

## NOVEDADES CIENTÍFICAS EN 2017

## EN CIENCIAS AMBIENTALES

BIOACCESIBILIDAD DE METALES EN LOS  
SEDIMENTOS DE LOS RÍOS MEDIANTE  
ESTUDIOS *IN VITRO*

Los cursos fluviales que discurren cerca de zonas urbanas e industriales contienen en muchos casos altos contenidos de contaminantes, como metales, hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), compuestos organoclorados y radionucleidos, como consecuencia de los vertidos urbanos e industriales.

La Directiva Marco del Agua (Directiva 2000/60/CE) establece medidas para la reducción o total eliminación de vertidos y emisiones de sustancias peligrosas. Sin embargo, esta directiva solo se centra en la calidad del agua sin tener en consideración la de los sedimentos fluviales y los métodos necesarios para su evaluación. No obstante, los contaminantes contenidos en los sedimentos se relacionan con los presentes en la biota de manera más directa que los contenidos en el agua. Estos sedimentos influyen en la calidad de vida y en la salud humana debido a su capacidad para transferir los contaminantes a la cadena trófica y al cuerpo humano.

Los metales pesados son uno de los grupos de contaminantes más preocupantes debido a su alta toxicidad, su capacidad para ser adsorbidos en los sedimentos, su elevada persistencia en el ambiente y su facilidad para ser incorporados en la cadena trófica. Los metales de los sedimentos fluviales pueden transferirse al cuerpo humano a través de su ingestión, contacto dérmico o inhalación, pero únicamente una pequeña fracción de estos elementos que se encuentra disponible biológicamente es capaz de producir efectos dañinos. El término biodisponibilidad se refiere al grado en el que los contaminantes presentes en suelos o sedimentos están disponibles para su absorción por los seres vivos, en cuyo proceso está incluida la bioaccesibilidad, que se puede definir como la liberación de contaminantes de los sedimentos y su acceso a los organismos, lo que permite que puedan

ser absorbidos y acumulados en los tejidos produciendo por tanto efectos tóxicos.

La mayoría de la normativa ambiental plantea la evaluación del riesgo que suponen los metales mediante la determinación de su concentración total en los sedimentos o en el suelo. Sin embargo, los metales se encuentran en los sedimentos en diversas formas químicas con diferentes grados de disponibilidad y toxicidad. Una forma más adecuada de determinar la biodisponibilidad de metales puede llevarse a cabo mediante experimentos *in vivo*, utilizando animales fisiológicamente similares a los humanos. Por otro lado, una alternativa más ética, rápida, sencilla y económica a estos métodos consiste en la evaluación de la bioaccesibilidad mediante métodos *in vitro*, en los que se añaden al sedimento reactivos químicos que permiten la solubilización de los contaminantes pero no necesariamente su absorción a través de una membrana fisiológica.

Por ello, un grupo de investigación del País Vasco ha llevado a cabo un estudio en el que se han simulado *in vitro* las condiciones fisiológicas presentes en el tracto digestivo humano para determinar la bioaccesibilidad de los metales en sedimentos fluviales, y así evaluar el riesgo de toxicidad que suponen en los seres humanos mediante su absorción por vía oral (*Ecotoxicology and Environmental Safety* 138, 260-270, 2017).

Para la realización de este estudio se recogieron muestras de sedimentos a lo largo del curso de río Deba (Guipúzcoa), desde su nacimiento hasta su desembocadura, así como de algunos de sus afluentes (Mazmela, Oñati y Ego), durante octubre de los años 2011 y 2012 (Figura 1). El río Deba es uno de los más contaminados de Guipúzcoa debido a la intensa actividad industrial (metalurgia, fundición, galvanizado, automoción, etc.) y la elevada densidad de población de las zonas por la que discurre este río. Se han instalado recientemente varias estaciones de depuración de aguas residuales para prevenir la contaminación de este río, aunque un gran volumen de agua sin tratar continúa siendo vertido directamente a su cauce.

