (Eds.). Forest Decline and Ozone. A comparison of Controlled Chamber and Field Experiments. Springer-Verlag.

Sexton, Ken; Adgate, John L.; Church, Timothy R.; Ashley, David L., Needham Larry L. (2005): Ramachandran Gurumurthy, Fredrickson Ann L., and Ryan Andrew D. Children's Exposure to Volatile Organic Compounds as Determined by Longitudinal Measurements in Blood. *Environmental Health Perspectives,* **113:** 342-349.

Suh, H. H.; Bahadori, T.; Vallarino, J., Spengler, J. D. (2000): Criteria Air pollulant and Toxic Air Pollutansts. *EnviromentalHealth Perspectives Supplements*. Vol. 108, Number S4.

U.S. Environtmental Protection Agency. «Assessment Of Potencial Health Risks Of Gasolina Oxygenated With Methyl Tertiary Butyl Ether» Office and Development, US EPA, EPA/600/R-93/206.

U.S. EPA (1998): National Air Quality and Emissions Trend Report. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency.

U.S. EPA (1991): Indoor air quality: sick building syndrome (EPA/402-F-94-004). Indoor Air Group, Research Triangle Park, North Carolina. USA.

USEPA (1987): Assessment of health risks to garment workers and certain home residents from exposure to formaldehyde. Office of Pesticides and Toxic Substances, Environmental Protection Agency, Washington DC.

VOLZ-THOMAS, A.; RIDLEY, B. A.; ANDRAE, M. O.; CHAMEIDES, W. L.; DERWENT, R. G.; GALBALLY, I. E.; LELIEVELD, J.; PENKETT, S. A.; RODGERS, M. O.; TRAINER, M.; VAUGHAN, G., ZHOU, X. J. (1995): In: Ennis, C. A. (Ed.), Tropospheric Ozone. World Meteorological Organisation Global Ozone Research and Monitoring Project-Report No. 37, Scientific Assessment of OzoneDepletion: 1994. WMO, Geneva (Chapter 5).

WHO (2000): Air Quality Guidelines for Europe, 2nd Edition. WHO Regional Publications, European Series, No. 91. Copenhagen.

WICHMANN, H. (2004): Erich 20 years alter the winter smog episode 1985. The particle problem then and today. *Int. J. Environ. Health*. **20:** 489-491.

WIEDERKEHR, P., YOON, S.-J. (1998): Air quality indicators. In: Fenger, J., Hertel, O., Palmgren, F. (Eds.), Urban Air Pollution, European Aspects. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 403-418.

WHITTAKER, A.; BERUBÉ, K.; JONES, T.; MAYNARD, R., RICHARDS, R. (2004): Killer smog of London, 50 years on: particle properties and oxidative capacity. *Science of the total Environment.* 334-335: 435-445.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (1989): Indoor Air Quality: Organic Pollutants. EURO Reports and Studies No. 111, World Health Organization, Copenhagen.

X. Metodología de evaluación de la calidad del aire

ROSALÍA FERNÁNDEZ PATIER



Doctora en Farmacia. Es Jefe del Área de Calidad Ambiental del Instituto de Salud Carlos III. Fundadora de la Sociedad Española de Sanidad Ambiental. Es habitual colaboradora del Departamento de Química Inorgánica y Bioinorgánica de la Universidad Complutense.

En el muestreo y análisis de contaminantes atmosféricos se debe distinguir entre emisión e inmisión. El concepto de emisión implica la concentración de un contaminante que es lanzado o vertido por un foco emisor, mientras que aire ambiente (a veces, llamado inmisión) se refiere a la concentración de un contaminante, existente a nivel del suelo y es por tanto, el que respira el ser humano.

De estos conceptos, se derivan las diferentes magnitudes existentes en emisión y aire ambiente y por tanto, la necesidad de diferentes técnicas de muestreo y/o análisis.

MÉTODOS CONTINUOS Y MÉTODOS DISCONTINUOS

Los métodos continuos implican la captación y análisis del contaminante en el punto de muestreo, de forma continua y automática, mientras que los métodos discontinuos suponen la captación del contaminante en el punto de muestreo, el transporte del contaminante captado al laboratorio y el posterior análisis en el laboratorio.

Tanto los métodos continuos como los discontinuos son aplicables en las medidas de emisión y aire ambiente.

MUESTREO

En contaminación atmosférica va totalmente ligado el muestreo o captación del contaminante al análisis, pues la captación del contaminante atmosférico va, por lo general, ligada al método de análisis. Por ejemplo, si se va a determinar en el laboratorio el dióxido de azufre por el método del tetracloromercuriato-pararosanilina, la captación se realiza con solución de tetracloromercuriato, pero si el análisis se realiza por el método de la torina, la captación se realiza con solución de agua oxigenada. Además de las soluciones captadoras, varían otros parámetros como caudal de muestreo, diseño del captador...

1. Programas de muestreo

El muestreo de contaminantes atmosféricos va unido a los objetivos del mismo, pudiéndose diferenciar tres tipos de muestreo:

Muestreo continuo

Consiste en tomar muestras de forma continua a lo largo del año. Este muestreo continuo puede ser en tiempo real (en el caso de los analizadores automáticos) o en períodos de 24 horas o tiempos inferiores o superiores predefinidos.

Muestreo periódico

Basado en un plan predefinido y consistente básicamente en:

- Muestreo por estaciones. Por ejemplo, un mes o dos semanas cada período estacional.
- Un día de cada ocho. Muy útil cuando hay limitaciones económicas o de recursos humanos. De esta manera, se tienen muestras representativas de todos los días del año.

Muestreo puntual

Determinados días y horas.

2. Métodos de muestreo

La elección del método de análisis, y por tanto del muestreo, según lo referenciado anteriormente, se realizará de acuerdo a los objetivos de la vigilan-

cia o control, debiendo elegirse entre los que cumplen los objetivos a alcanzar, el más sencillo. La utilización de equipos inapropiados, demasiado complejos o con fallos frecuentes pueden causar el fracaso de la red.

Algunos de los parámetros a tener en cuenta son:

- Objetivos.
- Tiempo de resolución requerido.
- Consultas con otros usuarios.
- Referencias a reglamentos legales y/o normas.

La metodología para la medida de los contaminantes atmosféricos se puede dividir en cuatro tipos, que cubren los más amplios rangos de costes y características de funcionamiento. En la Tabla 1 figuran las ventajas e inconvenientes de estas técnicas.

Los muestreadores pasivos y activos corresponden a metodología discontinua, implicando el posterior análisis en el laboratorio, mientras que los analizadores automáticos y sensores remotos pertenecen a la metodología continua, proporcionando los datos en tiempo real. Estos cuatro tipos de técnicas son aplicables a la determinación de los niveles de aire ambiente, aunque en la actualidad, las más utilizadas son las de los muestreadores activos, muestreadores pasivos y los analizadores automáticos, pues los sensores remotos, aunque dan valores de multicontaminantes a lo largo de una distancia, no están muy introducidos en las redes, por su no adecuidad con la legislación y Directivas Comunitarias.

En las determinaciones de emisión, sólo los muestreadores activos y los analizadores automáticos son utilizados.

TABLA 1. *Ventajas e inconvenientes de las técnicas de medida, de contaminantes atmosféricos*

Método	*Ventajas*	*Inconvenientes*
Muestreadores pasivos	— Muy bajo coste. — Muy sencillos. — Útiles para estudios de base.	— No útiles para algunos contaminantes. — En general, dan medias mensuales y semanales.
Muestreadores activos	— Bajo coste. — Fácil de operar. — Operación segura. — Datos históricos.	— Medias diarias. — Trabajo intensivo. — Requiere análisis en el laboratorio.
Analizadores automáticos	— Comprobados. — Altas características. — Datos horarios. — Información en tiempo real.	— Complejos. — Costosos. — Requieren gran adiestramiento. — Costes elevados.

TABLA 1. *Ventajas e inconvenientes de las técnicas de medida, de contaminantes atmosféricos* (cont.)

Método	*Ventajas*	*Inconvenientes*
Sensores remotos	— Dan datos en un determinado espacio. — Útil cerca de las fuentes. — Medidas de multicomponentes.	— Muy complejos. — Difíciles de operar, calibrar y validar. — No siempre comparables con medidas puntuales.

REQUISITOS DE LA CAPTACIÓN

Métodos discontinuos

Para los métodos discontinuos, lo esencial es que llegue al laboratorio, el 100% (o porcentaje conocido) del contaminante que existía en el aire muestreado. Para una buena captación se requiere:

- Utilización de un dispositivo de medida de volumen de la muestra de aire. Un dispositivo de esta naturaleza debe calibrarse con tanto cuidado como se calibraría un aparato de vidrio para volumetrías, porque estos dispositivos realizan la medida por volumetría.
- Utilización de un soporte de muestreo, que es en general un filtro o una solución absorbente, para retener el material contaminante. La eficiencia real del soporte tiene que determinar experimentalmente de manera que el analista pueda calcular el peso verdadero o el volumen de contaminante, como si todo o el 100% hubiese sido retenido. En relación con esto, hay que señalar que muy pocos soportes de muestreo operan con un 100% de eficiencia, aunque unos soportes dispuestos en serie se acercan a la captación de muestras perfectamente eficaz al combinar sus eficiencias.

  La mejor manera de determinar la eficiencia es mediante la utilización de una mezcla de un contaminante conocido y aire como muestra patrón. El porcentaje de contaminante captado en el soporte (por ejemplo, el 80%) proporciona la eficiencia de captación.

  Si no se dispone de un contaminante «conocido» se puede hacer una determinación aproximada de la eficiencia si se supone que se ha recogido el 100% en el total de los soportes y determinar la eficiencia del primer soporte de muestreo.
- Utilización de una bomba que aporte un caudal constante de aire al captador. Una acusada variación en el caudal debida a la fatiga de la bomba, durante el proceso de muestreo conduce a volúmenes de muestra

erróneas, si es que se emplea un promedio en el tiempo para calcular el volumen de la muestra partiendo de los caudales «inicial» y «final» medidos y del tiempo de muestreo.

Métodos continuos

Lo fundamental en la captación de contaminantes atmosféricos por métodos continuos es el diseño de la línea de muestreo o distribuidor, la cual determina, efectivamente, la exactitud y credibilidad de las medidas realizadas. A este respecto, hay que señalar, los dos tipos más importantes de distribuidores existentes:

- Diseño de flujo laminar vertical. En el diseño de flujo laminar vertical, la muestra de aire no debe reaccionar con las paredes de la toma de muestra, por lo que la toma de muestra deber ser inerte. Se pueden usar materiales como vidrio, acero inoxidable, acero galvanizado, teflón y PVC.

  Las ventajas de este distribuidor son:

  — Se puede limpiar fácilmente.

  — Se pueden realizar varias tomas de muestras a lo largo del tubo dependiendo de las características del distribuidor.

  Como inconveniente, se cita la dificultad de producir un flujo laminar debido a las juntas curvas del distribuidor. En la práctica, no es muy usado.

- Diseño de distribuidor convencional. También los materiales deben ser inertes. Este diseño consiste en una sección modular con tubos en forma de «caña de azúcar» y conectada a un tubo vertical mediante una junta en T. El tubo vertical pasa a través del techo de la caseta y se eleva entre 1 y 2 metros. Este sistema debe ser tan corto como sea posible para evitar pérdidas de partículas.

En las casetas donde hay instalados equipos automáticos de medida de la contaminación atmosférica, es de esencial importancia el control de la temperatura, debido a que algunos analizadores de gases tienen un significativo coeficiente de respuesta a la temperatura, e incluso algunos ven afectado su funcionamiento en extremos de temperatura. Por ello, se necesita un adecuado control térmico de los equipos, mediante el uso de acondicionadores de aire.

SISTEMAS Y EQUIPOS DE MUESTREO

Muestreadores pasivos

En los muestreadores pasivos no se fuerza el aire a pasar al muestreador por medio de una bomba como sucede con los activos. Se basa en la difusión de los contaminantes hacia la superficie del muestreador. Después del período de muestreo (generalmente semanas) se realiza una extracción y posterior análisis.

Los captadores pasivos se rigen por la primera ley de Fick y se basa en que las especies moleculares dispersan en el aire a una concentración C difunden en el espacio del siguiente modo:

$$\frac{dm}{dt} = DS\frac{dC}{dl} \quad (1)$$

siendo:

- m masa de gas que difunde a través de la sección S, en moles (moles).
- D coeficiente de difusión del gas, en centímetros cuadrados por minuto (cm^2/min).
- C concentración ambiental del gas, en moles por centímetro cúbico (moles/cm^3).
- l longitud de difusión, en centímetros (cm).
- S superficie de difusión, en centímetros cuadrados (cm^2).
- t tiempo de difusión, en minutos (min).

La superficie de difusión en el captador pasivo utilizado le corresponde a un cilindro, de radio «r», en centímetros, y de altura «h», en centímetros, siendo el valor de $S = 2\ \pi fh$.

Sustituyendo el valor de la superficie en (1), se tiene:

$$\frac{dm}{dt} = D\,2\pi rh\frac{dC}{dl} \quad (2)$$

Integrando la ecuación anterior con respecto al tiempo y al espacio, queda:

$$\frac{m}{t} = D\frac{2\pi h}{\ln\frac{r}{r_a}}C = DkC \quad (3)$$

siendo:

r radio del cilindro o cuerpo difusivo, en centímetros (cm).

r_a radio del cartucho cilíndrico adsorbente, en centímetros (cm).

k constante geométrica del captador.

Si Dk = Q, la ecuación (3) puede escribirse como:

$$\frac{m}{t} = Q \,.\, C$$

y despejando el valor de C, queda:

$$C = \frac{m}{Q \,.\, t}$$

siendo:

Q el coeficiente de captación, en dimensiones de flujo de gas (cm^3/min).

Muestreadores activos

Los principales muestreadores activos se pueden clasificar en:

Captadores de gases y partículas.

Captadores de partículas.

Captadores de precipitación.

Captadores de Compuestos Orgánicos Volátiles (COV).

Captadores de gases y partículas

Captador de pequeño volumen (Orden Ministerial de 10 de agosto de 1976)[1)].

Se emplea para la toma de muestras de partículas en suspensión en el aire y para las muestras de gases, pudiéndose emplear al mismo tiempo para ambos.

Consiste en un equipo formado por los siguientes elementos:

- Filtro para la retención de partículas.
- Borboteador para recoger la muestra de gases.
- Contador de gas.
- Bomba aspirante.

Las características de cada uno de estos elementos son las siguientes:

Filtro

Se utilizan diferentes clases de filtros (papel, fibra de vidrio, etc.) colocándose en un soporte especial a la entrada del aire captado.

El soporte está constituido por dos valvas metálicas o de material plástico, con un conducto para la entrada del aire aspirado, en medio de las cuales se coloca el filtro que después se cierra herméticamente por cualquier sistema de fijación.

Borboteador

Como recipiente para la recogida de contaminantes gaseosos se utiliza un frasco lavador de gases, tipo Dreschsel, de vidrio resistente, incoloro (borosilicato), cuya capacidad dependerá del contaminante que se desee determinar y del método que se vaya a utilizar para el análisis.

Contador de gas

Para conocer el volumen de aire muestreado y referir al mismo los resultados obtenidos en los análisis se utiliza un pequeño contador seco que pueda medir un caudal de aire de uno y medio a tres litros por minuto.

Bomba aspirante

Se utiliza una bomba de membrana, movida por un motor eléctrico de potencia adecuada, capaz de aspirar de dos a cuatro metros cúbicos en 24 horas.

Los distintos elementos del equipo se conectan mediante tubos de vidrio o de material plástico inerte y preferiblemente de 8 mm de diámetro interior.

La comunicación con el exterior se hace mediante un tubo de material plástico desde la entrada del portafiltros, terminado en el extremo opuesto en un embudo de un diámetro comprendido entre 3 y 5 cm.

Procedimiento de utilización

Para cada contaminante específico se introduce en el portafiltros, el filtro correspondiente y en el borboteador la solución captadora adecuada. Se anota la lectura del contador, se pone en funcionamiento la bomba y una vez trans-

currido el tiempo de toma de muestra se para, apuntando la nueva lectura del contador. La diferencia de las lecturas determina el volumen del aire captado.

Se ha utilizado para la determinación de dióxido de azufre y humo, siendo la ténica patrón en España hasta el 1-1-2005 en que entra en vigor el Real Decreto 1073/2002 de 18 de octubre[2)]; siendo sustituido por un método automático de fluorescencia de UV.

Captadores de partículas

Captador de alto volumen (Orden Ministerial de 10 de agosto de 1976)[1)].

El siguiente sistema de toma de muestra se usa para la determinación gravimétrica de partículas en suspensión, de tamaño superior a 0,1 micra. Consta de:

- Soporte para el filtro.
- Conjunto de aspiración.
- Gasómetro o contador.

Soporte para el filtro

Consiste en un cuerpo con forma troncocónica, en cuya base se sitúa una rejilla metálica sobre otras dos para tener suficiente resistencia mecánica a la depresión que ha de soportar.

Conjunto de aspiración

Consiste en una canalización que partiendo de la base inferior del filtro pone a este en comunicación con la aspiración de un equipo motobomba de vacío.

Su caudal está comprendido entre 40 y 60 metros cúbicos por hora.

- 40 m^3/h con filtro.
- 60 m^3/h sin filtro.

Gasómetro contador

Con capacidad para medir 60 m^3/h y cuenta con un visor de lectura digital acumulable, o con dispositivo de puesta a cero.

Todo el conjunto queda montado sobre un bastidor, con todos sus elementos accesibles. En condiciones climáticas extremas debe preverse un sistema de

ventilación o calefacción, de forma que la temperatura interior quede comprendida entre –2º C y + 50º C.

Puesta en funcionamiento

Se coloca el filtro, se conecta el interruptor de marcha del grupo motobomba regulando las llaves y válvulas hasta que el rotámetro indique el caudal deseado, y se anota el día, hora y la lectura del contador. Una vez transcurrido el período de muestra, se para la bomba procediendo a una nueva anotación del día, hora y lectura del contador. Por diferencia de lecturas se determina el intervalo de tiempo transcurrido y el volumen de aire desplazado.

Existe un captador de alto volumen con medición por caudalímetro, que es similar al anterior, pero que en vez de gasómetro tiene caudalímetro, el cual sólo da volumen de aire por hora en vez de volumen total. Esto no es del todo correcto, pues al principio pasa más aire y al final, por estar el filtro muy tupido, el volumen de aire que pasa es menor.

Este captador se ha utilizado como técnica patrón para la determinación de Partículas en Suspensión Totales hasta 1-1-2005 en que entra en vigor el Real Decreto 1073/2002[2)], siendo sustituido por la Norma UNE-EN 12341:1999[3)] de determinación de partículas PM_{10}.

Captador de material sedimentable

(Orden Ministerial de 10 de agosto de 1976)[1)] (Derogado por Real Decreto 1073/2002)[2)].

Toma muestra que se utiliza para la determinación de partículas sedimentables. Éstas se depositan por gravedad en el interior de un frasco colector.

Los elementos que componen el equipo son:

- Soporte: Es un trípode de 1,35 m de altura.
- Rejilla protectora para evitar la entrada de insectos, hojas, etc., de 25 mm de malla.
- Depósito colector de vidrio o acero inoxidable de 315 mm de diámetro (D). Debe llevar un factor F marcado sobre el embudo colector, este factor multiplicado por el peso total del residuo captado (mg) da los mg/m^2.

$$F = \frac{127,3 \times 10^4}{D^2}$$

Los mg/m^2 obtenidos se dividen por el número de días que ha durado el muestreo, obteniendo así los mg/m^2 día de partículas sedimentables que nos permite comparar con el límite legal establecido para este parámetro.

- Frascos colectores. Son de vidrio o plástico de 10 a 20 litros de capacidad.

El período de recogida de muestras es habitualmente de un mes natural.

Captadores de partículas torácicas (PM_{10})

(Real Decreto 1073/2002[2)]; UNE-EN 12341:1999)[3)].

Interesan dos tamaños de partículas (UNE 77213:1997): la fracción torácica que son aquellas partículas inhaladas que pueden atravesar la laringe y tienen un diámetro inferior a 10 mm y la fracción respirable que son aquellas partículas inhaladas que pueden atravesar las vías respiratorias no ciliadas y tienen un diámetro inferior a 2,5 mm.

A este respecto el Real Decreto 1073/2002[2)], relativa a los valores límite de dióxido de azufre, dióxido de nitrógeno y óxidos de nitrógeno, partículas, plomo, benceno y monóxido de carbono en aire ambiente, establece valores límites para partículas PM_{10}.

En el Anexo XI de este Real Decreto se cita que el método de captación será la norma UNE-EN 12341:1999[3)]. Esta norma, desarrollada a través de intercomparaciones de los sistemas captadores de partículas PM_{10} existentes en Europa y el de referencia EPA, designó por comparación frente a un captador de superalto volumen WRAC (Wide Range Aerosol Classifier), considerado de referencia por la Comisión Europea para este ensayo, a dos captadores PM_{10} de referencia (Anexo B de la norma UNE-EN 12341:1999)[3)].

Captador de referencia de bajo volumen LVS PM_{10}

Caudal de aspiración 2,3 m^3/h.

El cabezal de muestreo se muestra en la Figura 1.

Las partículas se aspiran a través de la abertura circunferencial entre el armazón y la tapa redonda montada encima. Debe utilizarse una cubierta para proteger la aspiración de la lluvia y nieve.

Dentro del cabezal de muestreo, el flujo de aire es acelerado a través de ocho boquillas impactoras y dirigido después hacia la superficie de impactación. A continuación, el flujo de aire es conducido mediante un tubo al portafiltro. El portafiltro debe ser adecuado para la inserción de filtros circulares con diámetros entre 47 mm y 50 mm. El diámetro del área libre del aire muestreado que pasa a través del filtro debe estar entre 40 mm y 41 mm.

Las boquillas impactoras y la superficie de impactación deben limpiarse regularmente. Posteriormente, la superficie de impactación debe engrasarse, preferiblemente usando grasa de silicona de vacío (media). La limpieza y engrasado debe realizarase, al menos, cada veinte muestreos. Dependiendo de la concentración de PM_{10}, la limpieza y engrasado debe tener lugar más frecuentemente (hasta cada cinco muestreos). Para facilitar la limpieza y engrasado, el cabezal de muestreo debe construirse de manera que la placa de impactación pueda ser separada del armazón.

El instrumento de muestreo debe ser capaz de aguantar condiciones climáticas externas. Por ejemplo, el cabezal de muestreo y el portafiltro de muestreo pueden estar hechos de aluminio anonizado y acero inoxidable; el portafiltro puede también ser de material plástico, como policarbonato.