Con las muestras de sedimentos se llevó a cabo un test *in vitro* para determinar la concentración de metales del sedimento que pueden ser absorbidos en el tracto

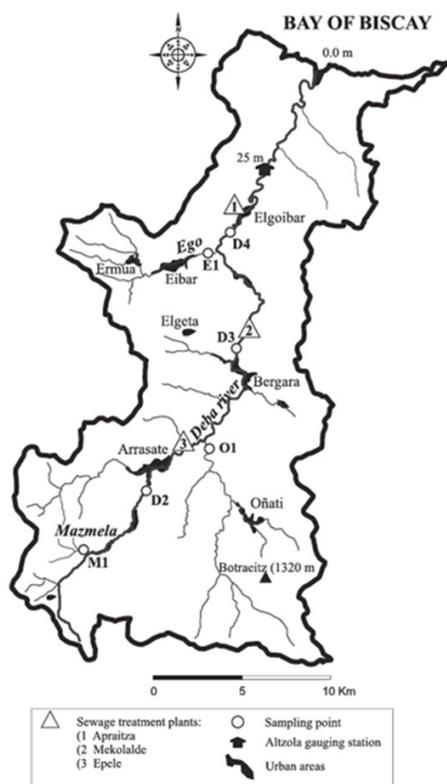


Figura 1. Situación de los puntos de muestreo y de las estaciones de depuración de aguas a lo largo del río Deba (Guipúzcoa).

digestivo de seres humanos, tanto en el estómago como en el intestino. Este test consiste en medir la concentración de metales en los extractos obtenidos tras añadir al sedimento ciertos reactivos en cantidades determinadas (como pepsina, ácido cítrico, málico, acético y láctico para la fase gástrica, y sales biliares, pancreatina y bicarbonato para la fase intestinal) y ajustar algunos parámetros, como el pH (pH 2,5 en la fase gástrica y pH 7 en la intestinal) o la temperatura (37°C), de manera que simule la cantidad metales liberados en los jugos gástrico e intestinal de un niño de 2-3 años (ya que son los que tienen un mayor riesgo por ingestión accidental).

Este test fisiológico se comparó con otros métodos que determinan la disponibilidad de metales únicamente de forma química: una prueba de lixiviabilidad en la que se extraen los metales con ácido acético, y un fraccionamiento utilizando extractantes de diferente fuerza de manera secuencial para determinar la concentración de metales en varias fracciones con distinto grado de disponibilidad. Estas fracciones son (en orden de disponibilidad): 1) fracción de metales solubles e intercambiables y asociada a carbonatos, 2) fracción reducible asociada a óxidos de Fe y Mn, 3) fracción oxidable asociada a la materia orgánica y sulfuros y 4) fracción residual.

Estos datos sirvieron para realizar un análisis de riesgos en la salud humana mediante la estimación de la ingestión diaria de diversos metales procedentes de los sedimentos y el cociente de peligrosidad, en el que se tiene en cuenta además la dosis máxima tolerable de ingestión de metales sin llegar a sufrir toxicidad.

Los resultados obtenidos en este trabajo demostraron que el método *in vitro* resulta ser más adecuado para evaluar la bioaccesibilidad de metales en los sedimentos que el químico. La adición de ácidos orgánicos (acético, cítrico, láctico o málico) y de enzimas capaces de romper polímeros orgánicos en moléculas más pequeñas fácilmente absorbidas por el organismo permite extraer una mayor cantidad de metales (especialmente los adsorbidos a la materia orgánica) que los obtenidos mediante métodos químicos, los cuales subestiman el riesgo de toxicidad por ingestión directa.

También se observó que algunos de los metales estudiados (Ni, Mn, Zn) son más fácilmente bioaccesibles, tanto al ser determinados por métodos químicos como fisiológicos. En cambio, otros metales (Pb, Cu, Cr, Fe) presentan una baja bioaccesibilidad, por lo que será más difícil su absorción en el tracto digestivo. La mayoría de estos metales se encontraron más bioaccesibles en las condiciones de los jugos gástricos que en los intestinales, debido a que el mayor pH y presencia de carbonatos en el intestino favorece los procesos de precipitación, co-precipitación, complejación o re-adsorción de los metales en partículas sólidas (materia orgánica, óxidos de Fe, carbonatos, sulfatos, fosfatos, arcillas), reduciendo así su solubilidad y por tanto su absorción en el intestino. Por el contrario, el Cu presenta una mayor bioaccesibilidad en el intestino que en el estómago, debido a que en ambientes más ácidos los complejos solubles de este metal son re-adsorbidos, disminuyendo su disponibilidad.

Al estudiar la variación espacial y temporal (Figura 2) se vio que la bioaccesibilidad y la concentración en las fracciones más lábiles de casi todos los metales aumentó generalmente en las muestras recogidas en los lugares con mayor impacto urbano e industrial y también cuanto más bajo era el curso del río debido a los vertidos realizados a lo largo de este sistema fluvial. Asimismo, la bioaccesibilidad se redujo en la mayoría de los casos de 2011 a 2012, posiblemente a causa de la puesta en funcionamiento de la estación depuradora de Epele (mayo de 2012).