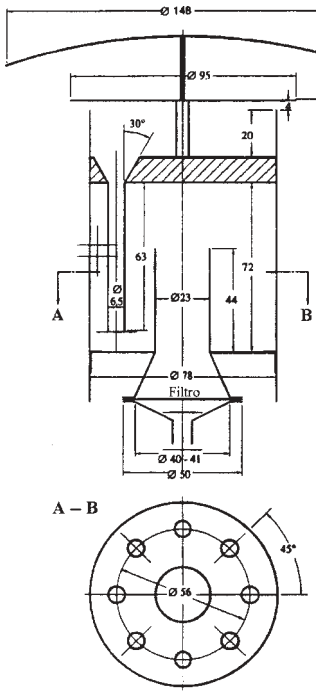


FIGURA 1. *Diseño del cabezal de muestreo PM_{10} del LVS de 2,3 m^3/h (dimensiones en milímetros).*

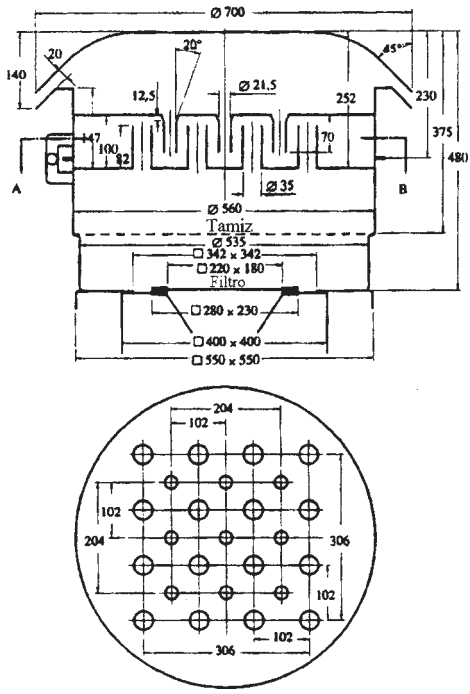


FIGURA 2. *Diseño del cabezal de muestreo PM_{10} del HVS de 68 m^3/h (dimensiones en milímetros).*

Captador de referencia de alto volumen HVS

Caudal de aspiración 68 m^3/h.

El cabezal de muestreo se muestra en la Figura 2.

La materia particulada en suspensión es aspirada a través de la abertura circunferencial de la parte (caperuza) superior. Dentro del cabezal de muestreo, el flujo de aire se acelera a través de nueve boquillas impactoras y después es dirigido hacia la superficie de impactación. Posteriormente, el flujo de aire es conducido mediante 16 tubos a través de un tamiz al portafiltro. El portafiltro debe ser adecuado para la inserción de un filtro rectangular de 203 mm × 254 mm de tamaño. El área libre del aire muestreado que pasa a través del filtro debe ser de 180 mm × 220 mm.

Las boquillas impactoras y la superficie de impactación deben limpiarse regularmente. Posteriormente, la superficie de impactación hasta el borde del armazón debe engrasarse, por ejemplo, con una gruesa capa de vaselina. La limpieza y engrasado debe realizarse al menos cada 20 muestreos. Dependiendo de la concentración de PM_{10}, la limpieza y el engrasado debe tener lugar más frecuentemente (hasta cada cinco muestreos). Para facilitar la limpieza y engrasado, el cabezal de muestreo tiene que estar construido de manera que el impactor puede ser abierto mediante una bisagra.

El instrumento de muestreo debe ser capaz de aguantar condiciones climáticas externas. Por ejemplo, el cabezal de muestreo y el portafiltro pueden estar hechos de aluminio anonizado.

Consideraciones para su manejo y equivalencia

El **caudal** de funcionamiento debe estar calibrado y tener una incertidumbre inferior al 2%. La calibración se puede realizar externamente por una empresa acreditada UNE-EN ISO/IEC 17025[4)] para caudal en el rango adecuado o mediante un calibrador de caudal igualmente calibrado externamente por empresa acreditada. Como la incertidumbre de operación debe ser inferior al 2%, es recomendable que la incertidumbre de la calibración del captador no supere el 1%.

A este respecto en la elección del captador a usar en la captación de partículas PM_{10} hay que tener en cuenta la disponibilidad o existencia de laboratorio acreditado para el caudal del captador que se va a usar.

Se pueden utilizar **captadores equivalentes** a los de referencia. La demostración de la equivalencia la ha de realizar un laboratorio acreditado según UNE-EN ISO/IEC 17025[4)] para la norma UNE-EN 12341:1999[3)], con dos captadores candidatos y uno de referencia. En esta norma la equivalencia al de referencia de los captadores candidatos se centra en los siguientes aspectos:

a) Comparabilidad de los captadores candidatos

A partir de la incertidumbre entre medidas duplicadas del par de captadores candidatos colocados.

b) Comparabilidad del captador candidato y de referencia

A partir de la llamada función de equivalencia al de referencia que describe la relación entre las concentraciones másicas medidas por el candidato y el captador de referencia, respectivamente.

Emplazamiento para el ensayo. Cuando se seleccionan los emplazamientos para el ensayo debe considerarse la integridad del lugar en una escala macroambiental (por ejemplo, tipo de localización) y en una escala microambiental (por ejemplo, área que directamente rodea la estación).

Para una escala macroambiental, la(s) localización(es) del ensayo debe seleccionarse de forma que represente tanto situaciones encontradas comúnmente como extremas. La proporción de PM_{10} con respecto a la materia particulada en suspensión, junto con la concentración másica de PM_{10} sirve como indicación de la situación característica bajo consideración:

a) el rango de concentraciones PM_{10} debe cubrir al menos 150% del valor límite pertinente del Real Decreto 1073/2002[2)],

b) la proporción de PM_{10} con respecto a la materia particulada en suspensión debe variar entre una muy alta contribución (por encima del 90%) y alrededor del 50%.

Para una escala microambiental, el captador candidato y el captador de referencia deben investigar la misma proporción de PM_{10} a la materia particulada en suspensión bajo las mismas condiciones ambientales, de manera que produzcan datos comparables. Como mínimo, deben seguirse las siguientes reglas básicas:

c) el flujo alrededor del cabezal de muestreo debe ser no restringido, sin ningún obstáculo (tales como balcones, árboles, superficies verticales o paredes, etc.) que afecten el flujo de aire en la vecindad del captador;

d) los cabezales deben estar bien alejados entre sí, a fin de evitar interferencias mutuas en los procesos de muestreo (por ejemplo, alejados de otros escapes de la bomba de muestreo);

e) todos los cabezales deben estar colocados a la misma altura (entre 1,5 m y 8 m) sobre el nivel del suelo;

f) los cabezales deben colocarse lejos de fuentes locales para evitar penacho (por ejemplo, alejados de chimeneas que sirven para la propia calefacción doméstica del emplazamiento de ensayo).

Una vez que el tipo de localización ha sido determinado, la selección de los emplazamientos de ensayo verdaderos deben tener en cuenta un número de factores, en aspectos operacionales concretos (accesibilidad, seguridad frente al vandalismo, protección frente a condiciones meteorológicas externas) y aspectos de infraestructura (electricidad y teléfono).

El número de medidas obtenidas en el ejercicio de comparación entre cada uno de los captadores candidatos y el de referencia debe ser, al menos, de cuarenta en total. Las medidas deben cubrir un rango de condiciones ambientales encontradas comúnmente en la Unión Europea, en particular considerando la velocidad del viento (baja frente a alta) y la humedad relativa (baja frente a alta).

Captadores de partículas respirables

(UNE-EN 14907:2006)[5)]

El Real Decreto 1073/2002[2)], relativo a los valores límite de dióxido de azufre, dióxido de nitrógeno y óxidos de nitrógeno, partículas, plomo, benceno y monóxido de carbono en aire ambiente, establece en su artículo 9 la necesidad de realizar mediciones de $PM_{2,5}$ en los mismos puntos donde se miden PM_{10} y en el Anexo XI del mismo se cita que el método de captación estaba siendo normalizado por CEN, siendo actualmente la Norma UNE - EN 14907:2006[5)]. Esta norma desarrollada a través de intercomparaciones de los sistemas captadores de partículas $PM_{2,5}$ existentes, designó dos captadores $PM_{2,5}$ de referencia.

Captador de referencia de bajo volumen LVS $PM_{2,5}$

Con caudal de aspiración de 2,3 m^3/h y el funcionamiento es similar al del cabezal de muestreo para PM_{10}.

Captador de referencia de alto volumen HVS $PM_{2,5}$

Con caudal de aspiración de 30 m^3/h.

Características de los componentes

Tubo de conexión. Los requisitos del tubo de conexión entre el cabezal y el portafiltro son para minimizar las pérdidas por deposición de materia particulada debidas a procesos cinéticos, así como las pérdidas debidas a procesos térmicos, químicos o electrostáticos. Debe evitarse el contacto del aire muestreado con superficies frías que podrían causar condensaciones.

También, la conexión debe diseñarse para minimizar el efecto del calentamiento solar, de manera que la muestra de aire se mantenga tan cerca como sea posible de la temperatura ambiente.

La temperatura del tubo de conexión debería mantenerse tan próxima a la temperatura ambiente como sea posible. La desviación de la temperatura debe ser inferior a ± 5º C (preferiblemente medida directamente detrás del filtro).

> NOTA: Este requisito puede cumplirse para el LVS colocando una vaina de protección del aire ambiente alrededor de la conexión entre el cabezal y el filtro, lo más próximo al filtro. Para el HVS, la alta velocidad del aire en el interior de la conexión es generalmente suficiente para cumplir el requisito.

La velocidad del flujo en el tubo, determinada por el diámetro del mismo, previene pérdidas significativas debidas a la difusión o impactación inercial turbulenta.

El tubo no debe tener curvas y ser vertical.

La longitud del tubo de conexión entre el cabezal y el portafiltro no debe ser mayor de 3 m.

El tubo de conexión debe estar hecho, preferiblemente, de un material inerte, no corrosivo y conductor de la electricidad, tal como acero inoxidable o aluminio anodizado.

Portafiltro y filtro. El portafiltro debe estar hecho de un material inerte y no corrosivo, tal como acero inoxidable o aluminio anodizado. También pueden usarse materiales plásticos como policarbonato, POM (polioximetileno) o PTFE (politetrafluoroetileno).

El portafiltro debe diseñarse de modo que la temperatura del portafiltro y el filtro se mantenga tan cerca como sea posible de la temperatura ambiente. Debe minimizarse el efecto de las fuentes de calor, tales como radiación solar y elementos enfriadores, como aparatos eléctricos (por ejemplo, la bomba de aspiración) y acondicionadores de aire. Durante los períodos estaciónales cálidos, por ejemplo en primavera, verano y otoño, la temperatura que alcanza el filtro de muestra debe limitarse a menos de 5º C por encima de la temperatura del aire ambiente que rodea al captador, mediante la incorporación de medidas de temperatura, preferiblemente directamente detrás del filtro.

Los filtros deben estar hechos de fibra de vidrio, fibra de cuarzo, PTFE o fibra de vidrio recubierto de PTFE.

Los filtros deben tener una eficiencia de separación de al menos 99,5% para un diámetro aerodinámico de 0,3 μm.

NOTA: Se recomienda que los fabricantes de filtros determinen la eficiencia de separación del filtro, de acuerdo con métodos normalizados.

Para el LVS, el portafiltro debe ser adecuado para la inserción de filtros circulares, por lo que el diámetro del área libre a través de la cual pasa el aire muestreado debe estar entre 34 mm y 41 mm.

Para el HVS, el portafiltro debe ser adecuado para la inserción de filtros circulares, por lo que el diámetro del área libre a través de la cual pasa el aire muestreado debe estar entre 135 mm y 143 mm.

El soporte del filtro debe estar hecho de rejilla de material de acero inoxidable, policarbonato, POM o PTFE.

Sistema de control de flujo. El sistema de flujo para captación de muestras debe proporcionar el caudal necesario para la correcta selección de tamaño en el cabezal, y también un volumen conocido muestreado para el cálculo de la concentración de $PM_{2,5}$. El sistema de control de flujo debe estar de acuerdo con los principios físicos básicos.

Como el volumen muestreado debe expresarse en las condiciones del aire ambiente próximas al cabezal $PM_{2,5}$, el control de flujo debe ser tal que el volumen muestreado de aire en condiciones ambientales por unidad de tiempo se mantenga constante, por incorporación de las medidas de temperatura y presión en una localización representativa en aire ambiente. El caudal medido por el sistema de control de flujo instalado después del filtro que se muestrea debe convertirse a condiciones ambientales de acuerdo a la Ley de los gases ideales.

El caudal volumétrico a través del cabezal debe ser controlable a un valor nominal de 2,3 m^3/h en condiciones ambientales para el cabezal normalizado LVS, y 30 m^3/h para el cabezal normalizado HVS. El valor instantáneo del caudal debe mantenerse constante dentro del 5% del valor nominal en condiciones ambientales.

El caudal volumétrico medio durante el período de medida debe estar dentro del 2% del valor nominal.

Captadores de Compuestos Orgánicos Volátiles (COV)

Captación en trampas

Los tubos de absorción de carbón o tenax son usados comúnmente para captar muchos componentes orgánicos gaseosos. Diversos investigadores han

encontrado eficacia de captación del 95% por este método para hidrocarburos alifáticos independientemente del caudal de muestreo.

Los gránulos de carbón son empaquetados en tubos de vidrio de una longitud de 5-10 cm. El tubo es tapado en un extremo por un tapón de lana de vidrio, siendo recomendable ajustar los tapones de manera que tengan una presión de 46-53 mbar, evitando así las perdidas de contaminante cuando se muestrea a un caudal de 2 L/min.

El tiempo de muestreo se determina experimentalmente de manera que se obtenga una muestra suficiente para el análisis.

Captación en canister

Los canister son botellas de acero inoxidable de diferentes capacidades volumétricas, cuyo interior está teflonado o electropulido. En ellas se introduce la totalidad del aire mediante vacío o presión.

Analizadores automáticos

En los analizadores automáticos se toma y se analiza la muestra en tiempo real, siendo específicos de cada contaminante y basados por lo general en fundamentos físicos tales como la absorción o emisión de radiaciones de una longitud de onda determinada.

Los principios de funcionamiento de los principales analizadores automáticos se dan mas adelante.

Sensores remotos

Están basados en un emisor de radiaciones de diferentes longitudes de onda y un receptor, separados ambos por una distancia que puede oscilar entre 200 m y varios kilómetros. Los contaminantes presentes en ese camino óptico absorben estas radiaciones y esta absorción es posteriormente cuantificada. Son los sistemas más costosos en contaminación atmosférica y requieren gran atención en cuanto a su adecuada calibración, control de calidad y validación de los datos.

Conservación de muestras

Las muestras sólo se conservan en el caso del análisis discontinuo, pues como ya se ha dicho, en el análisis continuo la muestra es captada y analizada en tiempo real en el lugar de captación.

En la metodología discontinua existen, básicamente, tres tipos de muestras que van a ser transportadas al laboratorio y que son: gases, partículas y precipitación. Las dos primeras matrices existen tanto en emisión como en inmisión, mientras que la última es específica de inmisión.

Antes de ser transportadas al laboratorio, dependiendo de los objetivos de la medida y a fin de optimizar recursos, puede ser conveniente hacer un almacenamiento previo al envío al laboratorio. Durante este almacenamiento la muestra tiene que permanecer inalterada, por lo que en algunos casos se ha de requerir almacenamiento a temperatura controlada y preservada de toda contaminación. Como regla general, salvo algunas excepciones las muestras de gases captados es recomendable guardarlas en nevera ($\approx 4^{\circ}$ C) y como máximo una semana desde su captación hasta ser enviada al laboratorio.

Las partículas captadas deben ser mantenidas antes de su envío en lugar seco y protegido de toda contaminación. En el caso de que se vayan a analizar Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP) se guardará en congelador o nevera.

Muestra de gases

La muestra de gases puede llegar al laboratorio, dependiendo del método de análisis por el cual vaya a ser identificada posteriormente, de las siguientes formas.

- Captada en medio líquido, por borboteo del aire en una solución captadora adecuada, en la cual el gas se habrá disuelto o habrá reaccionado. Es el caso más usual.
- Captada en medio filtrante, previamente impregnado con solución captadora adecuada.
- Captada en un medio adsorbente, como carbón o tenax. Se usa principalmente para COV (Compuestos Orgánicos Volátiles).
- Introducida en un canister. En este caso es una muestra de aire sin captar y se utiliza para determinar COV.

En todos los casos, la muestra debe llegar al laboratorio perfectamente identificada y en el tiempo y condiciones de transporte requerido en el método.

Muestra de partículas

Las partículas son siempre recogidas en filtros. Debido a que las partículas están depositadas en una de las caras del filtro, hay que tener mucho cuidado de que la materia particulada no quede adherida al medio de transporte. Se pueden utilizar tres sistemas:

- Caja Petri de un diámetro adecuado al diámetro del filtro. Es el mejor sistema tanto para partículas que van a ser medidas por gravimetría como para partículas medidas como «humo normalizado equivalente».
- Sobre de papel, donde se introducirán los filtros captados doblados por la mitad (nunca los filtros sin captar pues se romperían las fibras y se alteraría la captación). Sirve para partículas que se van a determinar por gravimetría y filtros grandes.
- Papel de aluminio. Consiste en envolver el filtro sin romper, en papel de aluminio y se utiliza en las partículas en las que se van a determinar posteriormente HAP.

Manipulación de muestras previa al análisis

Las muestras, una vez recepcionadas y aceptadas, han de ser manipuladas de manera que se asegure su no contaminación y su perfecta identificación. En el caso de que las muestras hayan de ser analizadas por diferentes unidades analíticas, es recomendable disponer de un registro de distribución de muestra y establecer un orden de reparto o de prioridades.

Conservación de muestras previa al análisis

El almacenamiento de muestras se realiza en las condiciones adecuadas. Por ejemplo: nevera para muestras de precipitación, cámara de acondicionado para filtros de partículas que van a ser determinadas posteriormente por gravimetría. Aquellas muestras que no requieran condiciones especiales de almacenamiento, se colocan en zonas aisladas de posible contaminación y/o alteración hasta el momento de su análisis.

3. ANÁLISIS

Procedimientos de trabajo

Para el análisis de contaminantes atmosféricos en aire ambiente existen normas ISO, UNE y EN, así como reglamentación oficial. En las normas es de señalar que las normas de «inmisión» se presentan como calidad del aire y aire ambiente.

Técnicas empleadas

Análisis discontinuos

Las técnicas más empleadas en el laboratorio, una vez que ha sido recepcionada la muestra son:

— Gravimetría.

— Potenciometría.

— Conductividad.

— Espectrofotometría de UV/visible.

— Espectrometría de AA.

— Cromatografía iónica.

— Cromatografía de gases-espectrometría de masas.

— Cromatografía de líquidos de alta resolución.

— Fluorescencia de Rayos X/Difracción de Rayos X.

En la Tabla 2 se presentan esquemáticamente las técnicas más utilizadas para las diferentes matrices.

TABLA 2. *Técnicas más empleadas en el análisis discontinuo*

Técnica	*Gases*	*Partículas*	*Precipitación*
Gravimetría/Reflectometría		X	
Potenciometría/Conductimetría	X	X	X
Espectrofotometría UV/vis	X	X	X
Espectrometría de AA		X	X
ICP		X	X
Cromatografía iónica	X	X	X
Cromatografía gases - Esp. masas	X	X	X
Cromat. líquidos alta resolución	X	X	
FRX/DRX		X	

Aunque algunos contaminantes atmosféricos pueden ser evaluados por diferentes técnicas, habrá de elegirse aquella más adecuada.

Al ser estas técnicas comúnmente usadas en los laboratorios de análisis químico, no van a ser descritas, aunque es conveniente la más específica de contaminación atmosférica que es la determinación gravimétrica de partículas. Para la

misma se requiere una balanza analítica y un laboratorio o cuarto de balanza con temperatura y humedad relativa controladas.

Si la determinación se realiza según la Orden de 10 de agosto de 1976, sobre normas técnicas para análisis y valoración de contaminantes de naturaleza química (Anexo 4, derogado por Real Decreto 1073/2002[2]) la balanza debe tener una resolución de 0,0001 g y los filtros deben estar durante al menos 24 horas antes de pesarse en un cuarto con temperatura de 22° C ± 2° C y humedad relativa inferior a 45%.

El Real Decreto 1073/2002 en su Anexo XI establece como método de análisis para partículas PM_{10}, la norma UNE-EN 12341:1999[3], la cual en su Anexo C (normativo) sobre filtro y procedimientos de pesada, establece que la resolución de la balanza debe ser al menos de 0,000 01 g, y los filtros deben estar durante 48 horas en un cuarto con una temperatura de 20° C ± 1° C y humedad relativa de 50% ± 5%.

Asimismo, la Norma UNE-EN 14907:2006[5], para determinación de partículas $PM_{2,5}$, establece resolución de la balanza igual o mejor de 10 mg para filtros utilizados en el sistema LVS o igual o mejor de 100 mg para filtros utilizados en el sistema HVS.

En esta norma es necesario la verificación del correcto funcionamiento de la balanza con pesas de referencia con masas similares a los filtros y con filtros blancos de referencia del mismo tamaño y material que los usados en la medida.

Los filtros limpios deben acondicionarse en el cuarto de pesada durante un mínimo de 48 horas antes de pesar y pesarse dos veces, con un intervalo de, al menos, 12 horas para confirmar que el peso del filtro es estable.

Los filtros cargados deben estar en el cuarto de pesada durante un mínimo de 48 horas antes de pesar, y después otra vez una posterior de 24 a 72 horas para confirmar su estabilidad.

Las condiciones climáticas del cuarto de balanza son similares a la de la Norma UNE-EN 12341:1999[3] para determinación de partículas PM_{10}.

En la **validación** de los métodos de análisis discontinuos de contaminantes atmosféricos hay que tener en cuenta además de los parámetros de validación comunes a cualquier método, la determinación de la eficiencia de captación y eficiencia de concentración o extracción.

Análisis continuos

Las técnicas de análisis continuos implican metodología específica del contaminante atmosférico a medir. Básicamente, las técnicas utilizadas en la actualidad en aire ambiente están definidas en la Tabla 3.

TABLA 3. *Técnicas de análisis continuo en aire ambiente*

Contaminante	*Técnica*	*ISO*	*UNE*	*EN*
Dióxido de azufre	Fluorescencia de UV	10498[6)]	UNE-ISO 10498[7)]	14212[8)]
Dióxido de nitrógeno	Quimioluminiscencia	7996[9)]	77212[10)]	14211[11)]
Monóxido de carbono	*Absorción de infrarrojo*	4224[12)]	77252[13)]	14626[14)]
Ozono	Absorción UV	13964[15)]	77221[16)]	14625[17)]
Benceno		—	—	14662-3[18)]
Partículas	Absorción de radiación β	10473[19)]	UNE-ISO 10473[20)]	—
	Transductor de elemento oscilante	—	—	—

Los fundamentos de estas técnicas son:

Dióxido de azufre por fluorescencia de UV

La fluorescencia de UV (ultravioleta) se basa en la emisión de luz por las moléculas excitadas de SO_2 por radiación UV cuando vuelven a su estado fundamental:

El primer paso de la reacción es

$$SO_2 + h\nu \rightarrow SO_2 * \qquad (4)$$

Después en el segundo paso, la molécula excitada de SO_2* vuelve a su estado fundamental, emitiendo una energía hν', de acuerdo con la reacción:

$$SO_2 * \rightarrow SO_2 + h\nu' \text{ (UV)} \qquad (5)$$

La intensidad de la radiación fluorescente es proporcional al número de moléculas de SO_2 en el volumen de detección y es por tanto proporcional a la concentración de SO_2.

Por tanto:

$$F = k \times c_{SO_2} \qquad (6)$$

donde:

F es la intensidad de la radiación fluorescente;

k es el factor de proporcionalidad;

C_{SO_2} es la concentración de SO_2

Antes de entrar la muestra de aire en el analizador de fluorescencia, se pasa a través de un filtro a fin de excluir las interferencias causadas por la contaminación con partículas.

El aire muestreado se pasa por un «scrubber» para eliminar cualquier interferencia de hidrocarburos aromáticos que puedan estar presentes. Para conseguir esto, se usa un dispositivo «scrubber» de hidrocarburos.

El aire muestreado se introduce entonces en una cámara de reacción, donde es irradiado por luz UV en el rango de longitudes de onda entre 200 nm y 220 nm. La luz fluorescente UV emitida en el rango de longitudes de onda de 240 nm a 420 nm se filtra ópticamente y después se convierte a una señal eléctrica por un detector UV, por ejemplo, un tubo fotomultiplicador.

La respuesta del analizador es proporcional al número de moléculas de SO_2 en la cámara de reacción. Por ello, tienen que mantenerse constantes la temperatura y la presión, o si existen variaciones en estos parámetros, tienen que corregirse los valores medidos.

La concentración de dióxido de azufre se mide directamente en unidades volumen/volumen si el analizador se calibra usando un patrón volumen/volumen y los resultados finales se expresan en $\mu g/m^3$.

Dióxido de nitrógeno por quimioluminiscencia

La quimioluminiscencia se basa en la reacción del monóxido de nitrógeno con ozono. En un analizador por quimioluminiscencia se hace pasar el aire a través de un filtro (para prevenir la contaminación del sistema que transporta el gas, especialmente los componentes ópticos del analizador) y llega a un flujo constante a la cámara de reacción del analizador, donde se mezcla con un exceso de ozono para la determinación sólo de monóxido de nitrógeno. La radiación emitida (quimioluminiscencia) es proporcional al número de moléculas de monóxido de nitrógeno en el volumen de detección y por tanto proporcional a la concentración de monóxido de nitrógeno. La radiación emitida se filtra mediante un filtro óptico selectivo y se convierte en señal eléctrica mediante un tubo fotomultiplicador o un fotodiodo.

Para la determinación de dióxido de nitrógeno, se pasa el aire muestreado a través de un convertidor donde el dióxido de nitrógeno se reduce a monóxido de nitrógeno y se analiza del mismo modo al descrito anteriormente. La señal eléctrica obtenida del tubo fotomultiplicador o fotodiodo es proporcional a la suma de las concentraciones de dióxido y monóxido de nitrógeno. La cantidad de dióxido de nitrógeno se calcula de la diferencia entre esta concentración y la obtenida sólo de monóxido de nitrógeno (cuando el aire muestreado no ha pasado a través del convertidor).

La quimioluminiscencia es la emisión de luz durante una reacción química. Durante la reacción en fase gaseosa de NO y ozono se produce luz con una

intensidad proporcional a la concentración de NO cuando los electrones de las moléculas excitadas de NO_2 decaen a niveles de energía inferiores.

Este método de quimioluminiscencia se basa en la reacción:

$$NO + O_3 \rightarrow NO_2 * + O_2 \quad (7)$$

$$NO_2 * \rightarrow NO_2 + h\nu \quad (8)$$

El dióxido de nitrógeno excitado (NO_2^*) emite radiación en la región del infrarrojo próximo (600 nm-3.000 nm) con un máximo centrado alrededor de 1.200 nm. Para la determinación de dióxido de nitrógeno, se convierte el dióxido de nitrógeno presente en el aire muestreado, a monóxido de nitrógeno en un convertidor, como resultado de la reacción:

$$NO_2 \xrightarrow{\text{convertidor(catalizador)}} NO \quad (9)$$

El NO se analiza entonces de acuerdo a las reacciones (7) y (8).

Las concentraciones de dióxido y monóxido de nitrógeno se miden directamente en unidades volumen/volumen (si el analizador se calibra usando un patrón volumen/volumen), puesto que la radiación emitida de la reacción quimioluminiscente es proporcional a la concentración de monóxido de nitrógeno en unidades volumen/volumen y los resultados finales en el informe se expresan en $\mu g/m^3$.

Monóxido de carbono por absorción de radiación infrarroja no dispersiva

La concentración de CO ambiental se mide mediante la utilización de métodos infrarrojos no dispersivos. La atenuación de la luz infrarroja que pasa a través de una cámara de muestra es una medida de la concentración de CO en la cámara, de acuerdo con la ley de Lambert-Beer. No sólo CO, sino también absorberán luz infrarroja, la mayoría de las moléculas heteroatómicas, en particular agua y CO_2, que tienen bandas anchas que pueden interferir con la medida de CO. Se han desarrollado diferentes soluciones técnicas para suprimir la sensibilidad cruzada, inestabilidad y deriva, a fin de diseñar sistemas de medida continuos con propiedades aceptables. Por ejemplo:

— midiendo la absorción IR de una longitud de onda específica (4,7 μm para CO);

— monitores de doble cámara, usando una cámara de referencia llena con aire limpio (compensación de deriva);

— correlación de filtros de gas, «midiendo» en un rango de longitudes de onda.

Tiene que prestarse especial atención a la absorción infrarroja por gases, tales como vapor de agua, dióxido de carbono, óxido nitroso e hidrocarburos.

Se mide la concentración de monóxido de carbono en unidades volumen/volumen (si se calibra el analizador usando un patrón volumen/volumen) y el resultado final se expresa en mg/m^3.

Ozono por absorción de ultravioleta

El aire muestreado se aspira continuamente a través de una célula óptica de absorción, donde se irradia con radiación monocromática, centrada en 253,7 nm, desde una lámpara estabilizada de descarga de mercurio (Hg), a baja presión. La radiación UV que pasa a través de la célula de absorción, se mide por un fotodiodo sensible o un detector fotomultiplicador y se convierte en una señal eléctrica que se puede medir. La absorción de esta radiación por el aire muestreado en la célula de absorción es una medida de la concentración de ozono en el aire ambiente.

Habitualmente se utilizan dos sistemas diferentes para la medida de la absorción de ultravioleta por el ozono.

> NOTA: En un sistema de absorción ultravioleta por el ozono se determina por medio de la diferencia en absorción ultravioleta entre una célula de muestra y una célula de referencia (tipo célula dual).

En el otro sistema sólo se emplea una célula. La absorción de ultravioleta de ozono se determina suministrando alternativamente, a la célula de absorción, aire muestreado conteniendo ozono y aire muestreado libre de ozono. El aire muestreado libre de ozono se obtiene pasando éste a través de un convertidor catalítico de ozono en el cual, el ozono se destruye.

Los analizadores de ozono comerciales, más modernos, miden la temperatura y presión del aire muestreado en la célula de absorción. Usando estos datos un microprocesador interno calcula automáticamente la concentración de ozono medida relativa a las condiciones de referencia elegidas. Para los analizadores, sin esta compensación automática de presión y temperatura, las concentraciones necesitan corregirse manualmente a las condiciones de referencia elegidas.

La concentración de ozono se mide en unidades volumen/volumen o en $\mu g/m^3$.

Benceno por cromatografía de gases

Se aspira o fuerza a pasar a través de un tubo de sorbente un volumen medido de aire de muestra. Siempre que se elijan sorbentes adecuados, se retiene el benceno en el tubo del sorbente y así se elimina de la corriente de aire.

El benceno captado (en cada tubo) se desorbe mediante calor y se transfiere mediante un gas portador inerte a un cromatógrafo de gases equipado con una columna capilar y un detector de ionización de llama u otro detector adecuado, donde se analiza. Antes de entrar a la columna, se concentra la muestra o en una trampa criogénica, que se calienta para liberar la muestra en la columna o en una precolumna, donde los hidrocarburos de punto de ebullición mayor se eliminan de la precolumna por retroflujo.

Se usan dos tipos generales de instrumentos. Uno está equipado con una trampa de muestreo individual y el otro con dos o más trampas. El instrumento de trampa individual muestrea durante una parte del tiempo en cada ciclo mientras que el instrumento de trampas múltiples muestrea continuamente. Los tiempos habituales de los ciclos están entre 15 minutos y 1 hora.

Partículas por absorción de radiación beta

Se pasa un volumen conocido de aire ambiente a través de un filtro, sobre el cual se recoge la materia particulada. La masa total de materia particulada se determina por medición de la absorción de la radiación beta. Esta medición sigue la siguiente ley de absorción empírica:

$$N = N_o \bullet e^{-km} \qquad (10)$$

donde:

- N_o es el número de electrones incidentes por unidad de tiempo (cuentas por segundo);
- N es el número de electrones transmitidos por unidad de tiempo (cuentas por segundo) medidos después del filtro;
- k es el coeficiente de absorción por unidad de masa (cm^2/mg);
- m es la masa por área (mg/cm^2) de materia que absorbe la radiación beta.

En la práctica, no es necesario determinar N_o, y la masa por área de la materia particulada recogida se determina de la siguiente manera:

a) Paso uno: se realiza una medición sobre un filtro en blanco:

$$N_1 = N_o \bullet e^{-km_o} \qquad (11)$$

donde:

- N_1 es el número de electrones transmitidos por unidad de tiempo (cuentas por segundo) medidos después del filtro blanco;
- m_o es la masa por área (mg/cm^2) del filtro blanco.

b) Paso dos: se realiza una medición sobre el mismo filtro cargado con materia particulada:

$$N_2 = N_o \bullet e^{-k(m_o + \Delta m)} \qquad (12)$$

donde:

N_2 es el número de electrones transmitidos por unidad de tiempo (cuentas por segundo) medidos en el filtro cargado con la materia particulada;

Δm es la masa por área (mg/cm^2) de la materia particulada recogida sobre el filtro.

Combinando las ecuaciones (11) y (12):

$$N_1 = N_2 \bullet e^{+k\Delta m} \qquad (13)$$

o

$$\Delta m = \frac{1}{k} \ln \frac{[N_1]}{[N_2]} \qquad (14)$$

Este método de medición tiene las siguientes características:

— La ley exponencial empírica [ecuación (10)] es válida en el rango de trabajo habitual. Hay, sin embargo, un límite superior que es directamente proporcional a la máxima energía de emisión de la fuente beta utilizada.

Partículas por transductor de elemento oscilante

Consta de un elemento oscilante colocado en el centro de un sistema de detección másico. Este elemento oscilante consiste en un tubo agujereado, sujeto en un extremo y libre para vibrar en el otro. En este extremo libre se coloca un filtro. La muestra de aire se hace pasar a través de este filtro y entonces baja el elemento oscilante. El caudal de aire se mantiene constante mediante un controlador de flujo másico que se corrige a la temperatura y presión barométrica local.

El elemento oscilante vibra precisamente a su frecuencia natural. Un circuito de control electrónico recibe esta vibración y mediante un sistema de «feedback», añade la energía necesaria al sistema para compensar la pérdida. Un circuito de control de la ganancia automática mantiene la vibración a una amplitud constante. Un contador electrónico de precisión mide la frecuencia con un período de muestreo de dos segundos.

En la validación de los métodos continuos de análisis de contaminantes atmosféricos hay que tener en cuanta cuatro procedimientos básicos: caracterís-

ticas dinámicas, calibración, selectividad y estabilidad del cero y span; los cuales se van a describir brevemente:

Características dinámicas

Comprende la determinación del tiempo de respuesta, tiempo de retardo, tiempo de subida y tiempo de caída (UNE 77237:1999)[21].

El tiempo de respuesta es el tiempo que necesita un instrumento para responder a un cambio rápido de la concentración del contaminante objeto de medida. Consta de dos partes principales:

— Tiempo de retardo, que es el tiempo tomado para alcanzar el 10% del cambio final en el instrumento de lectura.

— Tiempo de subida o caída, que es el tiempo tomado para pasar del 10 al 90% del cambio final en la lectura del instrumento.

Calibración

Consiste en determinar fundamentalmente la función de calibración, linealidad, repetibilidad y límite inferior de detección, de acuerdo a las normas UNE 77237:1999[21] o UNE 77240:2000[22].

Se entiende por función de calibración, la relación entre las características de calidad del aire (concentración del contaminante y las lecturas del instrumento, mientras que el límite inferior de detección es la concentración mínima de un contaminante en una muestra de aire (se puede definir como tres veces la desviación estándar del ruido del analizador).

Como se ha mencionado la calibración establece una relación entre la concentración del contaminante medido (ppm, ppb, $\mu g/m^3$...) y la respuesta del analizador (lectura del registrador, salida analógica, digital). Posteriormente, esta relación se utiliza para convertir los valores de respuesta del analizador con la correspondiente concentración del contaminante.

La calibración se debe llevar a cabo en el lugar de la medida, mediante el análisis por el analizador a verificar de atmósferas patrón de concentraciones conocidas. Durante la calibración, el analizador debe operar en su modo normal de operación. De esta manera, la atmósfera patrón pasa por todos los filtros, scrubbers y otros componentes que se utilicen durante el muestreo normal del aire ambiente.

La calibración se puede realizar con botellas de gases o tubos de permeación y debe ser multipunto con concentraciones de gases conocidos que oscilen entre el cero y el 80% del fondo de escala del analizador.

Selectividad

Consiste en determinar que el analizador sólo mide el contaminante objeto de medida. Para ello, se realizan cuatro etapas, consistentes en introducir: *a)* aire cero; *b)* aire cero con posibles interferencias; *c)* concentraciones conocidas del gas a medir, y *d)* las mismas concentraciones de gas con sustancias interferentes.

Deriva del cero y rango

La estabilidad del cero y rango se caracteriza por la variación (deriva) de los mismos con el tiempo.

Equipos

Los equipos habrán de mantenerse adecuadamente, figurando en su documento los detalles sobre las operaciones de mantenimiento. La sustitución de elementos fungibles, chequeos de diagnóstico y revisiones de los equipos deberían, en todos los casos, seguir las recomendaciones del fabricante. En el laboratorio debe existir un plan de mantenimiento, que cubra todos los equipos, definiéndose en él las actividades a realizar y su periodicidad.

Control de equipos de muestreo

El mantenimiento de los equipos de muestreo exige, además de las operaciones recomendadas por el fabricante (sustitución de escobillas...), una serie de revisiones de los elementos que participan en la captación, y que básicamente son:

— Revisión del sistema de medida del caudal o del volumen de aire. Esto se puede realizar mediante una verificación de la constancia del caudal con una periodicidad semanal. Como ejemplo se puede considerar como válido oscilaciones del 5% para captadores individuales y 10% para captadores secuenciales, en caso de que la norma o reglamento no establezca otros valores.

  Las comprobaciones de caudal se pueden realizar con un patrón secundario de caudal, como un rotámetro, el cual previamente habrá sido contrastado con un patrón primario.

  Las posibles desviaciones del caudal, además de averías importantes, pueden deberse principalmente a deterioros de los tubos de conexión por suciedad, mala conexión de los tubos y fugas en la bomba.

— Revisión de la línea de muestreo mediante una inspección semanal de los tubos y una limpieza periódica cada 3-6 meses dependiente de la contaminación de la zona.

— Revisión del transporte de aire, verificando la ausencia de fugas o entradas de aire no adecuadas. Una periodicidad mensual es recomendable.

Control de equipos de análisis discontinuo

Al utilizarse técnicas de análisis físico-químicos convencionales de laboratorio, anteriormente referidas, no se va a hacer aquí ningún comentario en cuanto a mantenimiento y calibraciones.

Control de equipos de análisis continuo

Además del mantenimiento recomendado por el fabricante y específico de cada analizador, hay que considerar un mantenimiento general y consistente en:

— Revisión de la línea de muestreo. Pudiendo servir aquí las mismas indicaciones que en los equipos de muestreo.

— Revisión del sistema de medida del caudal o volumen de aire.

— Revisión de los «scrubbers», verificando que no originan perdidas del contaminante a medir y que elimina eficazmente las interferencias.

— Revisión del voltaje, el cual debe ser lo más estable posible, pues pequeñas variaciones pueden causar alteraciones o inestabilidades en las señales de respuesta.

Patrones y materiales de referencia

En contaminación atmosférica es necesario definir los patrones y materiales de referencia, en lo relacionado a caudal de aire y contaminantes gaseosos.

Para la toma de muestra de contaminantes en aire ambiente, se necesita principalmente disponer de patrones de:

caudal

temperatura

presión

o bien que los equipos que midan estos parámetros estén debidamente calibrados.

En cuanto a los materiales de referencia, es necesario disponer de los materiales de referencia correspondiente a los contaminantes que se van a determinar, con las incertidumbres adecuadas.

4. METODOLOGÍA Y LEGISLACIÓN

En la Tabla 4 se presentan los contaminantes atmosféricos para la evaluación de la calidad del aire, para los cuales existen métodos oficiales de toma de muestra y análisis, así como la legislación a la que aplica:

TABLA 4. *Normativa oficial para contaminantes atmosféricos*

Parámetro	*Metodología*	*Norma*	*Legislación a que aplica*
Dióxido de azufre	Fluorescencia UV	UNE-ISO 10498[7)]	RD 1073/2002[2)]
Partículas PM_{10}	Captador alto o bajo volumen	UNE-EN 12341[3)]	RD 1073/2002[2)]
Partículas $PM_{2,5}$	Captador alto o bajo volumen	UNE-EN 14907[5)]	RD 1073/2002[2)]
Amoníaco	Captador bajo volumen	O. de 10.08.1976[1)]	—
Dióxido de nitrógeno	Quimioluminiscencia	UNE 77212[10)]	RD 1073/2002[2)]
Plomo	Captador alto o bajo volumen de PM_{10}	UNE-EN 12341[3)]	RD 1073/2002[2)]
	Absorción atómica	UNE 77230[23)]	RD 1796/2003[26)]
Ozono	Absorción ultravioleta	UNE 77221:2000[16)]	RD 1073/2002[2)]
Benceno	Aspiración y cromatografía de gases	UNE-EN 16662-1[24)] UNE-EN 16662-2[25)] UNE-EN 16662-3[18)]	

5. PUNTOS DE MUESTREO

La Orden de 10 de agosto de 1976[1)] establece muy someramente los criterios de ubicación. A este respecto es de señalar:

- Captador de pequeño volumen. Colocación a una distancia vertical mínima desde el suelo a la entrada de aire de tres metros y distancia horizontal entre cualquier parámetro vertical y la entrada de aire superior a 0,5 metros.
- Captador de alto volumen. Distancia entre el plano de filtro y del terreno de 2 metros. En horizontal no existirá ningún obstáculo en un radio inferior a un metro.

- Captador de partículas sedimentables. Colocación en un espacio abierto alejado de muros verticales, edificios, árboles, etc., que puedan interferir la determinación. Como criterio de alejamiento se puede considerar la distancia doble de la altura del objeto que interfiere.

El equipo colector deberá sujetarse al suelo por un medio asequible que evite su caída por el viento. También deberá estar alejado, dentro de lo posible, del alcance de personas o medios que puedan dañar el aparato.

El Real Decreto 1073/2002[2)], de calidad del aire, establece nuevas condiciones de microimplantación que son:

- Ni restricciones ni obstrucciones que afecten al flujo de aire de muestreo:
  - ➢ mínimo: 0,5 m del edificio más próximo.
- Punto de entrada de muestreo entre 1,5 m y 4 m sobre el nivel del suelo (en algunos casos se acepta hasta 8 m).
- Entrada de muestreo alejada de fuentes de emisión.
- Salida del sistema de muestreo colocada de tal manera que se evite la recirculación del aire saliente hacia la entrada del sistema de muestreo.
- Situación de los sistemas de muestreo orientados al tráfico:
  - ➢ para todos los contaminantes, a más de 25 m del bordillo de los cruces principales y al menos a 4 m del centro del carril de tráfico más próximo;
  - ➢ para NO_2 y CO, la entrada de aire no debería estar a más de 5 m del bordillo de la acera;
  - ➢ para partículas, plomo y benceno, las entradas de aire deberían estar situadas de forma que fueran representativas de la calidad del aire cercano a la línea de edificios.

BIBLIOGRAFÍA

(1) Orden de 10 de agosto de 1976, sobre normas técnicas para análisis y valoración de contaminantes de naturaleza química. *B.O.E.* de 10 de noviembre de 1976.
(2) Real Decreto 1073/2002, de 18 de octubre, sobre evaluación y gestión de la calidad del aire ambiente en relación con el dióxido de azufre, dióxido de nitrógeno, óxidos de nitrógeno, partículas, plomo, benceno y monóxido de carbono. *B.O.E.* núm. 260, de 30 de octubre de 2002.
(3) UNE-EN 12341:1999. Calidad del aire. Determinación de la fracción PM_{10} de la materia particulada en suspensión. Método de referencia y procedimiento de ensayo de campo para demostrar la equivalencia de los métodos de medida al de referencia.
(4) UNE-EN ISO/IEC 1025:2005. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración.