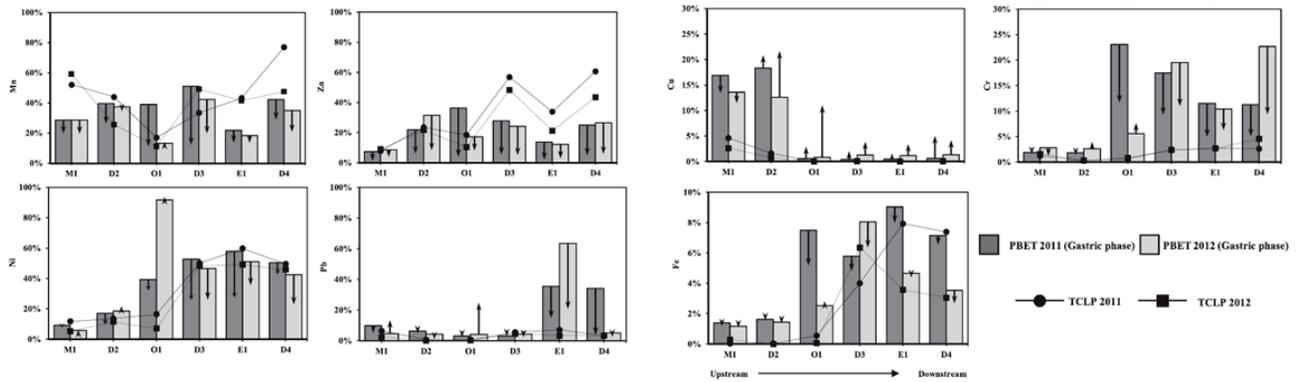


Figura 2. Evolución espacial (de izquierda a derecha aguas abajo) y temporal (años 2011 y 2012) de la bioaccesibilidad de metales mediante el método *in vitro* en la fase gástrica (PBTE) y el método químico (TCLP). Las flechas verticales indican aumentos o descensos en la fase intestinal en comparación con la gástrica.

En cuanto al análisis de riesgo de los metales en los sedimentos (Figura 3), los resultados obtenidos mostraron un mayor cociente de peligrosidad en el caso de la fase gástrica que en la intestinal, y al igual que lo observado en la bioaccesibilidad, un mayor riesgo en los cursos medio y bajo del río. Entre los metales considerados en el estudio, el Cr fue el metal que más contribuyó a este factor de riesgo en las muestras tomadas en el curso bajo, mientras que el Mn fue el de mayor riesgo aguas arriba.

Esta investigación pone de manifiesto la necesidad de introducir la bioaccesibilidad en los análisis de riesgo sobre la salud humana, dado que sirve como estimación de la capacidad de los contaminantes para incorporarse a la cadena trófica. Este riesgo se hace especialmente preocupante en el caso de sistemas fluviales que discurren junto a zonas de elevada concentración urbana e industrial, sobre todo en los cursos más bajos, donde los vertidos sin tratar aportan una mayor cantidad de contaminantes y en formas más bioaccesibles. Las actuales directivas de protección de las aguas estiman la bioaccesibilidad únicamente mediante la determinación del contenido total de metales. Sin embargo, la utilización

de métodos más realistas, como los *in vitro*, junto con el análisis de algunos parámetros de los sedimentos, como el pH, potencial de oxidación o contenido en materia orgánica, así como del contenido de metales en las distintas fracciones, ofrecen una mayor cantidad de información sobre el estado de los contaminantes y permiten predecir de forma más adecuada su bioaccesibilidad y el riesgo de toxicidad que suponen.

### ES NECESARIO AMPLIAR LA LISTA DE ESPECIES EXÓTICAS INVASORAS EN LA UNIÓN EUROPEA

Actualmente se estima que en Europa puede haber más de 12000 especies exóticas, de las cuales un 10-15% se pueden considerar invasoras. Estas especies invasoras pueden alterar la estructura y funcionamiento de los ecosistemas produciendo graves impactos ecológicos, así como daños económicos (pérdidas en explotaciones agrícolas, alteración de las infraestructuras, etc.) y en la salud humana (vectores de enfermedades, alergias, asma, etc.). Además, otro problema primordial es la amenaza que representan para la biodiversidad de Europa, puesto que compiten por recursos limitados con las especies nativas, cambian las condiciones de los hábitat, propagan enfermedades, etc., pudiendo llegar a causar la extinción de dichas especies nativas (Figura 4).