(5) UNE-EN 14907:2006. Calidad del aire ambiente. Método gravimétrico normalizado de medida para la determinación de la fracción másica $PM_{2,5}$ de la materia particulada en suspensión.
(6) ISO 10498:2004. Ambient Air. Determination of sulfur dioxide. Ultraviolet fluorescence method.
(7) UNE-ISO 10498:2006. Aire ambiente. Determinación de dióxido de azufre. Método de fluorescencia.
(8) EN 14212:2005. Ambient air quality. Standard method for the measurement of the concentration of sulfur dioxide by ultraviolet fluorescence.
(9) ISO 7996:1985. Ambient air. Determination of the mass concentration of nitrogen oxides. Chemiluminescence method.
(10) UNE 77212:1993. Calidad del aire. Determinación de la concentración másica de los óxidos de nitrógeno. Método de Quimioluminiscencia.
(11) EN 14211:2005. Ambient air quality. Standard method for the measurement of the concentration of nitrogen dioxide and nitrogen monoxide by chemiluminescence.
(12) ISO 4224:2000. Ambient air. Determination of carbon monoxide. Non-dispersive infrared spectrometry method.
(13) UNE 77252:2003. Aire ambiente. Determinación de monóxido de carbono. Método de espectrometría infrarroja no dispersiva.
(14) EN 14626:2005. Ambient air quality. Standard method for the measurement of the concentration of carbon monoxide by non-dispersive infrared spectroscopy.
(15) ISO 13964:1998. Air quality. Determination of ozone in ambient air. Ultraviolet photometric method.
(16) UNE 77221:2000. Calidad del aire. Determinación de ozono en aire ambiente. Método por fotometría ultravioleta.
(17) EN 14625:2005. Ambient air quality. Standard method for the measurement of the concentration of ozone by ultraviolet photometry.
(18) EN 14662-3:2005. Ambient air quality. Standard method for the measurement of benzene concentrations. Part 3: Automated pumped sampling with in situ gas chromatography.
(19) ISO 10473:2000. Ambient air. Measurement of the mass of particulate matter on a filter medium. Beta-ray absorption method.
(20) UNE-ISO 10473:2005. Aire ambiente. Medida de la masa de materia particulada en un filtro. Método de absorción de radiación beta.
(21) UNE 77237:1999. Calidad del aire. Determinación de las características de funcionamiento de los métodos de medida.
(22) UNE 77240:2000. Calidad del aire. Evaluación de las características de funcionamiento de los analizadores de gas.
(23) UNE 77230:1998. Aire ambiente. Determinación del contenido de plomo particulado en aerosoles captados en filtros. Método de espectrometría de absorción atómica.
(24) UNE-EN 16662-1:2006. Calidad del aire ambiente. Método normalizado de medida de concentraciones de benceno. Parte 1: Muestreo por aspiración seguido de desorción térmica y cromatografía de gases.
(25) UNE-EN 16662-2:2006. Calidad del aire ambiente. Método normalizado de medida de concentraciones de benceno. Parte 2: Muestreo por aspiración seguido de desorción por disolvente y cromatografía de gases.
(26) Real Decreto 1796/2003, de 26 de diciembre, relativo al ozono en el aire ambiente.

XI. Cambio climático y parasitismos en España

ANTONIO R. MARTÍNEZ FERNÁNDEZ



Es Licenciado y Doctor en Veterinaria, Licenciado en Farmacia. Catedrático de Parasitología de la Facultad de Farmacia de la Univeridad Complutense. Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia y su actual Bibliotecario.

Existe un cierto consenso de que con independencia de las causas o de su mayor o menor intensidad, se está produciendo un cambio climático acelerado. En la fase actual de este cambio se observa un calentamiento global. Este calentamiento, en términos geológicos, para nuestra situación geográfica, pudiera ser, como en el pasado, el anticipo de un nuevo enfriamiento general. Si esta situación, acelerada por causas también humanas no es explosiva tenemos que especular con racionalidad, qué incidencia puede tener el calentamiento en los aspectos sanitarios y económicos de los parasitismos.

Para esta reflexión nos guían tres clases de datos: los del conocimiento documentado de donde partimos o línea básica actual, las observaciones sobre los efectos ocasionados por las especies invasoras y los parasitismos endémicos en climas parecidos a los que podemos tener dentro de cincuenta años si es que el proceso continúa al ritmo y tendencia actual. Por otra parte, debemos reconocer que la situación actual no es estática, por el contrario, hemos sido testigos en los últimos años de cambios en la incidencia y prevalencia de parasitismos olvidados *(Cryptosporidium parvum* y *C. hominis)* o desconocidos (géneros de microsporidios, especies de apicomplejos, nuevos nematodos, etc.) por lo que podemos decir que estamos permanentemente en un proceso de cambio. Asimismo, si vamos a sufrir emergencias y reemergencias de parasitismos, debemos analizar cuidadosamente y desde la perspectiva actual, la historia de los procesos de control o erradicación

que nos han proporcionado la situación privilegiada actual. Todo esto, con la conciencia de que muy frecuentemente el futuro no suele ser una simple evolución de lo actual, de lo conocido, ni necesariamente de lo ya pasado o que está sucediendo en escenarios semejantes al que se avecina. Puede ser así o no. El cambio climático puede como parece que hay consenso «tropicalizarnos» y para este tiempo inmediato sí que podemos discurrir por semejanza con los parasitismos en las actuales áreas tropicales. Si el futuro no es todo así, de lo que estamos seguros, sí lo puede ser al menos en parte.

Antes de entrar en el enunciado quisiera apuntar un par de incursiones en otros escenarios. El primero es mi recuerdo infantil de las piedras pulidas en aquella barrera terrosa —Campo Sagrado— que en nuestro camino a León, cortaba el apacible valle del río Luna, obligándolo a torcer su curso, hacia el sur, para formar el río Órbigo. ¿Quién había pulido las piedras de aquella alta paramera que parecían las de la orilla de un río? Más tarde supe que las piedras pulidas tan abundantes eran el producto de los ríos de hielo de los glaciares que en otro tiempo partían de la inmediata cordillera; un testigo de las pasadas glaciaciones. Otra incursión, por la que frecuentemete camino, las palabras de Carl Sagan de que «con esta física y química, con estas herramientas, la vida es una inevitabilidad cósmica si se dispone de tiempo suficiente (1). Esta afirmación, junto con el convencimiento de la enorme tenacidad de la vida, esta inevitabilidad culminada en la mente humana, me tranquiliza. Los hechos pasados se repetirán pero la vida tiene recursos para persistir, para reorganizarse y enseñorarse de nuevo, bajo otras formas. Esta impregnando bien este planeta Tierra, ocupa cada medio y cuando recibe grandes golpes —las grandes extinciones del pasado— ensaya saltos para ocupar otros medios nuevos, inéditos, inexplorados, vírgenes. Esto fue verdad en el pasado y será también en el futuro. Si la acción del hombre está acelerando procesos naturales, también la acción del hombre buscará recursos que palien sus consecuencias, o que las eviten en parte. Esta misma reflexión está en el camino.

DE DÓNDE PARTIMOS

¿Cuáles son los parasitismos prevalentes y qué peso sanitario tienen?

A juzgar por la atención que en la formación de los médicos de este país se dedica a los parasitismos y a la parasitología en general, la situación española parece óptima; parecería óptima. Un dato tan sólo para meditar: en mi Universidad se emplea no más allá del 0,18% del tiempo dedicado a la formación de un médico en la fase facultativa (1 crédito sobre 540 de la licenciatura). La verdad es que no es tan buena la situación y que afortunadamente otros sanitarios conservan en su currículo un buen puñado de créditos sobre la materia. También es cierto que el progreso económico y sanitario de la segunda mitad del siglo XX arrinconó cuando no erradicó numerosos parasitismos

humanos, mitigando o minorizando otros que por zoonóticos persisten entre nosotros.

Hay varias victorias sobre los parasitismos que conviene resaltar. La primera sobrevenida por las tendencias climáticas y el desarrollo económico y social fue sobre la esquistosomiosis vesical humana. La segunda, fruto de la acción activa sanitaria, fue la erradicación del paludismo. De ambas nos ocuparemos más adelante. Otras victorias fueron más consecuencia del desarrollo económico que de la acción sanitaria directa, son, por ejemplo, la disminución hasta el límite de las geohelmintosis, es decir, todos los procesos causados por nematodos intestinales del ciclo biológico directo: *Ascaris lumbricoides, Trichuris trichiura, Ancylostoma duodenale, Strongyloides stercoralis*. Su control y disminución hasta convertirse en anécdotas se debe a un conjunto de factores demográficos y de desarrollo. La emigración del campo a la ciudad tuvo un efecto demoledor sobre la prevalencia de estos parasitismos. En el cemento urbano, con agua potable conducida al domicilio, con recogida y depuración de las aguas residuales, no hay ciclo biológico posible; los Geolmintos necesitan fecalismo y suelo, tierra donde embrionar o donde alimentarse y crecer y mudar sus larvas infectantes. A la emigración urbana siguió la mejora de las condiciones de las viviendas rurales, las traídas y potabilización de aguas, alcantarillado, depuración, etc. La higiene personal se convirtió en un hábito, especialmente gracias a la escolarización obligatoria y la desaparición del analfabetismo y el cuidado especial de los pocos niños que forman las familias actuales.

Un recorrido por las helmintosis

Primero desapareció *Ancylostoma duodenale* que siempre estuvo restringido a ciertas minas subterráneas y al trabajo de la huerta levantina, así como a oficios como los de alfarero y tejero en el sur y este de España (2). Se conocía su presencia desde comienzos del siglo XX (3) y particularmente en las minas de carbón de Asturias, de plomo de Linares y La Carolina (Jaén), Córdoba, Ciudad Real, etc. (4, 5, 6). Estaba restringido al ambiente cálido y húmedo de las minas, con el consiguiente fecalismo en las de carbón y plomo, no así, al parecer, en las de hierro, por ser éstas normalmente a cielo abierto o las de bismuto y mercurio —que seguramente no eran del agrado de las larvas 2 y 3 infectantes—. En otras áreas de la península, en los alrededores de Coimbra, la prevalencia, bajo condiciones climáticas mediterráneas húmedas entre los campesinos superaba el 60% de la población (7).

Necator americanus, la otra especie que ocasiona ancilostomosis, llevada desde África a América por los esclavos y que se encuentra desde el sur de los USA hasta Argentina, necesita condiciones climáticas tropicales. Se conocen varios intentos fallidos de establecimiento de la enfermedad en España, como consecuencia de la vuelta de los soldados de Puerto Rico, zona endémica, al finalizar la guerra hispano-norteamericana en 1905. Más tarde con el regreso de

inmigrantes de Brasil. Por ejemplo, el brote estudiado por Maldonado (8) en Castañar de Ibor en Cáceres, en 1935.

Ascaris lumbricoides ha pasado de prevalencias altas particularmente en áreas rurales a prácticamente desaparecer. Era para los años cuarenta tan común que apenas hay estadísticas de su presencia (9); sólo se citaban casos extraordinarios como el que describe Luis Iglesias sobre un tumor paraumbilical ocupado por adultos de ascaris, o la eliminación extraordinaria de adultos por la vía urinaria (fruto de una fístula) o a través del ombligo (10, 11). Queda restringido a ambientes rurales de bajo desarrollo y barrios marginales con infravivienda, «chavolas», de grandes urbes. Desaparece de las ciudades prácticamente hasta la llegada de los inmigrantes.

La evolución de la prevalencia de ascaris es paralela a la de *Trichiuri trichiura*. Se citan en la literatura sólo los casos extraordinarios, por ejemplo, los descritos en Granada por López-Neyra y Torres Cañamares, con diarrea disentérica, anemia, prolaxo, que hoy sabemos que se producen en infecciones altas en individuos con fuerte respuesta inmunitaria Th2 de rechazo de la infección. Hay muy pocos datos procedentes de encuastas parasitológicas. Pero aun en los años setenta del siglo pasado el 40% de los niños rurales hospitalizados en el General de Santiago de Compostela portaban infecciones bajas de *Trichuris trichiura*. Persistía una cierta subendemia incluso entre los niños de la ciudad. Los datos de encuestas realizados desde nuestra cátedra en la Facultad de Farmacia son bien significativos (Zúñiga *et al.,* 1976 sobre 8.145 muestras; Cristina Arias sobre 5.000 muestras), Trichuris estaba presente en el 44,4% de los análisis realizados, Ascaris en el 16,8%, con hallazgos esporádicos de *Fasciola hepatica* en el 0,12% al 0,01% e *Hymenolepis nana* en el 0,18% (12, 13).

Todo este panorama, bien estudiado por los trabajos de Vasallo Matilla desde Madrid (14) y por el Profesor Jaime Gállego (15) y sus colaboradores y Prats-Vaygual (16) en Barcelona, fue paulatinamente desapareciendo por las causas antes mencionadas.

El único geohelmito persistente en grado mínimo en España es *Strongyloides stercoralis*. Se cita por primera vez en Madrid en un trabajador de una tejera (17). En la década de los 80 la prevalencia en la Huerta Valenciana era del 0,4% en adultos, aunque estaba presente también en el 0,2% de los niños hospitalizados en Barcelona (18). Parecía que había desaparecido, pero en los últimos diez años del siglo pasado el desarrollo sanitario del área de la Huerta Valenciana, así como el hallazgo de infecciones masivas en personas mayores tratadas con corticoesteriodes o inmunosupresores, hizo aflorar un abundante número de trabajos sobre el foco endémico de Strongyloides de La Safor y áreas vecinas de la Huerta (19, 20, 21, 22).

Persiste ciertamente en personas mayores, jubilados del campo que arrastran infecciones mantenidas por autoinfección. La tecnificación del campo, el uso intensivo de abonos minerales e insecticidas y los cambios en el sistema de riego

han deprimido hasta el límite la prevalencia. Los viejos agricultores sufriendo procesos crónicos sometidos a corticoterapia o inmunosupresión, presentan strongyloidosis clínica, que en un medio bien dotado de servicios sanitarios se diagnostica y se trata satisfactoriamente. El foco residual de Strongyloidosis es un reducto de clima tropical, artificialmente húmedo por causa del regadío. En un escenario de cambio climático con calentamiento, si va además acompañado de una disminución significativa del estatus sanitario y económico, podría haber una vuelta de la prevalencia de la anguilula intestinal. Es al tiempo un buen ejemplo de una posible reemergencia.

El éxito del control hasta la práctica desaparición puede modificarse por la llegada de emigrantes, particularmente a Canarias desde África (23, 24), así como al resto del país. Los emigrantes son particularmente hispanoamericanos y africanos. En la población procedente de países subsaharianos el 87% porta geohelmintos, el 30% filarias, el 15% esquistosomiasis. En los hispanoamericanos las prevalencias son menores: 14% de geohelmintos, 1% de filarias. Por otra parte, en el mismo sentido, conviene tener en cuenta que 12-13 millones de españoles viajan al extranjero cada año, de los que cerca del 9% (entre 700.000 y 1.000.000) lo hacen hacia zonas tropicales (25).

Tres zoonosis por nematodos están presentes. La toxocariosis como *lava migrans visceral,* transmitida por la ingestación accidental de huevos embrionados de *Toxocara canis* y otros. Es un peligro añadido en las ciudades donde los parques y áreas verdes pueden ser compartidos por niños y perros. El fecalismo canino de algunas calles y parques es insoportable. Afortunadamente hay dos factores que la limitan, el cuidado veterinario de los perros —perros de compañía—, con tratamientos antihelmínticos eficaces sobre las perras y cachorros y una cierta educación urbana: empieza a estar bien visto recoger con una bolsa de plástico las heces depositadas por los perros. A pesar de todo es un problema latente. La segunda zoonosis, también por un ascárido, es la anisakidosis, proceso digestivo producido por la ingestión de larvas de *Anisakis simplex* y otras especies (26) junto con pescados marinos infectados. Somos el segundo país del mundo, después de Japón, en consumo de pescado. La infección del pescado, en algunas especies particularmente como la bacaladilla, es muy alta y está creciendo aparentemente. Se especula que este crecimiento se debe a tres factores, la sobreexplotación de las pesquerías, la evisceración en alta mar para la congelación —los anisakis están en las vísceras, si éstas se arrojan al mar alimentan e infectan a los peces bentónicos e intermedios, donde están las especies útiles, cada vez mas pequeñas y con mayor carga parasitaria, y finalmente, la protección de los cetáceos y pinípedos, mamíferos acuáticos hospedadores definitivos de estos ascáridos—. La infección humana ha ido en aumento, al menos en el diagnóstico. Las causas pueden ser diversas: consumo de platos exóticos hechos aquí en restaurantes étnicos con pescado crudo: Sushi, Sashimi, Ceviche, Lomi-Lomi y Bogarta; las recomendaciones alimentarias sobre la bondad del consumo de pescado y la introducción de ahumados, marinados unidos a los clásicos escabeches; el empleo de hornos microondas que no destruyen deficien-

temente las larvas al no penetrar el calor suficiente al espesor de las piezas cocinadas. El número de casos clínicos, en aumento, es pequeño, sólo los casos asociados con alergia y gastritis graves son diagnosticados. Por el contrario, el número de infecciones inaparentes que cursan sólo con dispepsia asociada o no a *Helycobacter pylori* es al parecer mayor (27), así como las sensibilizaciones alérgicas producidas por una infección fugaz e inaparente o por el consumo de pescado parasitado. Se detecta por pruebas cutáneas de cutirreacción (prick test) con extractos de larvas y extracto de pescado como control.

La seroprevalencia en algunas áreas como Madrid es muy alta (28), seguramente unida al consumo de boquerones en vinagre, si no han sido previamente congelados, una tapa característica de esta ciudad; el escabechado no mata las larvas.

La tercera zoonosis es la triquinosis, un proceso que procede del siglo XIX y se erradicó prácticamente a lo largo del siglo XX por la acción sanitaria del control de los mataderos porcinos unido al cambio cultural y económico de la población española. Como hoy sabemos, la especie endémica de la fauna de mamíferos carnívoros y omnívoros salvajes es *Trichinella britovi,* y los lobos en principio y los zorros más tarde junto con otras especies de mustélidos, vivérridos, félidos y suinos la mantienen en un equilibrado ciclo epidemiológico silvestre. Las fluctuaciones de la fauna salvaje ibérica se debieron más a la influencia humana que a los cambios climáticos. La ganadería estante y trashumante, la deforestación para fabricar carbón de leña y la labranza de nuevos campos de cereales, agravado por la utilización de venenos y armas de fuego, hizo disminuir la fauna salvaje. A los carnívoros se les persiguió como alimañas que atacaban rebaños (la gran guerra de los pastores de ovejas y el lobo, con el mastín como fruto de la selección *ad hoc* de un medio de defensa eficaz). La caza del lobo era recompensada: me acuerdo bien cómo de niño se rastreaba al lobo cuando moría un asno u otro animal desechable; una parte de su carne era arrastrada valle nevado arriba y abajo para dejar un rastro y finalmente abandonarla a tiro de escopeta en un caserío apartado. Cuando se cazaba un lobo, con su piel embutida en paja subida en una plataforma de caballo o de asno, se peregrinaba por los pueblos del valle mostrando el trofeo, pidiendo una recompensa; para hacer por supuesto una fiesta y celebrar la hazaña. Pasó el mal tiempo. El lobo que había quedado excluido de grandes áreas —hacia los setenta sólo contaba con una pequeña población en el noroeste de la Península—, volvió a progresar de nuevo de la mano del hombre: el desarrollo cooperativo de granjas industriales de aves y cerdos hizo crecer de nuevo la población de lobos y zorros dependientes de vertederos anejos a las granjas rurales en Galicia. Pronto se enmendó esta actividad, pero ya era tarde, el abandono rural estaba facilitando el asentamiento autónomo en otras áreas, al tiempo que crecía también la población de los otros mamíferos salvajes, especialmente del jabalí. En los últimos diez años del siglo el lobo llenó de nuevo la cordillera cantabro-astúrica, bajó por el valle del Órbigo hasta el Duero y se asentó en sus riberas. Busca ahora entrar en la Cordillera Central a través de Salamanca y por el norte en la cabecera de la Ibérica.

En la fauna salvaje de omnívoros (jabalí-tejón) y carnívoros, se encuentran en la actualidad, con porcentajes variables de acuerdo con el área y especialmente en las cordilleras y en Extremadura en particular, dos especies gemelas de *Trichinella: T. britovi* y *T. spiralis.* La primera es la autóctona del área templada de Eurasia, desde Ibéria a Japón, así como el norte y el oeste de África y en Sudáfrica. La segunda fue introducida con toda probabilidad desde el sudeste asiático por los hibridistas británicos a finales del siglo XVIII con el fin de mejorar, con cerdos con alta capacidad de almacenar grasa, los cerdos europeos del tronco celta (altos y magros) (29). El desarrollo industrial de finales del siglo XVIII traía esta necesidad. El éxito de la razas mejoradas fue extraordinario, exportándose al continente y a América. No es de extrañar que en 1835 se descubra la Triquina *(Trichina spiralis* Owen, 1835) y que en 1860 Zenker observara en una paciente las tres fases del ciclo: los adultos de ambos sexo en el intestino, los embriones y larvas en el tejido muscular y las larvas enquistadas en las salchichas que había ingerido la pobre paciente muerta de triquinosis. Los brotes de la enfermedad se suceden por toda Europa a partir de esta época, sin datos parecidos anteriores a este tiempo. Esta especulación se apoya además en un hecho biológico firme demostrado por nosotros, la uniformidad genética de los aislamientos europeos y americanos de *T. spiralis*; existe una notoria uniformidad cualquiera que sea el origen del aislamiento: español, inglés, polaco, de Chile, de Argentina. Por el contrario en la especie autóctona *Trichinella britovi* hay, sólo en España, tres genovariedades distingibles molecularmente además de la sudafricana T-8 y las de Japón (T-9) así como la especie norteamericana próxima *Trichinella murrelli* (30, 31). Está claro que *Trichinella spiralis* fue una introducción involuntaria, un invasor, traído a Europa y difundido al mundo con las razas porcinas mejoradas (32). La realidad ibérica actual es que en la naturaleza, en los omnivoros y carnívoros salvajes, se hallan en convivencia simpátrica, con una cierta separación altitudinal, las dos especies (33).

La actividad sanitaria de los veterinarios, la inspección obligatoria de todas las canales porcinas asentada en el cuerpo legal iniciado en 1879 (34) produjo un doble efecto: el desarrollo de la higiene de los alimentos de origen animal por la profesión veterinaria y el control definitivo de esta enfermedad parasitaria. El desarrollo económico ha transformado la epidemiología de la Triquinosis. Todos los brotes por *T. spiralis* se debían a cerdos criados en los domicilios, destinados al autoconsumo. A pesar de que la inspección veterinaria alcanzaba también el sacrificio doméstico a través de una curiosa figura legal «la inspección pública domiciliaria» los animales criados en estas condiciones eran los responsables de los brotes. Se daban fundamentalmente en áreas de montaña, por lo que la geografía de los brotes dibujaba la estructura de las cadenas montañosas de la Península (35). En los momentos actuales esta práctica de una economía rural de sostenimiento está desapareciendo. El país produce y consume alrededor de 30 millones de canales de cerdos criados en granjas intensivas, bajo barreras de aislamiento que impiden la llegada de procesos transmisibles. Sólo resta una población porcina peligrosa a este respecto, los cerdos ibéricos que pastan en cam-

po abierto. Estos cerdos tienen contacto con la fauna salvaje, pero la inspección veterinaria es por causas económicas esmeradas al extremo; no sólo por el mayor peligro sino por el mayor valor añadido de sus productos (36).

La situación epidemiológica de Trichinella que se describe 1969 (37) ha cambiado: disminuye hasta la práctica desaparición la presencia de *T. spiralis* en un ciclo epidemiológico urbano, entre animales sinantrópicos: rata, roedores, cerdo o caballo, con el cerdo como principal responsable de la transmisión al hombre. Persiste el ciclo epidemiológicos silvestre, siguiendo las relaciones tróficas de los carnívoros y omnivóros salvajes de nuestra fauna. Algunas de las especies comestibles, el jabalí especialmente, pueden transmitir la infección al hombre. El desarrollo molecular de identificación ha demostrado la existencia de brotes de este origen producidos tanto por *Trichinella spiralis* como por *T. britovi* (38, 39, 40, 41). Cabe la posibilidad de que una tercera especie, *T. pseudospiralis,* aun no detectada, conviva con las anteriores. De momento se está escapando a nuestra observación. Hemos examinado un número discreto de aves rapaces, todas negativas, pero se nos escapa entre los jabalies infectados. La infección se detecta en el campo mediante triquinoscopia y sólo llegan a nosotros para identificación molecular de la especie, las muestras así positivas. Sólo si tenemos la suerte de encontrar una infección mixta como la hallada en Alemania (42), la detectaremos por digestión. Sin duda está «ahí fuera» también, en nuestra proximidad (43).

Entre las filarias, la únicas dignas de mención, causantes de algunas infecciones humanas esporádicas son las del perro de *Dirofilaria spp.*

Otra zoonosis a la que se ha sometido a un control particular, que aún persiste, es la hidatidosis. La produce el estado evolutivo intermedio (metacestodo, llamado «quiste hidatídico») de una pequeña tenia del perro *Echinococcus granulosus*. El perro infectado elimina con sus heces anillos grávidos repletos de embriones llamados convencionalmente «huevos de tenia» que, si son ingeridos por la oveja, cabra, cerdo, vaca... originan el quiste hidatídico. Desafortunadamente también el hombre es susceptible del desarrollo de quistes hidatídicos. La hidatidosis ha sido siempre una enfermedad parasitaria importante sostenida por la actividad humana, especialmente de la cría de ovejas. Nuestro país, por su orografía con cadenas montañosas y pastos de diferente altitud, ha practicado desde la época prerrománica el aprovechamiento estacional de los mismos con la consecuente inmigración anual entre regiones, transhumancia, o entre áreas altas y bajas de una misma región, transestancia. La transhumancia se organiza avanzada la reconquista en León y Castilla y se legaliza a través del Honrado Concejo de la Mesta, lo que se repite en Aragón. Este procedimiento de cría animal selecciona dos razas que se exportaran al mundo, la merina de ovejas productora de una lana excepcional y el mastín (mastín leones, mastín de los pirineos). Con estas dos joyas de la selección productiva exportamos también seguramente la hidatidosis al mundo. Durante los años del franquismo se produjeron muchos esfuerzos fallidos de control de la hidatidosis. Se realizaba con un fármaco tenífugo asociado a la vacunación antirrábica obligatoria, medida que fue excelente para el control de

la virosis pero inútil para el de la hidatidosis. Un tratamiento al año aunque fuera con un antihelmíntico eficaz, que no era el caso, resultaba inútil. Sólo a partir de los años ochenta comenzaron a realizarse campañas de control racionales de la hidatidosis en los que se incluyó un antihelmíntico de gran eficacia (Praziquantel), aplicado repetidamente a lo largo del año, a todos los perros de riesgo mayor, junto con campañas de educación sanitaria. Estas medidas mas otras complementarias de identificación de perros, recogida de cadáveres y destrucción sanitaria de desechos de matadero están teniendo un gran éxito en las Autonomías que la siguen: Navarra, La Rioja, Aragón y en menor medida Castilla y León, Madrid y Extremadura. No lo han implantado otras regiones como Andalucía. El resultado de ello es evidente, desapareciendo la hiperendemia entre las ovejas, el reservorio principal. Algunos otros factores están contribuyendo a la disminución de la zoonosis. Por una parte, la subvención europea a la producción ovina lo que prohíbe prácticamente el sacrificio domiciliario de ovejas mayores evitando así la infección de los perros con las vísceras desechadas. No se abandonan además los cadáveres en el campo ya que se perdería con ello una subvención. Esta es una medida sanitaria indirecta eficacísima —la economía educa mucho más deprisa que la escuela—. Por otra parte, el número y viabilidad de los quistes hidatídicos en las ovejas viejas ha disminuido. Se puede especular que obedece a un efecto colateral del empleo de los carbamatos de bencimidazol usados para el control de los nematodosis gastro-intestinales, que a su vez tienen cierta eficacia sobre los quistes hidatídicos y restauran el sistema inmune deteriorado por los parasitismos.

La cisticercosis es otra metacestodosis o enfermedad causada por el estado intermediario de una tenia que ha prácticamente desaparecido. Es la enfermedad causada por *Cysticercus cellulosae*, «larva» de la tenia del hombre, *Taenia solium*. Esta tenia es un viejo acompañante. Su origen se ha trazado desde África asociado a la hominización. Su pariente más próximo es la tenia de las hienas (*Taenia hyaenae*) (44). El hombre es a la vez el único hospedador definitivo que alberga la fase adulta y uno de los hospedadores intermediarios. Este ciclo debió originarse por los hábitos depredadores y carroñeros de los homínidos (45, 46). Cuando sólo persistió *Homo sp* el canibalismo y la neurofagia, sostuvieron el ciclo. La domesticación en Eurasia occidental del cerdo, probablemente independiente de la que ocurrió en Eurasia oriental que incubó el ciclo de otra tenia (*T. asiática*), fijó el ciclo post-neolítico de *T. solium* llegado hasta nosotros. El cerdo, omnívoro coprófago como hospedador intermediario útil y el hombre como hospedador definitivo y desafortunadamente como hospedador también intermediario, si accidentalmente ingiere huevos de la tenia, con cisticercos en todo su cuerpo —tejido conjuntivo— y localizaciones de mayor importancia patológica como el ojo y el cerebro (neurocisticercosis).

La evolución epidemiológica del proceso en los últimos treinta años ha sido paralela a la triquinosis y más dramática si cabe al no haber reservorios silvestres. Su prevalencia está asociada a la cría porcina en domicilios rurales para la matanza anual necesaria en otro tiempo para almacenar carne, jamones, embutidos, salazones para el resto del año. En toda Europa Occidental romanizada el sacrificio

anual de los cerdos y otros animales, formaba parte de la cultura rural, un buen ejemplo lo tenemos en las pinturas románicas del Panteón de los reyes de León en San Isidoro, allí en el calendario agrícola se representa octubre como el mes de engorde de los cerdos en montanera y noviembre como el mes de su sacrificio. La emigración rural y el desarrollo acabaron con esta práctica. Los jamones y chorizos se pueden aún curar a domicilio, el cerdo, en canal se adquirió en el matadero industrial mas próximo. Así ocurre que la cisticercosis que antes de la llegada de la emigración centro y sudamericana era un problema exclusivamente de inmigrantes locales, de veinte a treinta años de residencia en Madrid, por ejemplo, procedentes de las provincias limítrofes con el norte de Portugal (47).

Las otras helmintosis son prácticamente esporádicas. *Taenia saginata* es la única tania diagnosticada; su ciclo vaca/hombre persiste, muy disminuido. Se ha especulado con la presencia *T. asiatica*, con el cerdo de hospedador intermediario del cisticerco visceral, hepático; no se ha podido demostrar (48). Los cestodos de ciclo acuático son esporádicos, con algún caso de Diplogonoporiosis por el consumo de sardinas crudas. No hay casos humanos de infección por *Dyphyllobothrium latum;* se han visto plerocercoides (estados larvarios) compatibles con la especie en peces de río. Los hábitos de consumo del pescado de río —frito o cocido— impiden posiblemente la llegada del parásito al hombre.

Fasciola hepática es también esporádica entre nosotros, asociada al consumo de berros silvestres. La verdad es que el diagnóstico de los casos de fasciolosis publicados o simplemente comunciados de modo oral, siguió durante los últimos cuarenta años del siglo XX el resto de las facultades de veterinaria y farmacia, lugares donde se continuó estudiando parasitología. La prevalencia animal, vacas y ovejas especialmente (49), más acusada en el área cantábrica del noroeste de Castilla y León y Galicia, tiene también su reflejo en los casos humanos. A pesar de ello no hay entre nosotros, como en el norte de Portugal la costumbre y el mercado de berros silvestres portadores probables de metacercarias infectantes. Los berros que consumimos pasan por el sistema de mercado e inspección; proceden fundamentalmente de cultivos hidropónicos.

La esquistosomiosis vesical (*Schistosoma haematobium*) estuvo presente en la Península. El análisis de su evolución en Portugal es un ejemplo interesante de las modificaciones epidemiológicas que puede ocasionar un cambio climático como el presente. El foco ibérico de *S. haematobium* desapareció en la década de los sesenta. Participamos con el doctor Fraga de Acevedo y María de Lourdes (Xavier) Sanpaio, y sus equipos, en una encuesta epidemiológica, coprológica y de intradermo-reacción entre los soldados y población del Algarbe (1967) y no encontramos ya rastro alguno de esquistosomiosis ni tampoco especies de *Bulinus* su hospedador intermediario. Parece ser que el último paciente diagnosticado en Portugal se curó en Londres en este mismo año de 1967 y la OMS declaró erradicada la enfermedad en la Península. No queda entre nosotros otro esquistosoma que la especie parásita de los rumiantes *S. bovis*, en pequeños focos de Salamanca y Extremadura y Andalucía (50), coincidiendo con el área

geográfica más extensa del planórbido, *Planorbarius metidjensis,* un molusco acuático restringido ahora a arroyos temporales y abrevaderos de las fincas donde se explota el ganado bravo y otras ganaderías extensivas, lo que evitó la contaminación y facilitó su persistencia.

Bettencourt *et al.* (51) habían visto que *S. haematobium* de Portugal podía evolucionar en *P. metidjensis,* lo que se puso en duda cuando M. L. Sanpaio y colaboradores (52), en los setenta encontraron poblaciones residuales de *Bulinus contortus B. (B truncatus contortus*) en la desembocadura del río Mondego y otros pequeños cursos de agua que desembocan directamente en el Atlántico en el sur de Portugal. La doctora M. L. Sanpaio demostró que estos moluscos ibéricos eran susceptibles de infectarse con la cepa de *S. hematobium* procedente de Guinea (Bissao). Estos moluscos también se infectan con *S. bovis* de Salamanca (53). Sin embargo, Southgate *et al.,* 1984 (54) indican que *P. metidjensis* de España y Portugal son refractarios a ocho aislamientos de *S. haematobium* de diferentes orígenes africanos y de Oriente Medio, suponiendo que *S. haematobium* de Guinea (Bissau) pudiera ser una infraespecie de *S. haematobium,* comprobando por otra parte que *P. metidjensis* es susceptible a *S. haematobium* cuando está coinfectado con otras especies de trematodos, lo que ocurre con frecuencia en la naturaleza. Sin embargo, trabajos posteriores de los autores marroquíes y franceses (55, 56), describen como *S. haematobium* de Marruecos puede infectar a *P. metidjensis* recien nacidos, eliminando cercáreas viables y que la adaptación trematodo-molusco es un fenómeno co-evolutivo local; sólo es un buen hospedador intermediario el molusco susceptible local. De todo lo anterior se deduce que existe la posibilidad de que *S. haematobium* en la Península fue fruto de una introducción concreta desde el Golfo de Guinea a Portugal. La gran barrera del Sahara que impide la llegada de tantos agentes infecciosos desde África fue superada reiteradamente, en una y otra dirección involuntariamente por la acción del hombre; el hecho se repitió recientemente con la llegada en 1960 del virus de la peste porcina africana desde Angola; introducción que costó erradicar cerca de treinta años. La disminución de las poblaciones de *Bulinus*, el hospeador intermediario de elección, coincide con la expansión de un molusco competidor *Physa acuta*, más plástico y tolerante al frío. Esta situación ecológica es la que puede trastocarse con el cambio climático.

El valle del Guadalquivir, como alguno de los valles que descienden del Atlas en Marruecos son el límite entre *Lymnaea truncatula (Galba tuncatula)/ Fasciola hepatica* el y *Lymnaea auricularea/Fasciola gigantica*. Hay una única cita española sobre la presencia de *F. gigantica* (57) en ovejas en Ciudad Real. Es probable que así fuera o que se tratara de un híbrido como los que se forman en áreas de frontera entre las dos especies en Japón o Corea. La vuelta de *F. gigantica* y *L. auricularia* puede suceder si progresa la tropicalización del clima. El Valle del Guadalquivir fue también el límite de las filariosis linfáticas o de las infecciones humans por trematodos como *Heterophyes*.

Los «protozoos» parásitos

Tras la visión de conjunto de las helmintiosis, analicemos brevemente la situación de las protozoosis parasitarias, siguiendo un criterio taxonómico, comenzando por los flagelados excavados *(Trichomonas, Dientamoeba, Giardia).*

Trichomonas vaginalis, a pesar de producir una ETS (Enfermedad de transmisión sexual), ha disminuido en su prevalencia como consecuencia indirecta de la profilaxis frente al virus VIH causante del síndrome de inmunosupresión (SIDA). La barrera mecánica —el preservativo— recomendado en las relaciones sexuales extra-pareja, ha ocasionado una disminución drástica de la prevalencia en las poblaciones de riesgo; hasta cerca de nueve veces menos infecciones entre las prostitutas de Madrid. Otro tanto, por diferentes causas, ha ocurrido con *Dientamoeba fragilis;* al estar unido su ciclo a la prevalencia de *Ascaris lumbricoides*, casi erradicado y a *Enterobius vermicularis*, también muy disminuido, su diagnóstico es escasísimo.

Giardia duodenalis es el parásito intestinal más frecuente, Es subendémica. Además de los genotipos antroponóticos (conjunto B, «belga» y zoantroponótico) y el tipo II del conjunto A, se encuentran las genovariedades zoonóticas como el tipo I del conjunto A «polaco». Su presencia no sólo está unida a la transmisión hombre-hombre por contaminación fecal de agua, alimentos frescos y objetos, sino además por esta misma vía con quistes eliminados masivamente por animales como terneros infectados.

Entamoeba histolytica, un patógeno facultativo esporádico es ahora, bajo nuestras condiciones higiénico sanitarias y climáticas, un raro hallazgo. Se diagnostica con cierta frecuencia entre los emigrantes, diferenciándose de *Enatamoeba dispar,* apatógena. Es práctica habitual tratar a las personas en las que se detectan quistes tetranucleados, con independencia del diagnóstico de especie o de la patogenicidad.

Las coccidiosis humanas o parasitismos por coccidios —apicomplejos de ciclo biológico directo y transmisión mediante huevos quísticos (ooquistes)— eran desconocidas entre nosotros, hasta la década de los ochenta del siglo pasado. Todos los coccidios son oportunistas, ocasionan enfermedades si el sistema inmune del hospedador lo facilita. La infección en personas inmunocompetentes es autolimitante, no así en los inmunosuprimidos en los que el ciclo de multiplicación sexual no se reprime —no surgen por parte del hospedador las señales que inducen al parásito a cambiar de estado, bradizoitos, gamontes, ooquistes—, finalizando el ciclo biológico. El hospedador inmunosuprimido engaña al coccidio, que destruye de este modo su medio, su hospedador y no completa su ciclo de modo sostenible, hecho en el que se basa su razón de existencia. *Cystoisospora belli (Isospora belli)* era un hallazgo entre misioneros o cooperantes regresados del trópico. *Cryptosporidium spp* se desconocian en la práctica y *Cyclospora cayetanensis*, desconocida hasta los noventa, se observa hoy sólo entre turistas regresados de Nepal o Centroamérica.

Toxoplasma gondii cuenta con una seroprevalencia de 20 al 55% de la población aparentemente sana. La prevalencia en animal es alta y se resume en la Tabla 1. La sero-prevalencia humana variaba de sur a norte, coincidiendo con el mayor consumo de carne. Esta circunstancia está desapareciendo como consecuencia de la cadena de frío en la conservación de los alimentos y las redes comerciales de supermercados e hipermercados que abarcan todo el ámbito territorial con oferta de alimentos similar en todo el país. Se vigila y previene especialmente en mujeres jóvenes que van a ser madres, evitándose las infecciones congénitas.

TABLA 1. *Seroprevalencia y genovariedades de* T. gondii *en España* (58, 59)

Autor	*Gatos*	*Otras especies*
Montoya *et al.,* 2004, Miró *et al.*	36,9% Callejeros 33,3% Rurales 25,5% Ciudad	
Martínez Moreno, F. J. *et al.*		49,4% Ovinos 83,3% Bovinos 49,4% Caprinos
Martínez Carrasco, C. *et al.*		20,6% Muflones 18,5% Ciervos 23,6% Gamos
Fuente I. *et al.,* 2004		Tipo II 85,3% Ovinos Tipo I 8,3% Ovino Tipo III 5,9% Ovino
Montoya A. *et al.*	Tipo I 15,4% Tipo II 84,6% Tipo II 0%	

El programa de erradicación de paludismo en España comienza en 1920 y fue integral, aplicando todo tipo de medidas contra el vector: drenado de áreas encharcadas, siembra de árboles, introducción de peces larvíboros, protección de las viviendas, uso de insecticidas y el diagnóstico y tratamiento de los enfermos, realizado por un servicio específico creado al efecto que llegó a tener más de 300 dispensarios extendidos por toda el área endémica. La campaña sufrió un gran retroceso como consecuencia de los tres años de guerra civil (1936-39) que interrumpieron por una parte las medidas profilácticas y que reintrodujeron la enfermedad con los soldados mercenarios traídos desde Marruecos. Por otra parte, en sentido contrario, la rigidez y disciplina de los primeros años de la dictadura favoreció el cumplimiento de las medidas de control de vectores y el diagnóstico y tratamiento, de tal modo, que en 1945 además de bajar la inciden-

cia a 100.000 casos la especie responsable del paludismo era en un 94% *P. vivax* frente a un 5% de *P. falciparum*. Curiosamente *P. falciparum* quedaba acantonado en focos extremeños (Valle del Tiétar en Cáceres y ribera del Guadiana en la Ciudad de Badajoz), así como focos residuales en Huelva y Canarias. La tendencia se estabilizó con predominio de *P. vivax* 97% en 1955 frente a 2,4% de *P. falciparum,* pero la incidencia bajó espectacularmente. Las medidas fueron un éxito total a pesar de que se luchaba en dos frentes diferentes. Por una parte el paludismo levantino, vehiculado por *Anopheles labranchiae* con los arrozales y cultivos costeros como área preferente de este mosquito que pica indistintamente a animales y hombres y es endófilo, descansando en establos y casas, tolerando agua dulce y semisalada, extendiéndose desde Croacia a Málaga por las costas Norte del Mediterráneo así como Argelia y Túnez en el Sur. En este frente, los arrozales levantinos fueron siempre el eje epidemiológico hasta tal punto que hay noticias de prohibiciones alternando con autorizaciones sobre el cultivo del arroz hasta que el conocimiento exacto del ciclo gracias al trabajo en Italia de Grassi y col. (60). Se legisló las necesidad de situar las ciudades al menos más lejos del vuelo habitual del mosquito. En esta área es donde se comenzó la aplicación de insecticidas residuales en 1947, preferentemente Hexaclorociclohexano (666 o HCH) debido al mayor precio del DDT que sin embargo se utilizó en Murcia y Alicante. El cálculo económico del primer ensayo de tratamiento en el campo contra los mosquitos fue descorazonador; se estimó en 20 pesetas paciente, el coste de cada paludismo evitado, precio que no se podía pagar en la época por lo que diagnosticar y tratar a los enfermos era mucho más barato. No obstante se siguieron empleando las pulverizaciones a pesar de que las circunstancias políticas españolas obligaron a realizar un control químico restringido que a la postre resultó igual de eficaz; en vez de los tratamientos masivos, indiscriminados, se optó por usar sólo puntualmente el insecticida en las viviendas de los pueblos con casos diagnosticados. El DDT fue usado menos debido a las restricciones impuestas por el bloqueo económico contra el régimen de Franco. El HCH con una riqueza de 0,2 gramos de isómero gamma por metro cuadrado cumplió su papel no sólo en la profilaxis del paludismo sino como plaguicida de uso general en los cultivos de la huerta levantina con lo que la acción frente a *A. labranchiae* fue definitiva. Un aliado en esta lucha fue *Anopheles melanoon*, mal transmisor, zoófito; la presión de los insecticidas sobre esta especie fue menor, por lo que tomó posesión de las áreas de cría, excluyendo también a *A. labranchiae.* El desarrollo turístico posterior y las pulverizaciones estivales sistemáticas hicieron que esta especie transmisora se encuentre hoy extinta en nuestro país. Se acabó pues primero con el paludismo dependiente de *A. labranchiae* y posteriormente con el dependiente de *A. atroparvus*. El frente de *A. atroparvus* aparentemente más fácil fue más tenaz. El mosquito está mejor adaptado a áreas templadas, cría en zonas encharcadas con vegetación tanto en aguas dulces como salobres y su área se extiende por todo el centro y noreste peninsular. Hiberna en establos de vacuno aunque también puede hacerlo en cuadras de caballos o cortes de ovejas y cabras, su única ventaja es que es preferentemente zoófilo, de aquí el gran éxito de las pulveri-

zaciones domésticas con DDT (uno a dos gramos de producto técnico por metro cuadrado) y/o HCH (0,2 gramos metro cuadrado de isómero gamma) que fue empleado de modo puntual en dos aplicaciones, abril y julio primero y en una sola más tarde en las campañas de lucha. La campaña tuvo éxito total; el último caso de un paludismo autóctono fue diagnosticado en el foco del Valle del Tiétar en 1961, desde entonces todos los paludismos diagnosticados en nuestro país son importados. En 1964 la OMS que se había apuntado al éxito firmando con el gobierno de Franco un protocolo para la vigilancia de la erradicación —a ambas partes interesaba el protocolo: al régimen de la dictadura en aras de la apertura y reconocimiento internacional, a la OMS por el éxito altamente probable de una campaña de erradicación. Realmente hubo de modo simultáneo dos erradicaciones del paludismo: el del Mediterráneo que se produjo al mismo tiempo en Francia y unos años más tarde, 1970, en Italia y, el vehiculado por *A. atroparvus* en España y Portugal. La zoofilia de esta última especie jugó a favor, los insecticidas residuales en las viviendas actuaron sobre las secciones de población homófilas, por lo que las zoófilas que se vieron menos presionadas acabaron ocupando las áreas de cría en exclusividad. No sólo se erradicó la enfermedad, ya que en el caso del paludismo pernicioso local, se erradicaron también las genovariedades de *P. falciparum,* que habían evolucionado conjuntamente con nuestros mosquitos. Por esta causa hay indicios de la escasa receptividad actual de *A. atroparvus* para *P. falciparum* de África. Por ello la reintroducción del paludismo tendrá que ser doble, del parásito y del transmisor. Pueden llegar por caminos diferentes. El más probable para los transmisores es desde el Este. Siempre ocurrió así. La Península Ibérica es el fondo de saco ciego del continente Euroasiático, y las emigraciones y las enfermedades contagiosas avanzaron siempre de este a oeste.