La adopción por la Unión Europea (UE) del Reglamento 1143/2014 sobre *Especies Exóticas Invasoras* (EEI) es una de las medidas de política medioambiental europea más importantes para alcanzar la meta 9 de Aichi. Las Metas de Aichi (Japón) del Convenio sobre la Diversidad Biológica (CDB) conforman 20 metas agrupadas en cinco objetivos estratégicos que deberían alcanzarse antes de 2020. El objetivo estratégico B consiste en “redu-

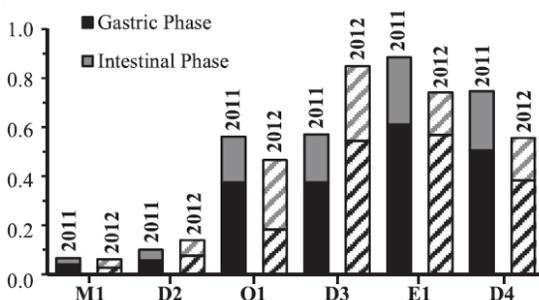


Figura 3. Cociente de peligrosidad de los metales en la fase gástrica e intestinal para cada muestra de sedimento durante 2011 y 2012. Se han considerado todos los metales juntos.



Figura 4. Ejemplos de Especies Exóticas Invasoras (EEI) incluidas en los Reglamentos de ejecución (UE) 2016/1141 y 2017/1263. A) La especie vegetal *Heracleum mantegazzianum* (perejil gigante) se introdujo en Europa como planta ornamental. Es muy tóxica y puede causar urticaria, dermatitis, ceguera, etc. Además produce graves impactos en la biodiversidad. B) *Procambarus clarkii* (cangrejo americano rojo) es una especie invasora que ha causado una importante disminución del cangrejo de río autóctono (*Austropotamobius pallipes*), al transmitirle una enfermedad infecciosa (afanomicosis) causada por el hongo *Aphanomyces astaci*. Constituye una importante amenaza para otras especies acuáticas (invertebrados, peces, anfibios y macrófitos). Acumulan metales pesados y toxinas producidos por cianobacterias, tales como *Microcystis aeruginosa*.

cir las presiones directas sobre la diversidad biológica y promover la utilización sostenible”. En este objetivo se incluye la meta 9 donde se expresa que: “Para 2020, se habrán identificado y priorizado las Especies Exóticas Invasoras (EEI) y vías de introducción, se habrán controlado o erradicado las especies prioritarias, y se habrán establecido medidas para gestionar las vías de introducción a fin de evitar su introducción y establecimiento”.

El eje central del Reglamento 1143/2014 es la lista de especies ajenas a la UE identificadas como invasoras al cumplir los requisitos establecidos en el artículo 4, apartado 3, y las condiciones recogidas en artículo 4, apartado 6. La inclusión de una especie significa que está prohibida su importación, comercio, posesión, crianza, transporte, uso y liberación en el medio ambiente. En la fase de implementación, los estados miembros de la UE acordaron la primera lista de EEI con 37 especies en 2016 (Reglamento de ejecución (UE) 2016/1141), y en la actualización de 2017 (Reglamento de ejecución (UE) 2017/1263) se incorporaron 12 especies más que resultan de especial preocupación para la UE. Sin embargo,

esta lista de 49 especies cubre menos de 5% de las más de mil EEI establecidas en Europa que producen impactos ecológicos o económicos. Por otra parte, los criterios empleados en su elaboración no son sistemáticos.

Por lo que un grupo de investigadores pertenecientes a diferentes instituciones como la Royal Society for the Protection of Birds (Sandy, UK), IUCN Species Survival Commission, Estación Biológica de Doñana (EBD-CSIC) (Sevilla, España), University College London (London, UK), etc., han desarrollado un método para clasificar sistemáticamente las EEI según su máxima amenaza para la biodiversidad en la UE. El estudio consta de cuatro fases complementarias, donde las dos primeras se han enfocado en desarrollar los criterios para la selección y el cribado de especies. Para ello han organizado, por un lado reuniones (workshop) de científicos especializados en el tema y por otro, encuentros centrados en aspectos políticos con expertos de organizaciones sobre conservación, grupos interesados, etc.