El papel sanitario de las invasiones de especies

Su observación es a parte de las especulaciones teóricas, el modo real de constatar la incidencia en la salud y en particular, en los parasitismos, del cambio climático. La identificación de los futuros invasores es el primer paso para prevenir su establecimiento y evitar las repercusiones negativas sobre la salud.

En el pasado, el hombre ha modificado la zoogeografía de manera extraordinaria. Sólo de la mano del hombre, unas veces voluntariamente y otras de modo accidental, las especies animales —en principio las domésticas y sinantrópicas— han vencido barreras naturales tales como océanos, cadenas montañosas, ríos y desiertos. Su paso al nuevo medio, fuera de sus límites edáficos y botánicos, fue difícil o imposible. Las más protegidas (domésticas) y plásticas (poco especializadas) logran implantarse y su prosperidad está asegurada si encuentran el área vacía de competidores y sin limitantes naturales, tales como depredadores, virus, parásitos, bacterias. El continente australiano cuenta con

un conjunto de experiencias a este respecto, empezando por la invasión del propio hombre y su perro acompañante, el antecesor del dingo, posteriormente asilvestrado, así como conejos, ratas y ratón doméstico, gatos, dromedarios y un largísimo, etc. Los maoríes llegados a Nueva Zelanda acabaron en pocas generaciones con más de diez especies de aves corredoras gigantes; los gatos extinguieron seis especies de aves autóctonas en Nueva Zelanda contribuyendo en Australia a la extinción también de seis especies de marsupiales. Esta tendencia, sin los extremos señalados para Australia y Nueva Zelanda, continúa imparable afectando ahora a los últimos reductos vírgenes, las selvas tropicales primarias (61). Los ecologistas conservacionistas consideran que el hombre es a escala geológica el causante de la última extinción conocida de las especies, posiblemente mayor que la que hace 60 millones de años acabó con los dinosaurios.

En principio las invasiones no son exclusivas de la actividad humana, se producen de modo espontáneo y frecuentemente avanzan en dirección Este a Oeste. Lo que sí es cierto es que los invasores movidos por el cambio climático, con el auxilio voluntario o no del hombre, serán la causa del cambio etiológico de los parasitismos del futuro y lo que también es cierto es que prevenirlos es más barato que controlarlos y que para ello el ataque de control no debe dirigirse en exclusiva a la especie invasora, es más útil emplear estrategias múltiples y simultáneas que eviten su establecimiento. No importa, por ejemplo, cuántos enfermos palúdicos nos llegan en los cayucos a Canarias, lo que sí importa es que sigamos controlando los mosquitos, evitando que crezcan desmesuradamente sus poblaciones en áreas encharcadas, tierras sin drenajes, sistemas agrícolas que propician el desarrollo larvario y por supuesto, que se diagnostique y trate convenientemente a los palúdicos.

Las pautas de transformación de un inmigrante en un invasor se asemejan a las fases iniciales de la curva de crecimiento, en su escala o salvando los tiempos biológicos, de un ciliado o bacteria creciendo en un tubo de ensayo. Hay siempre un largo período inicial de lento incremento de población (período adaptativo) hasta que se alcanza masa suficiente de población para la explotación total del medio. La primera fase es la que, de tener éxito, transforma un emigrante en un invasor, que, venciendo el umbral adaptativo, se naturaliza: si son domésticos se asilvestran; si son silvestres se naturalizan compiten y excluyen a veces a otras especies autóctonas o conviven en aparente simpatrismo con las especies autóctonas próximas. Los ejemplos de inmigrantes invasores son abundantísimos, algunos transforman o destruyen por completo especies susceptibles; este es el caso, por citar uno reciente, de la transformación del olmo (*Ulmus niger*) desde un árbol de gran porte a un arbusto por el efecto del ciclo de un parasitismo introducido; otro un poco más lejano, la introducción en Hawai del mosquito *Aedes* sp., transmisor del paludismo de las aves y su establecimiento (60). Cuando a continuación como cada año llegaron al archipiélago las aves emigrantes asiáticas, portadoras de paludismo, se estableció en las islas el ciclo biológico del parásito, que comenzó a afectar a las aves autóctonas. El

resultado es que ningún ave autóctona puede habitar las áreas de las islas visitadas por las aves emigrantes asiáticas, ahora ocupadas por los mosquitos transmisores del paludismo; el parasitismo que es sostenible (soportable) para las aves inmigradoras se convirtió en una plaga mortal para las aves autóctonas que no habían tenido contacto previo con este parásito. Otro ejemplo más reciente es la introducción primero en Norteamérica y después en el mundo entero del mosquito tigre asiático, *Aedes albopictus,* desde su medio natural, el Sudeste Asiático hasta Texas en un barco cargado con neumáticos para reciclado. Los neumáticos viejos para recauchutar resultaron ser un medio universal de difusión de este mosquito y así saltó primero a USA en 1995, a Honduras en 1996, a Brasil y Cuba en 1998, a Australia y Nueva Zelanda en 1999, a Francia e Italia en el 2001, a California y Oregón en el 2002, a Nicaragua, Panamá e Israel en el 2005, a Italia, Croacia y la Costa Brava en España en el 2003 y 2004. Además de los neumáticos, el agua en la que se transporta el bambú de la suerte (bambús y drácenas) ha contribuido también a la difusión mundial de esta especie. Las áreas actuales en las que potencialmente puede establecerse *A. albopictus* en nuestro país son Galicia (Rías Bajas), Cornisa Cantábrica, Extremadura, Sur de Andalucía y Cataluña. Este mosquito, además de su picadura dolorosa, posee una gran capacidad para criar en el entorno humano, en cantidades muy pequeñas de agua estancada y es transmisor de una serie de virus importantes como la Fiebre Amarilla, el virus West Nile, el Denge y probablemente el virus causante del Chikungunya. De la Fiebre Amarilla tenemos amarga experiencia. Entró en España en 1750 en una goleta procedente del Caribe; entre 1800 y 1803 produjo 60.000 muertos en Andalucía y cerca de 20.000 en Barcelona. La introducción fue doble: el virus vino acompañado del vector, el mosquito *Aedes aegypti*. Lo propio puede repetirse si favorecido por el cambio climático logra establecerse el nuevo hospedador intermediario de estos virus.

Un ejemplo de invasión reciente es el ácaro parásito de la abeja melífera *Varroa destructor* que diezmó la producción apícola al difundirse debido a la práctica de explotación trashumante de las colmenas (62). Prácticamente en sólo dos años alcanzó a toda la península 8 500.000 m^2, matando 300.000 colmenas. Fiel a su ciclo acompañó a las colmenas que empezaron aprovechándose de las floraciones de enero de nísparos y almendros en el mediterráneo, siguieron tras la floración de los naranjos, prosiguieron recorriendo el país tras las floraciones, contagiando de paso a las colmenas locales. Los métodos de explotación son sin duda los causantes del establecimiento de procesos. Sin abandonar las abejas, actualmente hay una infección por un microsporidio, *Nosema zeranae*, que con cierta probabilidad se está difundiendo auxiliado por el efecto secundario debilitante de la infección por el ácaro antes indicado y los pesticidas empleados para su control. Los microsporidios son oportunistas, la inmunosupresión causada por todo este proceso podría ser la causa de la enfermedad y el síndrome actual de despoblamiento apícola.

Las introducciones necesitan unas condiciones particulares para cada especie. El proceso cuenta temporalmente con tres fases: transporte, asentamiento o

naturalización y explotación del medio. El hombre ha sido el gran transportista por accidente o intencionado. Hay ejemplos, dentro del ámbito de la Parasitología, abundantísimos como el de *Necator americanus* (un nematodo patógeno del hombre) transportado con los esclavos desde África a América, como lo fue también con toda seguridad *Plasmodium falciparium*. Con los animales domésticos se transportaron muchos parasitismos, zoonosis incluidas: fasciolosis, hidatidosis, leishmaniosis, tripanosomiosis (*Tripanosoma evansi; T. equinum)* y un largo etc. El caso de *Fasciola hepatica* y su molusco vector *Galba truncatula* es bien significativo. Cuando un grupo de parasitólogos españoles del equipo del Profesor Mas Coma, estudiaron el foco de fasciolosis del Altiplano Boliviano, encontraron que las fasciolas que infectan al hombre y a los animales en las márgenes del Lago Titicaca y su molusco vector son molecularmente iguales a las que se encuentran en España (63). El transporte de las fasciolas, en los hígados de las ovejas llevadas a América, es bastante comprensible, el de un molusco anfibio, europeo, débil como es *Galba truncatula* resulta más difícil de comprender. Posiblemente fueron con el barro manchando las patas de los animales, entrando en estivación durante el transporte en barco. Fasciola encontró en América, como en Australia más tarde, otros moluscos sustitutos de su *Galba truncatula* eurasiática. Se convirtió en un invasor en toda regla.

Otro ejemplo del cual ya hemos hablado es la difusión por el mundo de la hidatidosis: está claro que desde Inglaterra, el país colonizador de Australia, no se transportó *Echinococcus granulosus*, biológicamente «ovicanes» o de ciclo oveja/perro, que no existe en Inglaterra, pero sí desde España con las ovejas merinas, una de las razas predominantes de ganado en Australia. La naturalización de *Echinococcus granulosus* en Australia significó también su asilvestramiento a través del ciclo entre el dingo (un invasor anterior) y los marsupiales.

Hay otros muchos más ejemplos parasitológicos del pasado. Uno de los más significativos es el de *Trchinella spiralis* ya comentado. La enfermedad no se conoció en Europa antes de 1860. En la naturaleza había una especie de triquina que hoy llamamos *T. britovi,* que muy raramente llegaba al hombre, realmente sólo por comer jabalís o tejones cazados en nuestra área. Sin embargo *T. spiralis,* asociada a la domesticación de los cerdos en Oriente, prefiere un ciclo en la intimidad de los animales que viven junto con el hombre. Los hibridistas ingleses introdujeron con gran probabilidad la especie desde el Sudeste Asiático a Europa un continente impregnado de la cultura romana de consumo de cerdo crudo, embutido, salado en forma de jamón, etc. Los excelentes cerdos formados por los hibridistas ingleses se exportaron al mundo entero de clima templado y con ellos viajó privilegiada la *Trichinella spiralis*.

Algunas introducciones recientes llegan más fácilmente al público en general. Todo el mundo ha visto morir nuestros olmos o la práctica desaparició de nuestros cangrejos de río; el cangrejo rojo americano *Procambarus clarkii* introducido en nuestros ríos trajo consigo la afanomicosis, un parasitismo mortal para la especie autóctona *Austrapotamobius pallipes*. El invasor compite con una

doble ventaja, es más plástico y voraz y resiste la enfermedad que mata a su competidor local. En los días en que terminó esta revisión pública ProMed la nueva casuística en Guangzhou de meningitis por el nematodo de la rata *Angiostrongylus cantonensis*. La infección se produjo por la ingestión de un plato típico hecho con caracoles amazónicos, una especie introducida que, por el monzón más intenso de este año, prolifera tan abundantemente que incluso destruye los arrozales.

El cambio climático, la tropicalización inicial reciente, va a propiciar el asentamiento y naturalización de especies invasoras. Lo importante es obtener ahora de los invasores conocidos experiencia suficiente para evitarlos, para controlarlos si llegan, impidiendo su asentamiento. El proceso del cambio climático parece real y difícilmente evitable, podemos y debemos controlar sus efectos sobre la salud. Ya no somos una especie pasiva que sufre y obtiene ventajas del cambio climático. Esta es una sociedad distinta, la sociedad del conocimiento.

Parasitismos y cambio climático

Todo el cuadro de especies que puede modificar su área de expansión se resume en la Tabla 1 modificada de la OMS. En la Tabla 1b se incluyen la mayoría de los procesos transmisibles por vectores, sus agentes causales y la probabilidad de modificación por el cambio climático. En la Tabla 2 aquellos procesos entre los recogidos en la Tabla anterior que pueden ver modificada su epidemiología en España como consecuencia de este proceso.

Los artrópodos pueden ser además de vectores, causantes por sí mismos de enfermedades parasitarias para el hombre. Entre los patógenos directos tenemos las larvas de moscas, obligadamente parásitas, causantes de miasis; algunas otras moscas de la carne pueden ocasionar miasis facultativos (por ser necrófagas) o accidentales. La más próxima a nuestra tierra, entre las obligadas, es la africana tropical *Cordylobia anthropófoga*. Su epíteto específico (comedora de hombres) es bien significativo. Es zoonótica, por lo que una vez introducida, si las condiciones climáticas lo permiten, se naturaliza con facilidad. Ocasiona una miasis furunculosa; a la mosca adulta le atrae el olor de la orina, por lo que hace puestas en la ropa interior, aun lavada, cuando se seca al aire. La probabilidad de transporte no es grande, dada la barrera natural de El Sahara que además tiende a crecer. Por otra parte, el desarrollo social y económico no favorece el asentamiento ciudadano. A pesar de ello no se puede excluir el progreso de sur a norte. Siempre ha habido un pasillo de paso desde África a Europa a través del Valle del Nilo y el Mediterráneo Oriental.

Otro candidato productor de miasis es *Cochliomia hominivorax*, la mosca asesina, devoradora de hombres. Es americana, pero ya tuvo recientemente un ensayo de invasión del norte de África. En 1988, con pieles verdes procedentes

de Argentina, llegó a Líbia y logró establecerse. Sólo una lucha biológica eficaz, haciendo competir a la población silvestre con machos estériles, logró su erradicación en 1991. Es un buen ejemplo de cómo se puede yugular un problema sanitario con una de las herramientas biológicas de lucha. La tropicalización favorecería su establecimiento. Es preciso estar alerta ante esta contingencia: Control estricto en las importaciones de animales vivos o de pieles sin curtir. Si el cambio climático continúa, algunas otras especies productoras de miasis barrenadoras de los animales como *Wohlfartia magnifica* (ya existente) o la africana *Crysomya bezziana*, introducible, podían causar trastornos económicos y amenazar la salud humana.

TABLA 1B. *Principales enfermedades transmisibles por artrópodos vectores clasificadas por el número de personas estimadas bajo riesgo, con probable expansión por el cambio climático. Datos de la OMS con algunas modificaciones*

Enfermedad	*Agente etiológico*	*Vector*	*10^6 bajo riesgo*	*10^6 enfermos*	*Probabilidad*
Dengue	Flavivirus	Culícido (*Aedes* spp.)	2.500	50/año	+ +
Paludismo	Protozo. Apicomplejo	Anophelinos	2.400	300/500/año	+ + +
Filariosis linfática	Nematodos, Filarias	Culicinos	1.194	117	+
Esquistosomiosis	Trematodo, Schistosoma spp	Moluscos	600	200	+ +
Leishmaniosis	Protozo. Quineto-plástido	Beatillas (Flebotomos)	350	12	+
Oncocercosis	Nematodo. Filaria	Simúlido	123	17,5	+ +
Tripanosomiasis	Protozo. Quineto-plástido	Glosinas (tsetse)	55	0,25-0,5	+

Probabilidad de que el cambio climático modifique su distribución actual: + probable; ++ muy probable; +++ altamente probable.

Tabla 2. *Enfermedades transmitidas por artrópodos vectores*

Enfermedad	*Clase de organismo*	*Vector*	*Área geográfica principal*	*Observaciones*
Bartonelosis o Fiebre de Oroya	Bacterias: *Bartonella baciliformis*	Beatillas *(Lutzomyia spp)*	Perú, Ecuador y Colombia	No se conoce si los Phlebotomos del Viejo Mundo la pueden transmitir
Borreliosis - otras (Fiebre recurrente)	Bacterias; espiroquetas; *Borrelia recurrentis*	Piojos (del cuerpo y la cabeza)	Asia, Norte de África, Etiopía; áreas elevadas de África central y Sudamérica	Extensible
Borreliosis. Enfermedad de Lyme	Bacterias: *Borrelia burgdoferi*	Garrapatas (Ixódidos)	Áreas templadas de Eurasia y Norteamérica	Posibles vacunas cepa-específicas. Presente y extensible o reducible según áreas
Chicungunya	Alfavirus	Mosquitos (*Aedes* spp.)	Riberas del océano Índico: India, Indonesia; Comores, Mauricio y Reunión; Madagascar	Palabra swagli, que significa el que anda quebrado. Fiebre quebrantahuesos, autolimitante
Dengue	Flavivirus	Mosquitos (Culícidos)	Extensísima: áreas tropicales y subtropicales, especialmente en Sudamérica, Caribe; Sudeste asiático, Pacífico —incluyendo Hawai— y Australia del Norte	Introducible por el cambio climático y la llegada de especies invasoras como *Aedes albopictus* que está llegando a la costa mediterránea
Encefalitis de San Luis	Flavivirus	Culícidos	América	
Encefalitis japonesa	Flavivirus	Mosquitos. (Culícidos)	Desde Corea a Paquistán en Asia; Islas de Indonesia y del Pacífico	Posible protección mediante vacuna

TABLA 2. *Enfermedades transmitidas por artrópodos vectores* (cont.)

Enfermedad	*Clase de organismo*	*Vector*	*Área geográfica principal*	*Observaciones*
Encefalitos por garrapatas **Encefalitis Congo-Crimea**	Flavivirus Nairovirus	Ixódidos (garrapatas) Garrapatas	Europa Central y del Este. Asia desde Ucrania al Pacífico a través de Rusia África	Se cuenta con una vacuna
Enfermedad de Chagas (Tripanosomiosis americana)	Protozoo: *Trypanosoma cruzi*	Redúvidos. Chinches besuconas	Desde el Sur de Estados Unidos al Norte de Argentina y Chile	Introducible a través de transfusiones, jeringas compartidas, trasplantes. No hay el vector adecuado (las chinches americanas)
Enfermedad del sueño (Tripanosomiosis africana)	Protozoo: *Trypanosoma brucei*	Moscas Tsetse (*Glossina* spp.)	África central y áreas en el Este africano para el zimodema *T. gambiense* Este africano, de Etiopía a Botswana para el zimodema *T. rhodesiense*	No es introducible, depende del vector, las tsetse son exclusivamente africanas. Nunca parece que cruzaron el Sahara
Fiebre amarilla	Flavivirus	Culícidos (*Aedes)*	África Central y del Este, Centro y Sudamérica	Vacuna eficaz
Fiebre de las Montañas Rocosas. **Fiebre botonosa**	Bacterias. *Rickettsia* spp *Richettsia conori*	Garrapatas (Ixódidos)	Méjico, Estados Unidos, Canadá; Colombia España	Presente
Fiebre recurrente, de los porqueros	Bacterias; espiroquetas; (*Borrelia hispanica*)	Chinchorros (*Ornithodorus erraticus*)	España y Portugal. No de África. Otras borelias en Asia Central; América Central y del Sur; focos en Norteamérica	Asociado a la cría porcina extensiva. En retroceso desde las campañas de erradicación de la Peste porcina africana

TABLA 2. *Enfermedades transmitidas por artrópodos vectores* (cont.)

Enfermedad	*Clase de organismo*	*Vector*	*Área geográfica principal*	*Observaciones*
Fiebre del Valle del Rift Virus como Toscana	Phlebovirus	Beatillas Phlebotomus spp	Norte de África (incluyendo Mauritania). Egipto, Somalia, Kenia, Italia, España	Introducible Presentes, baja entidad clínica
Fiebre del valle del Ross	Togavirus	Culícidos	Australia e Islas del Sur del Pacífico	
Fiebre por flebotomos	Phlebovirus	Beatillas (Phlebotomus)	Áreas tropicales y subtropicales de Asia, África, Oriente medio y Europa	Presente en Andalucía Oriental (virus como el Toscana). Introducible
Filariosis	Nematodos. Filarias	Mosquitos (Culícidos)	Egipto, África subsahariana, Sudeste asiático e islas del Pacífico; América Central, Caribe y costa Este de Brasil	Ya estuvo presente en el Valle del Guadalquivir. Introducible *Wuchereria bancrofti* con el cambio climático. Antihelmínticos eficaces
Leishmaniosis	Protozoo. *Leishmania spp*	Phlebotomus spp. (Beatillas)	Cuenca mediterránea; India, África del Noreste; América Central	Presente como *Leishmania infantum.* Introducibles otras especis como *L. major*
Oncocercosis. **Ceguera de los ríos**	Nematodo. Filaria, *Onchocerca volvolus*	Simulium spp.	África central y occidental. Yemen; Focos en América (SE de Méjico y Guatemala; Venezuela, Brasil, Colombia, y Ecuador)	Tratamiento eficaz. Tenemos especies de *Simulium* autóctonas

TABLA 2. *Enfermedades transmitidas por artrópodos vectores* (cont.)

Enfermedad	*Clase de organismo*	*Vector*	*Área geográfica principal*	*Observaciones*
Paludismo (Malaria)	Protozoo. Apicomplejo	Anophelinos	Áreas tropicales y subtropicales del mundo entero	Erradicada en los sesenta del siglo pasado. Persiste el vector zoófito (Anopheles atroparvus); erradicado *A. labranchiae* de las marismas costeras. Introducible
Peste; peste bubónica	Bacteria *Yersinia pestis*	Xenopsylla spp. Pulgas tropicales de la rata	Asia (India, SE asiático; Asia Central). Norte de África. Focos en Norteamérica	La pulga está en el área mediterránea. Progresaría con el cambio climático. Hay tratamiento eficaz
Tifus, endémico	*Rickettsia* spp.	*Xenopsylla* spp.	Verano de áreas templadas	Introducible
Tifus epidémico	*Rickettsia* spp.	*Pediculus corporis*. Piojo del cuerpo	En los meses fríos, coexistiendo con piojos corporales	Introducible en un supuesto de guerra, pobreza y falta de higiene pesonal
Tifus por garrapatas	Richetsia spp	Ixódidos	Mediterráneo y Balcanes; África, la India y Australia	
Tularemia	Bacteria: *Francisella tularensis*	Mosquitos, garrapatas, moscas hematófogas	Europa, Sur y Centro. Eurasia (Rusia; China, Japón); Estados Unidos	Existe ya
Virosis West Nile	Flavivirus	Culicinos	África, Oriente Medio, La India, Sur de Rusia. Introducido en USA	

TABLA 3. *Algunas enfermedades transmisibles cuya epidemiología puede ser afectada en España por el cambio climático*

Enfermedad	*Agente*	*Vector*	*Características*	*Probabilidad*[1]
Chikungunya	Virus. Alfavirus	Culícido	Fiebre quebrantahuesos	+ +
Dengue	Virus. Flavivirus	Culícido	Fiebre hemorrágica	+ +
West Nile[2]	Virus. Flavivirus	Culícido	Encefalitis	+
Congo-Crimea	Virus. Norovirus	Garrapata	Fiebre hemorrágica	+
Encefalitis por garrapatas	Virus. Flavivirus	Garrapata	Encefalitis	+
Fiebre del valle del Rift	Virus. Flebovirus	Flebotomo	Fiebre hemorrágica	+
Fiebre botonosa	Bacteria. Richettsia[3]	Garrapata	Fiebre maculosa	+ +
Tifus epidémico	Bacteria. Richettsia[3]	Piojos	Tifus	–
Borreliosis (Lyme, etc.)	Bacteria. Borrelia	Garrapata	Artritis, meningitis, etc.	+ +
Fiebre recurrente	Bacteria. Borrelia	Chinchorro	Fiebre recurrente	+
Paludismo	Protozo. Plasmodio[3]	Anofeles	Tercianas y Cuartanas	+ + +
Leishmaniosis	Protozo. Leishmania[3]	Flebotomo	Visceral (Kalazar); dérmica (úlcera persistente)	+ +
Esquistosomiosis	Helminto. Schistosoma spp.[4]	Moluscos	Fiebre, proceso crónico. Deteriorante vesical o entérico	+ +
Geohelmintos[5]	Nematodos	Sin vector	Procesos crónicos	+
Flariosis linfática	Nematodos	Culícidos	Elefantiasis	+

[1] Probabilidad de que el cambio climático modifique su distribución: + probable ; + + muy probable; + + + altamente probable.

[2] Es el nombre de la localidad de Kenia donde se halló. No se debe traducir a Nilo occidental, se induce a error.

[3] Parásitos endocelulares. [4]Parásito hemático, ahora erradicado. [5]Algunos, aún presentes como Strongyoides pueden incrementar su presencia. Otros, como los ancilostómidos, pueden ser reintroducidos. Los ahora residuales, Ascaris y Trichuris pueden aumentar su presencia por la emigración y la tropicalización climática.

Las pediculosis, pungosis, y otros parasitismos externos, no tienen por qué modificarse. Sólo un deterioro económico, con pérdida de la capacidad de higiene personal podría hacer que la especie más peligrosa, *Pediculus corporis* volviera sobre la población. Es una de las pocas especies parásitas que ha perdido claramente el tren de la evolución. Sus garras (pinza tarso/tibial) se adaptaron perfectamente al diámetro del pelo corporal, limitando así su hábitat; pelo que la evolución perdió irremediablemente como consecuencia del vestido; ningún otro pelo le sirve: los de la cabeza son excesivamente finos, los del pubis excesivamente gruesos; su pinza tarso/tibial dejó de ser adaptativa hace ya milenios. Su alternativa fue utilizar el vestido, pero éste se cambia, se lava, se esteriliza o carga de insecticidas. Los piojos corporales transmiten las especies de *Richettsia* que producen el tifus epidémico. Es una enfermedad del pasado, producida por estas bacterias parásitos endocelulares que son como «el lado oscuro» de las otras proto-alfa bacterias, simbiontes permanentes de todos los eucariotas, las mitocondrias. Su retorno es difícil, sólo en un contesto de guerra, hambre, miseria, falta de higiene, volverían los piojos corporales y con ellos posiblemente el tifus como epidemia. Han persistido con éxito *Pediculus capitis*, con pinza tibial del diámetro del pelo de la cabeza que afortunadamente y no en todo el mundo persiste durante toda la vida o una parte de ella, así como *Pthyrus pubis* con pinza adecuada a los pelos mas gruesos del pubis y otros lugares del cuerpo. Afortunadamente, los piojos diferentes al piojo del cuerpo, tienen un papel transmisor muy limitado. Un tifus endémico, con brotes esporádicos, con intervención también del piojo de la cabeza, sí que es posible en un contexto de cambio climático.

Las chinches *Cimex lectularius* prosperan mejor en temperaturas más cálidas. Necesitan condiciones de hábitat (casas con tarima, rodapiés, camas de madera, grietas) que difícilmente se encuentran en las viviendas urbanas actuales. Teóricamente al menos podían volver, lo intentan aún desde su reducto norteafricano, además son capaces también de transmitir *T. cruzi* el agente causal de la enfermedad de Chagas (64). El cambio climático puede hacer prosperar a las otras especies próximas, *C. colubarius* y *C.hemiptera* y la presencia entre nosotros de portadores, entre emigrantes de Suramérica de *T. cruzi* está ampliamente demostrado, por lo que este riesgo deberá tenerse también en cuenta.

La invasión y traslado de las chinches americanas (Reduvidae), transmisores naturales de *T. cruzi* es altamente improbable. Del mismo modo que las Glossinas (moscas tse-tse) transmisoras de *T. brucei* y sus zimodemas (enfermedad del sueño), no han superado nunca la barrera del Sahara, las chinches americanas no han vencido nunca la barrera del Océano Atlántico. De saltar o ser transportadas accidentalmente el establecimiento, salvo en áreas rurales sería poco probable. No nos deben preocupar por lo tanto, de momento, las tripanosomosis africanas y americana en su transmisión natural fluida. Si por el contrario en el caso de la enfermedad de Chagas la transmisión por vía transfusional. Este es un peligro que ya existe como consecuencia de la llegada de enfermos crónicos desde Sudamérica. En un escenario de calentamiento ambiental podía tener

importancia la transmisión de las especies de tripanosomas salivarios de transmisión no cíclica (*Tripanosoma evansi*) como ya sucede en La India (65).

Los atrópodos vectores son especialmente importantes en la posible evolución de los procesos infecciosos relacionados con el cambio climático. Entre las enfermedades con mayor prevalencia en el mundo, véase Tabla II, las cinco primeras están incluidas en la probabilidad de introducción o restablecimiento en España. La introducción dependerá del cambio climático y el consecuente progreso de los vectores.

Inició la entrada *Aedes albopictus*. De momento las condiciones aún no son las ideales, pero el calentamiento y la tropicalización jugarán a su favor. Las primeras virosis transmitida por su picadura que presumiblemente podemos empezar a padecer son el Denge y el Chikungunya. Aún no hay certeza de que el «tigre asiático» sustituya a *Aedes aegypti* que es el vector de elección de estas dos enfermedades víricas, pero *A. albopictus* está ya aquí. Otros culicinos no necesitan ser importados, los tenemos abundantes, *Culex molestans, C. pipiens*, ocupando uno las áreas próximas a su lugar de cría llegando el segundo a las viviendas, picando y descansando en el interior de las mismas.

Otros virus transmitidos por mosquitos están entre nosotros como subendémicos, por ejemplo, el West-Nile. Una reintroducción no causará trastornos mayores en una población como la actual en permanente contacto premunizante con él (66). Lo propio ocurre con virus causantes de meningitis linfocitarias, similares al virus Toscaza, transmitido por *Phlebotomus perniciosus*, con serorevalencias de 24,9% de la población normal de la provincia de Granada (67).

Sin duda el mayor temor es la reintroducción del Paludismo. En el escenario de cambio climático previsto la barrera del desierto del Sahara continuará sólida o aumentará. No tenemos que temer este camino de entrada dado que nuestros anofelinos no han tenido especialización filogenética con *P. falciparum* del África Occidental. Como siempre el problema, si llega, será desde el Este, y por tierra. No se si tenemos datos fiables y actuales de la existencia y distribución de las especies de anofeles transmisoras de *Plasmodium spp*, su tendencia homófila o zoófila y qué repercusión sobre la quimiosensibilidad han tenido las sucesivas oleadas —clorados, fosforados, carbamados, piretroides sintéticos…— de insecticidas agrícolas (68). Antes de seguir especulando con un futuro que, como conocemos del pasado, raramente se hace con las mimbres actuales, sí que convendría contestar bien las tres preguntas anteriores. Algunos datos pueden ser de utilidad, uno, que es muy positivo, la desaparición de un gran vector, *A. labranchiae* que fue el responsable de todo el paludismo de la costa mediterránea; la carga de insecticidas de los arrozales, huertas de cítricos y frutos diversos, las modificaciones estructurales de las costas, con desecación y urbanización costera empujada por el turismo; la confortabilidad de los visitantes obliga a la fumigación permanente durante los meses clave de abril a septiembre, lo que origina tal presión de selección que no hace posible la transmisión. Las áreas de cría fácil originarias de esta especie han sido ocupadas por *A. atroparvus.* Ade-

más de esta especie, ¿quién puede ocupar su lugar si las circustancias actuales cambian? Un candidato es *Anopheles saccharovi,* que fue el responsable de la reemergencia del paludismo en Armenia en 1984 (69), o *A. superpictus,* una especie ya presente entre nosotros. La otra especie transmisora, *A. atroparvus* perderá espacio en vez de ganarlo en un escenario de calentamiento. Sabemos muy poco de esta especie y su posible papel como transmisor; no conocemos bien si su zoofilia que tanto ayudó a erradicar las tercianas benignas, continúa firmemente establecida. Una vez erradicado el paludismo, este anofelino ocupó áreas que antes utilizaba *A. labranquiae,* como los arrozales del Delta del Ebro, un área piloto sin duda para la observación de las repercusiones del cambio climático: tiene una extensión de 22.000 hectáreas y cuenta con abundantes poblaciones periféricas, así como numerosos obreros emigrantes en continuo trasiego. El paludismo se extinguió en esta área casi veinte años antes que el último foco de la Península pero su situación geográfica y tipo de agricultura, la vuelven más próxima que ninguna otra zona a la puerta de entrada terrestre de un paludismo que venga del Este. No sabemos si *A. saccharovi* estuvo ya en las Baleares. Los datos históricos del Paludismo en Mallorca no especificaban especie, refiriéndose al transmisor como *Anopheles maculipennis* —denominación genérica sin duda dado que *A. maculipennis* s.s. (en sentido estricto) no transmite el Paludismo— *A. saccharovi* es muy plástico, cría en aguas claras, poco profundas, tanto costeras con sal abundante como del interior, con vegetación, en áreas bien soleadas. Lo que si hace bien *A. saccharovi* es transmitir *P. flaciparum* de origen africano y *P. vivax*. Su área de dispersión llega a Palestina y Gaza y allí coincide con *A. pharaoensis,* que siempre jugó un buen papel en la transmisión del Paludismo en el Valle del Nilo. Lo propio sucede con *A. superpictus.* Este valle es el gran pasillo de escape de los patógenos africanos y también de *P. falciparum* si vuelve hacia el norte con el cambio climático.

Está claro que la reintrodución del paludismo depende del cambio climático y del calentamiento subsiguiente. Los límites, las rayas rojas, son: 1) La existencia de especies con capacidad vectorial o su introducción. 2) La proporción de poblaciones homófilas o zoófilas en la especie transmisora potencial. 3) La vida media del mosquito adulto que disminuye en el ambiente urbano. 4) El aumento de lugares de cría, previsiblemente modificado, en uno u otro sentido, por la sequía y las lluvias torrenciales con inundaciones. 5) La temperatura media ambiental que condiciona: *a)* el tiempo en días del ciclo gonotrófico (ciclo de metamorfosis de huevo a adulto) o intervalo entre puestas y por ello de tomas de sangre; *b)* el ciclo esporogónico, o tiempo en días del desarrollo del parásito en el mosquito (desde que los gametocitos ingeridos al picar a un palúdico, se reproducen sexualmente y se multiplican por esporulación para formar los esporozoitos infectantes para otro hombre). Ambos parámetros dependen de la temperatura media. Se calculan para un lugar determinado como el cociente entre la suma sucesivas de temperaturas por encima del límite inferior de desarrollo, dividido por la diferencia entre la temperatura media y la temperatura límite inferior. Para el ciclo gonotrófico es de 10º C (9,9º C) y 15º C (14,5º C)

para el esporogónico. La temperatura óptima para el desarrollo de los mosquitos es de 20-27º C y de 22 a 30º C para los plasmodios (un poco diferente en cada especie 22º C P. malariae, 25º C P. vivax, 30º C P. falciparum) (70). La primera puesta de huevos se produce al cuarto o quinto día de vida y las puestas sucesivas se repetirán cada dos o tres días, en tiempo menor cuanta más alta sea la temperatura. El ciclo gonotrófico o de prepatencia en el mosquito es de 10-12 días, pero en unas condiciones tropicales las hembras de los mosquitos transmisores superan las cuatro semanas de vida. Si la temperatura media y la humedad son altas, unos 35º C, el ciclo esporogónico puede reducirse a una semana (5-7 días). En las condiciones actuales, muy próximas a las existentes hace cuarenta años en que erradicamos el paludismo, las condiciones de transmisión sólo se producen en el verano-otoño (se llamaba sazonismo, cuando los frutos llegaban a la sazón, al proceso). El cambio climático alargará en principio el tiempo de transmisión. La temperatura es un factor determinante y la pluviosidad. La sequía es desfavorable para la transmisión de grandes áreas, pero la aumenta en las márgenes de ríos que se desecan parcialmente o disminuyen su corriente. Por otra parte, las lluvias torrenciales y las inundaciones subsiguientes pueden ocasionar explosiones demográficas de los transmisores.

Volviendo a la situación local, no está claro que *A. atroparvus* sea o no especie receptiva a la infección. No hay trabajos españoles sobre la infectibilidad de esta especie. Un único trabajo italiano (71) realizado con un pequeño número de mosquitos cazados en Italia y puestos a picar sobre portadores de gametocitos en Kenia, demostró que ni *A. labranchiae* ni *A. atroparvus* fueron susceptibles a *P. falciparum*. El trabajo sólo es indicativo, aunque ha sido corroborado por experiencias en Portugal (72), confirmando viejas experiencias británicas (73), recientemente revisadas (74). Parece que la infectividad de esta especie, en sus poblaciones antropófilas, si persisten, es más probable para *P. vivax* y/o *P. ovale* que para *P. falciparum*. Esta circunstancia es positiva y al mismo tiempo es una llamada de atención hacia un posible caso reciente de malaria por *P. ovale* importada (de aeropuerto —así se ha explicado oficialmente—) (75) o no, dada la distancia entre Alcalá de Henares, donde habitaba el paciente y el Aeropuerto de Barajas y la vulnerabilidad del área, valle del Henares, con presencia de *A. atroparvus*.

No es posible prever todas las variables de futuro, pero si la invasión mundial de *Aedes albopictus* nos sirve de ejemplo y contando con el dato cierto de que tenemos más de dos millones de emigrantes de los que el 41% son de América del Centro y Sur, por qué descartar que nos llegue también una especie tan eficiente transmisora de este área como es *Anopheles albimanus*, la responsable del Paludismo en Centro y buena parte de Sudamérica (toda la costa de Ecuador y la pacífica de Colombia); un mosquito muy doméstico, urbanita, que pica igual a personas que animales, de ambiente tropical. Ya en el pasado hubo ensayos de asentamiento, en este caso de *Aedes aegypti,* 1784, y su transmisión de Dengue y las sucesivas epidemias de Cádiz, Canarias, Barcelona, o de la fiebre amarilla, 1856, y los brotes con miles de muertes de Barcelona, Cádiz, Jerez, Cartagena, Lisboa (68). La probabilidad es similar a la del avance de las

especies transmisoras africanas: *A. sergenti,* al que se responsabilizó del brote de malara de la Isla Pantelaria a medio camino entre Túnez y Sicilia (76).

La malaria está estos días en el centro de una disputa política global. Todos los países firmantes del protocolo de Kioto y científicos procedentes de USA, país que no ha firmado dicho protocolo, conducente a reducir la emisión de CO_2 a la atmósfera y el efecto invernadero que causa el calentamiento global. Los pronósticos para finales del siglo XXI (2080) son gran riesgo de hambruna, sequía, inundaciones y malaria. Si las condiciones actuales de prevalencia y crecimiento de la malaria persisten, la población bajo riesgo de malaria en el 2080 puede ascender a 9.000 millones, pero el cambio climático incrementaría esta cifra en un 3%. Está claro que el esfuerzo contra la malaria debe hacerse con independencia del cambio climático (77).

Los culicinos, los mosquitos zancudos, son bien conocidos por el público no experto, son muy importantes en un escenario de cambio climático pero otro insecto, mosquito también, pequeño, peludo, como jorobado, las beatillas o flebotomos, no van a la zaga como vectores de otras importantes enfermedades infecciosas y parasitarias, cuya epidemiología se alterará con el cambio climático. Transmiten flebovirus, algunos estudiados recientemente por el grupo de Morillas en Granada, ya están aquí, estuvieron probablemente siempre. Son como el virus Toscana. Otros pueden venir, particularmente la fiebre hemorrágica del Valle del Rift. Además, su papel principal es la transmisión de protozoos quinetoplástidos, las especies de Leishmania. Ya tenemos, al menos desde el Centro hacia el Sur, dos especies endémicas de estos mosquitos: Phlebotomus ariasi y Ph. perniciosus.

La Leishmaniosis actual debida a *Leishmania infantum* es un problema básicamente veterinario, ya que el ciclo completo se produce sólo entre los cánidos y los flebotomos. El cánido salvaje, persistente en abundancia, es el zorro. Desde este nicho los flebotomos lo transmiten al perro, ciclo perro/flebotomo de áreas rurales o peri urbanas, donde hay cultivos de regadío o jardines con césped y riego por aspersión que favorece la cría de estos insecto. Los flebotomos al picar transmiten la enfermedad al hombre con sistema inmune comprometido, donde se desarrolla predominantemente en las vísceras (hígado, bazo, médula ósea), con lo que el ciclo hombre flebotomo —como ocurre con *L. donovani* en la India— no es posible. El hombre inmunocomprometido es el que se infecta, así ocurría con los niños lactantes —con lactancia artificial, malnutridos e inmunodeficientes, de aquí el nombre hispano de «bazo de leche» de la enfermedad— por la esplenomegalia típica y el epíteto específico del nombre de la especie, *infantum*, es decir, de los niños.

¿Qué posibilidades existen de modificación epidemiológica con el cambio climático? Dos aparentemente: el avance sur norte de la enfermedad dentro de la Península junto con el aumento de la eficacia de transmisión de flebotomos, con menor tiempo para la multiplicación de los promastigotes en su digestivo y, lo que es mas importante, mayor número de generaciones al interrumpirse el descanso

invernal. Seguramente este efecto incrementado de las posibilidades de la infección se verá compensado con el menor número de áreas de cría; la economía del agua cambiará drásticamente con el cambio climático, disminuyendo regadíos artificiales, de jardines, etc. La segunda posibilidad es la introducción de otro conjunto de genovariedades de especies diferentes. La Leishmaniosis dérmica por *L. major,* que se desarrolla ahora en Marruecos como lugar más próximo, en unas condiciones climáticas como las esperables podría teóricamente pasar a la Península. No será fácil, puesto que también deberían introducirse los roedores reservorios de esta especie, roedores de áreas semidesérticas. Ya contamos con manifestaciones clínicas de Leishmaniosis dérmica —Botón de Oriente— ocasionadas por zimodemas (genovariedades) predominantemente dérmicos, de nuestra *L. infantum* que ocasionan lesiones circunscritas ilimitadas al área de inoculación. La introducible ocasiona una lesión dérmica más intensa «Botón de Oriente húmedo» con posibilidad de generalización.

Finalmente, los restantes artrópodos vectores, garrapatas y chinchorros, ácaros acariformes de las familias ixodeidae y argasidae, son transmisores de norovirus, como los de la fiebre hemorrágica de Crimea-Congo, y flavivirus, como los de la encefalitis por garrapatas, así como bacterias: richettsis como *R. conori,* que causa la fiebre botonosa y espirilos como las Borrelia (*B. burdorferi* causante de la enfermedad de Lyme; *B. hispanica* causante de la fiebre de los porqueros). Otros agentes transmitidos por garrapatas son las Babesias y las Theilerias, protozoos apicomplejos emparentados con los que causan el paludismo. Una especie al menos *B. microti* infecta al hombre con integridad inmunitaria. Existe el agente en nuestro ámbito aunque restringido a áreas montañosas donde viven los micrótidos hospedadores intermediarios y sus garrapatas. El cambio climático esperado no favorecerá la expansión de los ixódidos, sin embargo si que puede favorecer a los argásidos.

Aunque necesitaría un análisis más profundo, aparentemente, el cambio climático no influenciará directamente la prevalencia de los protozoos parásitos intestinales de ciclo directo. La tropicalización favorece sus ciclos externos sólo si las condiciones higiénico-sanitarias cambiaran a peor. Los más importantes, *Giardia duodenalis*, ahora subendémica, y *Cryptosporidium hominis y C. parvum,* oportunistas, si se mantienen los estándares de control actuales sobre el agua potable, no deberían cambiar. La afirmación tiene sus riesgos. El cambio climático va a producir un cambo radical en el uso del agua dulce, tanto para los usos agrícolas como del abastecimiento urbano. El agua será sin duda el (78) gran problema a resolver.

BIBLIOGRAFÍA CITADA Y NOTAS

(1) http://www.iespana.es/natureduca/bio_introduc.htm. Biología evolutiva. Introducción.
(2) López-Neyra, C. R. (1916-1920): Notas helmintológicas. *Bol. R. Soc. Historia Natural*, **16:** 457; **18:** 145; **20:** 75; **22:** 402.