La tercera fase ha consistido en una búsqueda en bases de datos y artículos de revisión de aquellas especies con impactos sobre la biodiversidad o los ecosistemas, y la selección de las potencialmente más amenazantes. Finalmente, en la cuarta fase según los criterios definidos previamente se han incluido las especies en la matriz “distribución x tiempo” y se le han asignado una categoría de prioridad según el año que debería realizarse la evaluación de riesgos (Figura 5 y Tabla I). El intervalo varía desde 2018 para los casos más urgentes, pasando por 2020 a 2025, y finalmente 2030 para los menos apremiantes o inmediatos (*Journal of Applied Ecology* 00, 1–9, 2017).

A partir de la evaluación de las etapas de invasión y los impactos, los autores del artículo han identificado 1323 especies susceptibles de ser incluidas en la lista. De éstas, 900 especies pertenecientes a taxones diferentes, cumplen los criterios para su inclusión en la lista del Reglamento de EEI (Tabla II). De las cuales han prioriza-

Tabla I. Fecha prevista para que las especies invasoras se sometan a una evaluación de riesgos. Está basada en el impacto de las EE en la biodiversidad y la distribución de especies en la UE.

		Impacto en la Biodiversidad				
		Mínimo	Menor	Moderado	Mayoritario	Masivo
Distribuciones en la UE	Ausente	2030	2030	2025	2025	2020
	Inicial	2030	2030	2025	2025	2018
	Lugares dispersos	2030	2030	2025	2020	2018
	Numerosas ubicaciones	2030	2030	2025	2020	2018
	Omnipresentes	2030	2030	2025	2020	2018

Tabla II. Análisis de las 900 especies agrupadas por grupo taxonómico y vía de introducción.

	Impacto en la Biodiversidad						Total	%
	Liberación	Escape/Fuga	Contaminante	Polizón	Corredor	Sin ayuda		
Mammalia	11	40		1			52	5.8
Aves		61		1			70	7.8
Reptilia	4	25	1				30	3.3
Amphibia	3	3	2				8	0.9
Peces	31	28	1	6	7		73	8.1
Tunicata				16			16	1.8
Echinodermata			1				1	0.1
Mollusca		10	10	31			52	5.8
Insecta	6	2	95	12		2	117	13.0
Crustacea	2	13	2	28	1	1	47	5.2
Myriapoda			2				2	0.2
Arachnida		3	4				7	0.8
Annelida			1	11			12	1.3
Nematoda			2	1			3	0.3
Platyhelminthes			1				1	0.1
Ctenophora				2			2	0.2
Cnidaria				2	1		3	0.3
Bryozoa				5			5	0.6
Ascomycota				1			1	0.1
Spermatophyta	9	282	57	4	1		353	39.2
Pteridophyta		3	1				4	0.4
Bryophyta				1			1	0.1
Chlorophyta		3		3			6	0.1
Rhodophyta		1	5	9	1		16	1.8
Heterokontophyta			3	7	1		11	1.2
Haptophyta				1			1	
Dinophyta				6			6	
Total	74	474	188	148	13	3	900	100
%	8.2	52.7	20.9	16.4	1.4	0.3		

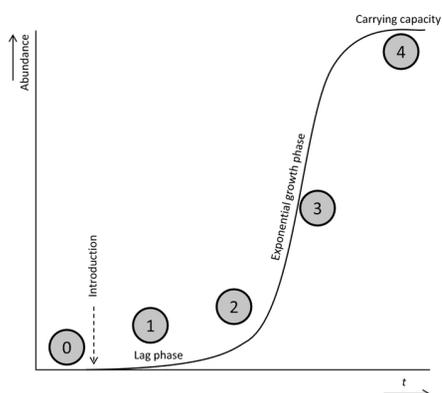


Figura 5. Curva de invasión teórica seguida por una población invasora. Etapas utilizadas en la evaluación de la distribución de cada especie y el historial de invasión: 0=ausente de la UE; 1=restringido a la ubicación inicial de la introducción; 2=lugares dispersos; 3=numerosas ubicaciones; 4=omnipresente.

do 207 especies por riesgos urgentes, 59 para 2018 y 148 para 2020, basándose en su potencial para dañar permanentemente las especies nativas o los ecosistemas. Además han identificado 336 especies para una segunda fase (2025), para prevenir importantes impactos sobre la biodiversidad. Las 357 especies restantes se han clasificado como de menor prioridad para la evaluación de riesgos porque los impactos en la biodiversidad o los ecosistemas se consideran de menor preocupación, por lo que se podrían evaluar a largo plazo (2030).

Consuelo Escolástico León  
Javier Pérez Esteban

Dpto. de Química Orgánica y Bio-Orgánica