(3) BONIFACIO DE LA CUADRA (1897). Citado por IGLESIAS, L. (1942): *Biología de los parásitos del hombre*. Imprenta Paredes, Santiago de Compostela.
(4) GONZÁLEZ ÁLVAREZ, M., GONZÁLEZ ÁLVAREZ, J. (1905): La anquiliostomiasis o anemia de los mineros. *Memoria Real Academia de Medicina*, 4 de marzo de 1905.
(5) ECHEVARRÍA Y ALDECOA (1916): *La uncinariosis; estudio de dicha enfermedad parasitaría, principalmente en España.* Memoria. Bilbao.
(6) HERNÁNDEZ PACHECHO, D. (1928): El problema de la anquiliostomiasis en las minas de España. *Med. de los Países Cálidos,* **1:** 39.
(7) FRAGA DE AZEVEDO, J.; ROQUE, R. A.; COLACO, A.; CRISTINO, E.; RES, J. F., COELHO, M. F. (1948): A ancilostomiase rural en Portugal. *Anais Inst. Med. Trop.,* **5:** 31.
(8) MALDONADO, M. (1935): Un foco de Necatoriasis importado en Castañar de Ibor. *Med. de los Países Cálidos,* **8:** 217.
(9) LÓPEZ-NEYRA, C. R., TORRES LÓPEZ, A. J. (1928): Gusanos parásitos intestinales del hombre en España. *Med. de los Países Cálidos,* **1:** 411.
(10) FERNÁNDEZ MARTÍNEZ, F. (1932): Un caso de diarrea por trichocéfalos. *Med. de los Países Cálidos,* **5:** 507.
(11) FERNÁNDEZ MARTÍNEZ, F. (1940): *Parasitosis intestinales*. Salvat Editores, S. A. Barcelona-Buenos Aires.
(12) ZÚÑIGA RODRÍGUEZ, M. C.; ARIAS FERNÁNDEZ, C., MARTÍNEZ FERNÁDEZ, A. R. (1976): *Encuesta coprológica de parasitismo humanos en Galicia.*
(13) ARIAS FERNÁNDEZ, C. (1980): *Parasitismo en Galicia y tratamiento humano y experimental de la Tichurosis.* Tesis doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. Facultad de Farmacia.
(14) VASALLO MATILLA, F. (1976): Evolución de los enteroparásitos humanos en España. Estudio por provincias. *An. Real Acad. de Medicina.* Tomo 93.
(15) GALLEGO, J.; PUMAROLA, A., PRATS, M. (1978): Enteroparasitosis de la población infantil de Barcelona *Segunda Reunión Anual de la A.P.E,* 27-28 de octubre de 1978.
(16) PRATS-BAYGUAL, M. (1978): *Estudios sobre el grado de parasitismo intestinal de la población infantil de Barcelona.* Tesis doctoral Universidad de Barcelona Facultad de Farmacia.
(17) PÉREZ VALDES, R. (1897): Un caso de angilula intestinal. *Rev. Med. Cirug. Practicas,* **38:** 338, y **40:** 5.
(18) CAPELL FONT, J.; PUJOL FARRIOLS, R.; GRAU ALEMANY, J.; PALLARES GINER, R., CAMPO GUERRI, E. (1982): Hiperinfección por Strongiloides stercoralis, *Med. Clin. (Barc)* **79:** 232-235.
(19) SANCHEZ-BAYARRI VAITLANT, V.; GONZÁLEZ CRUZ CERVILLERA, A., SÁNCHEZ-BAYARRI LAHOZ, V. (1981): Infestación grave por Strongyloides y síndrome paraneoplasico. *Rev. Diagn. Biol.* **30:** 125-127.
(20) CREMADES-ROMERO, M. J.; IGUAL ADELF, R.; RICART OLMOS, C.; ESTELLES PIERA, E.; PASTOR GUZMÁN, A., MENÉNDEZ VILLANUEVA, R. (1997): Infección por Strongyloides stercolaris en la comarca de La Safor (Comunidad Valenciana) *Med. Clin.(Barc.)* **109:** 212-215.
(21) RODRÍGUEZ CALABUIG, D.; OLTRA-ALCARÁZ, C.; IGUAL ADELL, R.; PARRA GODOY, F.; MARTÍNEZ SÁNCHEZ, J., ÁNGEL RÓDENAS, C. (1998): 30 casos de Strongyloidiasis en un centro de atención primaria, características y posible complicaciones. *Atención Primaria* **31:** 271-274.
(22) ROMÁN SÁNCHEZ, P.; PASTOR GUZMÁN, A.; MORENO GUILLÉN, S.; IGUAL ADELL, R.; MARTÍN STRUCH, A.; NAVARRO GONZALO, I., RICART OLMOS, C. (2001): Endemic Strongyloidiasis on the Spanish mediterranean coast. *Q J Med.* **94:** 357-363.
(23) MARTÍN SÁNCHEZ, A. M.; HERNÁNDEZ GARCÍA, A.; GONZÁLEZ FERNÁNDEZ, M.; ALFONSO DOMÍNGUEZ, O.; HERNÁNDEZ CABRERA, M., PÉREZ ARELLANO, J. L. (2000): Parasitismos intestinales en inmigrantes subsaharianos asintomática . Gran Canaria 2000. *Rev. Clin. Esp.,* **204:** 14-17.

(24) LÓPEZ VÉLEZ, R.; HUERGA, H., TURRIENTES, M. C. (2003): Infection diseases in inmigrants from the perspective of a tropical medicine referral unit. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **69:** 115-121.

(25) www.world-turism.org; www.iet.tourispain.es/estudios/familitur/familitur.htm.

(26) Nota: Las espececies descritas de *Anisakis* son: *A. simplex,* tipo A, llamado *A. pegreffii,* del Mediterráneo; *A. simplex,* tipo B, que es el *A. simplex sensu estricto* del Atlántico Norte; *A. simplex,* tipo C, de regiones australes y del Pacífico Boreal, y *A. Physeteris,* de cetáceos y por ello con área marina muy amplia. Otra especie de este género es *A. ziphidarum* de cetáceos también del Mediterráneo y Sur de África. Otros géneros causantes del proceso son: *Pseuterranova decipiens, Contracaecum osculatum* e *Hysterothylacium aduncum.*

(27) TORO, C.; CABALLERO, M. L.; BAQUERO, M.; GARCÍA-SAMANIEGO, J.; CASADO, I.; MARTÍNEZ, P.; ALARCÓN, T., MONEO, I. (2006): Seropositivity to a major allergen of Anisakis simplex, Ani s 1, in dyspeptic patients with Helicobacter pylori infection: histological and laboratory findings and clinical significance. *Clin Microbiol Infect.*, **12** (5): 453.

(28) CUELLAR DEL HOYO, C. *et al*. Trabajos en curso en el Departamento de Parasitolgía de la UCM ver en PubMed Cuellar, C. and Anisakis.

(29) Nota: Así se crearon razas como la Beckshire, formada por cruce entre los cerdos del condado y cerdos procedentes de Síam y China. La raza estaba ya fijada en 1823 en que se realiza la primera exportación a los EE.UU. (ya en 1875 se crea la American Beckshire Association). Otra raza que se formó del mismo modo es la Large Black, a partir de cerdos de East Anglia, con cerdos chinos traídos a Inglaterra en 1800, así como la alemana Swabian-Hall Swine, formada en 1820-21 con importación de la raza Meishan de China. http://www.ansi.okstate.edu/breeds/swine/

(30) MARTÍNEZ FERNÁNDEZ, A. R.; ARRIBAS, B.; DEA AYUELA, M. A., BOLAS, F. (1998): Identity of Trichinella britovi: compatibility and reproductive isolation. En: Ortega Pierres, G. *et al.,* edits *Trichinellosis ITC9*. Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional de Mexico. ISBN 970-18-0864-5. Mexico, pp 29-35.

(31) FONSECA-SALAMANCA, F.; NOGAL-RUIZ, C.; BENITO, C.; CAMACHO, M. V., MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ, A. R. (2006): Molecular characterization of Trichinella genotypes by inter-simple sequence repeat polymerase Chiang reactio (ISSR-PCR). *J. Parasitol.,* **92** (3): (en prensa).

(32) Nota: ¿Si esto es válido para *T. spiralis,* por qué no es también para T. britovi? Cabe la posibilidad que a través de la formación de la raza Duroc fuera llevada *T. britovi* a América del Norte. La raza se originó con importaciones de cerdos de África Occidental subsahariana y de los cerdos ibéricos de capa colorada en paralelo con el transporte de esclavos hacia el Caribe y sur de Norteamérica. El intercambio de cerdos entre la Península y África Occidental Subsahariana debió ser habitual en los siglos XV al XVIII. La raza de cerdos colorados de Guinea ha desaparecido; eran como los colorados ibéricos, cerdos de capa rubia importados a Inglaterra y a las colonias inglesas que debían de proceder de los introducidos en África a través de los asentamientos comerciales portugueses. Posteriormente la raza Duroc se refuerza con importaciones en 1837 y 1857 de cerdos ibéricos de Portugal y España. Curiosamente, esta raza fijada así en Norteamérica es la base actual de la cría industrial de los cerdos ibéricos productores de jamones, etc., de pata negra. Los cerdos ibéricos y mejor aún los perros pudieron haber sido el transporte hacia América de *Trichinella britovi* de la cual no hay noticia salvo su pariente próximo *Trichinella murrelli.* Más probable aún es que la presencia de *T. britovi* en África Occidental, recientemente demostrada se debe a la introducción porcina portuguesa antes indicada.

(33) POZIO, E.; LA ROSA, G.; SERRANO, F. J.; BARRAT, J., ROSSI, L. (1996): Environmental and human influence on the ecology *of Trichinella spiralis* and Trichinella britovi in Western Europe. *Parasitology,* **113,** 527-533.

(34) Nota: La primera norma se dicta en 1879 tras el brote espectacular de Villar del Arzobispo (Valencia) (R. O. 1879, Diario oficial de 18 julio; la segunda es el R. D. de 9 de octubre de 1883, posterior al brote de Málaga).
(35) MARTÍNEZ- FERNÁNDEZ, A. R. (1999). Capítulo 27. Triquinelosis. En: Cordero, M., Rojo, F., Martínez, A.R. *et al.* Ed. *Partasitología Veterinaria:* 496-506. McGraw-Hill.
(36) MARTÍNEZ FERNÁNDEZ, A. R. (2006): Posibles riesgos sanitarios derivados de la presencia de parásitos. Libro homenaje al Profesor Navarrete (en prensa).
(37) CORDERO, M.; MARTÍNEZ FERNÁNDEZ, A. R., ALLER, B. (1970): Some facts concerning the epizootiology of Trichinellosis in Spain. *Wiadomosci Parazytologicne,* **16** (1): 100-108.
(38) LÓPEZ HERNÁNDEZ, B.; GEA VELÁZQUEZ DE CASTRO, M. T.; GALICIA GARCÍA, M., SABONET, J. C (2001): Brote epidémico por *Trichinella britovi* en Granada durante la primavera del 2000. *Rev. Esp. Salud Publica*, **75:** 467-474.
(39) GÓMEZ-GARCÍA, V.; HERNÁNDEZ-QUERO, J., RODRÍGUEZ-OSORIO, M. (2003): Short Report: Human Infection with *Trichinella britovi* in Granada, Spain *Am. J. Trop. Med. Hyg.,* **68:** 463-464.
(40) CORTÉS-BLANCO, M.; GARCÍA-CABAÑAS, A.; GUERRA-PEGUERO, F.; RAMOS-ACEITERO, J. M.; HERRERA-GUIBERT, D., MARTÍNEZ-NAVARRO, J. F. (2002): Outbreak of trichinellosis in Cáceres, Spain, December 2001-February. *Eurosurvillance,* **7** (10): 136-138.
(41) MARTÍNEZ FERNÁNDEZ, A. R.; NOGAL RUIZ, J. J., FONSECA SALAMANCA, F. (2005): *Trichinella britovi* Pozio *et al.*, 1992, la triquina endémica en los climas templados del viejo mundo - REDVET, **6** (3): 1-12.
http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050505.html
(42) NOCKLER, K.; RECKINGER, S., POZIO, E. (2006): Trichinella spiralis and Trichinella pseudospiralis mixed infection in a wild boar (Sus scrofa) of Germany. *Vet Parasitol.*, **137** (3-4): 364-8.
(43) RANQUE, S.; FAUGÈRE, B.; POZIO, E.; LA ROSA, G.; TAMBURRINI, A.; PELLISSIER, J. F., BROUQUI, F. (2000): *Trichinella pseudospiralis.* Outbreak in France. *Emergin Iinfectious Disease,* **6** (5): 543-547.
(44) HOBERT, E. P. (2005): Phylogeny of Taenia: Species definitions and origins of human parasites. *Parasitology International*. **55.** Suppl: S23-30.
(45) HOBERG, E. P.; ALKIRE, N. L.; QUEIROZ, A. DE; JONES, A. (2001): Out of Africa: origins of the Taenia tapeworms in humans. *Proc. R. Soc., London, B* **268:** 781-787.
(46) ROJO VÁZQUEZ, F. A.; MARTÍNEZ FERNÁNDEZ, A. R., ROJO VÁZQUEZ, J. (2002): La cisticercosis porcina en la primera mitad del siglo XX en la ciudad de León. Datos obtenidos de los libros de sacrificios del Matadero Municipal de la ciudad. *I Jornadas Nacionales* y *II Congreso Iberoamericano de Historia de la Veterinaria. Actas,* pp. 429-435. Edita Celarayn, S. L., León. ISBN: 84-89716-87-00.
(47) GARCÍA ALBEA, E. (1989): Cysticercosis en España. Datos Epidemiológicos. *Rev Clin Esp*., **184** (1): 3-6.
(48) GALÁN PUCHADES, M. T., FUENTES, M. V. (2000): Human cisticercosis and larval tropism of Taenia asiática. *Parasitology Today*, **16:** 174.
(49) ROJO VÁZQUEZ, F. A., FERRE PÉREZ, I. (1999): Capítulo 18. Fasciolosis. En: Cordero, M.; Rojo, F., Martínez, A. R. *et al.,* edit. McGraw-Hill. Interamericana.
(50) RAMAJO MARTÍN, V. (1972): Contribución al estudio epizootiológico de la esquistosomiasis *bovina (Schistosoma bovis)* en la provincia de Salamanca. *An. Fac. Vet. León,* **18:** 151-214.
(51) BETTENCOURT, A., BORGES, I. (1922): Le *Planorbis metidjensis*, hôte intermédiaire du *Schistosoma haematobium* au Portugal. Cofirmation expérimentale. *Arq Inst Bacteriol Camara Pestana, Lisbon,* **5:** 133-135.
(52) XAVIER, M. L., DE AZEVEDO, J. F. (1965): Susceptibility of Planorbarius metidjensis (Forbes) from the south of Portugal (Algarve) and Bulinus (Ph.) africanus from Por-

tuguese Guinea to Schistosoma haematobium from the same overseas province. *An Inst Med Trop (Lisb*), **22** (1): 57-63.

(53) Ramajo Martín, V. (1972): Contribución al estudio epizootiológico de la esquistosomiasis bovina (Schistosoma bovis) en la provincia de Salamanca. *Rev. Iber. Parasitol.,* **32:** 207.

(54) Southgate, V. R.; Wright, C. A.; Laaziri, H. M., Knowles, R. J. (1984): Is Planorbarius metidjensis compatible with Schistosoma haematobium and S. bovis? *Bull Soc Pathol Exot Filiales.* 1984 Jul-Aug, **77** (4): 409-506.

(55) Yacoubi, B.; Zekhnini, A.; Moukrim, A., Rondelaud, D. (1999): Schistosoma haematobium?: comparative studies on the characteristics of infection in three populations of Planorbarius metidjensis from the Agadir province in South Morocco. *Parasitol. Res.,* **85** (9): 239-242.

(56) Moukrim, A.; Zekhnini, A., Rondelaud, D. (1996): Schistosoma haematobium: influence of the number of miracidia on several characteristics of infection in newborn Planorbarius metidjensis. *Parasitol Res.;* **82** (3): 267-9.

(57) Almarza Hiuanz, N. (1934): Los distomas de la oveja. *Ganaderia,* **2:** 7. También en 1935. Die Leberegel des Schafdes. Beschreibung neuerer Arten. *Zeitsch. f. Infektions. Parasit. Krank. Hyg. Haust.,* **47:** 195.

(58) Posters y resúmenes del Simposio 8. Toxoplasma and toxoplasmosis. ICOPA X. Valencia, Spain pp.

(59) Miró, G.; Montoya, A.; Jiménez, S.; Frisuelos, C.; Mateo, M., Fuentes, I. (2004): Prevalence of antibodies to Toxoplasma gondii and intestinal parasites in stray, faro and household cats in Spain. *Vet. Parasitol.,* **126:** 249-255.

(60) Grassi, J. B. (1903): *Documenti riguardanti la storia della scoperta del modo di trasmissione della malaria umana: La verità non si stingue*. Milano.
Nota: Giovanni Battista Grassi, médico y zoólogo italiano (1854-1925), su contribución más importante a la medicina fue la demostración de que los plasmodios de la malaria se transmitían por los zancudos del género Anopheles a través de sus glándulas salivares. En 1898 identificó Anopheles claviger como vector y sucesivamente realizó la primera infección experimental. Con Amico Bignami (1862-1919) y Giuseppi Bastianelli (Bastianelli, G. and Bignami, A., 1900) Malaria and mosquitoes. *Lancet*, **1:** 79-83) demostraron en 1899 que el ciclo biológico del paludismo requería necesariamente el paso a través de su artrópodo vector. Realiza asimismo el ciclo completo de varias especies de Plasmodium. Tomado de la edición italiana de Wikipedia *(Da Wikipedia, l'enciclopedia libera).* Verdadero descubridor del ciclo de la malaria humana, al que injustamente la Fundación Nobel olvidó cuando asignó el segundo Premio a Donal Ross, 1902, un médico militar inglés, ayuno de conocimientos de zoología, que sólo alcanzó a demostrar, el mismo año en que J. B. Grassi hace su descubrimiento, la intervención en el ciclo de un plasmodio de gorriones del mosquito *Culex pipiens,* mediante unas «esporas negras». Aventuró la hipótesis de que igual ocurriría con la malaria humana, con una fase del ciclo en el agua.

(61) Mack, R. N.; Simberloff, D.; Lonsdale, W. M.; Evans, H.; Clout, M., Bazzaz, F. (2000): Invasiones biológicas: causas, epidemiología, consecuencias globales y control. *Tópicos en Ecología,* 5 (Primavera de 2000). Traducción dee «Issues in Ecology». Disponible en http://www.esa.org/sbi/sbi_issues/

(62) Puerta, F.; Flores, J. M.; Bustos, M., Padilla, F. (1992): Desarrollo de la varroasis (*Varroa jacobsoni* Oud; Mesoestigmata, Acari) en *Apis mellifera iberica*. Libro «in memoriam» del Doctor F. de Paula Martínez Gómez. Universidad de Córdoba, p. 621.

(63) Mas-Coma, S.; Funatsu, I. R., Bargues, M. D. (2001): *Fasciola hepatica* and lymnaeid snails occurring at very high altitude in South America. *Parasitology,* **123:** *Suppl:* S115-27.

(64) Storino, R., Jörg, M. E. (1994): Vías de infección y aspectos clínicos. In: R. Storino, J. Milei (orgs.), *Enfermedad de Chagas*, Bayma, Buenos Aires, p. 185-208.

(65) JOSHI, P. P.; SHEGOKAR, V. R.; POWAR, R. M.; HERDER, S.; KATTI, R.; SALKAR, H. R.; VIBHAWARI, S.; DANI, V. S.; BHARGAVA, A.; JANNIN, J., TRUC, PH. (2005): Human Trypanosomiasis Caused By *Trypanosoma evansi.* In India: The First Case Report. *Am. J. Trop. Med. Hyg.,* **73** (3): 491-495.

(66) LOZANO, A. R., FILIPE, A. R. (1998): Anticuerpos a virus West Nile y otros flavivirus transmitidos por artrópodos en la población del Delta del Ebro. *Rev. Esp. Salud Pública,* **72:** 245-250.

(67) SAMBONMATSU GÁMEZ, S. (2005): *Infección neurológica por el virus Toscaza en la provincia de Granada: estudio clínico epidemiológico.* Tesis Doctoral. Departamento de Parasitología. Univesidad de Granada.

(68) Nota. Las especies de Anopheles de nuestraa área geográfica son: *Anopheles labranchiae, A. atroparvus, A. saccharovi, A. superpictus, A. melanoon.* Son especies morfológicamente parecidas, pero aisladas reproductivamente. Son importantes como vectores: *A. labranchiae:* del este de España, Italia, Marruecos, Argelia, Túnez (actualmente presente sólo en Italia y el norte de África); *A. atroparvus:* resto de España, norte de Europa; *A. saccharovi:* norte de Italia, Grecia, este de Europa, Turquía, Siria, Jordania, Líbano, Palestina; *A. superpictus,* de la región mediterránea y Oriente medio. Por sus hábitos antropofílicos, los de mayor interés son: *A. atroparvus, A. labranchiae* y, sobre todo, *A. sacharovi* y *A. superpictus*. Otra especie, *A. sergenti,* del norte de África, es el vector en los oasis, se le responsabilizó del brote, posterior a la erradicación italiana, de la Isla Pantelaria.

(69) ROMI, R.; BOCCOLINI, D.; HOVANESYAN, I.; GRIGORYAN, G.; DI LUCA, M., SABATINELLI, G. (2002): *Anopheles sacharovi* (Diptera: Culicidae): A Reemerging Malaria Vector in the Ararat Valley of Armenia. *J. Med. Enthomol.* **93** (3): 446-450.

(70) LÓPEZ-VELEZ, R., MOLINA MORENO, R. (2005): Cambio climático en España y riesgo de enfermedades infecciosas y parasitarias transmitidas por artrópodos y roedores. *Rev. Esp. Salud Pública,* **79:** 177-190.

(71) RAMSDALE, C. D., COLUZZI, M. (1975): Studies on the infectivty of tropical African strains of Plasmodium falciparum to some southern European vectors of malaria. *Parassitologia,* **17:** 39-48.

(72) ZULUETA J. DE (1973): Malaria eradication in Europe: the achievements and the difficulties ahead. *J Trop Med Hyg.,* **76:** 279-82.

(73) SHUTE, P. G. (1951): Mosquito infection in artificially induced malaria. *Brit Med. Bull.,* **8:** 56-63.

(74) BEECHING, N., LALLOO, D. (2000): Malaria, imported - UK ex Sierra Leone 2000. 2277. A ProMED-mail post. 23 June 2000.

(75) CUADROS, J.; CALIENTE, M. J.; BENITO, A.; ARÉVALO, J.; CALERO, M. A.; SEGURA, J., RUIO, J. M. (2002): Plasmodum ovale malaria adquirid in Central Spain. *Emergin Infect.Dis.,* **8:** 1506-1508.

(76) ROMI, R.; SABATINELLI, G., MAJORI, G. (2001): Could Malaria reappear in Italy? *Emerging Infect. Dis,* **7** (6): 915-919.

(77) GOKLANY, I. M., KING, D. (2004): Climate change and malaria. http://www.global warm-ing.org/article.php?=785