

Microbiología ambiental

A lo largo de su carrera científica, el doctor Parés ha realizado una labor muy variada dentro de las diferentes áreas de la microbiología. Tiene publicaciones en fisiología, bioquímica, metabolismo, genética, farmacología, biotecnología y microbiología ambiental. A las primeras dedicó los primeros años de su actividad científica, mientras que a las dos últimas áreas centró su atención a partir de los años ochenta. Voy a comentar su labor en temas de microbiología ambiental, ya que la pude vivir de cerca como uno de sus colaboradores.

Una forma objetiva de empezar a comentar las actividades del doctor Parés en microbiología ambiental sería la de estudiar sus publicaciones más citadas. Las publicaciones son sobre temas diversos y en muchos casos representan el inicio de líneas de investigación vigentes en la actualidad en nuestro departamento, el Departamento de Microbiología de la Universidad de Barcelona.

SU PUBLICACIÓN MÁS CITADA

La publicación más citada es la de un nuevo método de aislamiento de bacterias del género *Bifidobacterium* en muestras ambientales. En un momento de búsqueda de nuevos marcadores de contaminación fecal humana [1], se puso a punto un método basado en la utilización de un nuevo medio, el *Bifidobacterium iodoacetate medium* 25, al que se añadieron técnicas de resucitación para aislar las bifidobacterias lesionadas de las muestras ambientales. El nuevo medio se probó con un medio de referencia no selectivo en aguas residuales y en aguas superficiales. Se produjo un crecimiento colonial relativamente pequeño de cualquier otro género bacteriano; cuando tales colonias crecieron, las colonias de *Bifidobacterium*

podían ser fácilmente diferenciadas por su morfología o después de la tinción de Gram, por su típica morfología bifidobacteriana.

ESTUDIOS DE BIODEGRADACIÓN

Otras publicaciones son los estudios de biodegradación de hidrocarburos en muestras ambientales, que inicialmente se desarrollaron con miembros del Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Un resumen de estas primeras publicaciones se recoge en los trabajos [2] y [3]. Los estudios realizados en el laboratorio de la degradación del petróleo crudo ligero árabe (punto de fusión < 200 °C) por cultivos puros de cepas bacterianas *Pseudomonas* sp., aisladas de las aguas de lastre de los petroleros, mostraron que la biodegradación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos sustituidos con alquilo depende en gran medida del número, la posición y el tipo de los sustituyentes. La biodegradación de alquilfenantrenos y dibenzotiofenos disminuía con un número creciente de sustituyentes. La biodegradación de metilfenantrenos (P), dibenzotiofenos (DBT), pirenos (Py) y crisenos (C) mostraba un patrón similar al observado previamente para los metilnaftalenos, y los compuestos que contienen posiciones adyacentes α y β no sustituidas se degradaron más fácilmente. Por lo tanto, 2 y 3-MP, 2 y 3-MDBT, 1-MP y 2 y 3-MC mostraron ser menos resistentes a la degradación dentro de estas familias. Los cicloalquilaromáticos, como los esteranos parcialmente aromatizados, los hopanos y los 8, 14-secohopanos fueron generalmente resistentes a la degradación por los cultivos empleados.

Otra línea muy interesante fueron los primeros estudios de ecotoxicidad llevados a cabo en nuestro entorno [4]. Estos primeros trabajos se enmarcaron en un estudio multidisciplinar subvencionado por el Proyecto SPIO - MOPU (Ministerio de Obras Públicas) de la época, en los sedimentos costeros del Área Metropolitana de Barcelona (AMB).

Los extractos orgánicos aislados de los sedimentos costeros de Barcelona se sometieron a la prueba de mutagenicidad de *Salmonella* (cepas TA 98, 100 y 1538), más la fracción microsomal de mamíferos (ensayo Mutatox©). Los resultados obtenidos fueron ambiguos y se observó una falta de correlación dosis-respuesta. Sin embargo, cuando los extractos se trataron en fracciones de polaridad creciente, estos mostraron un aumento paralelo en la mutagenicidad, siendo los más polares tóxicos. Esto parecía indicar que pueden ocurrir interferencias entre los componentes y que se necesita un fraccionamiento de clase química para una mejor evaluación de la mutagenicidad de estas muestras. Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (benzofluorantenos, benzopirenos y alquil benzoantracenos) identificados en las fracciones intermedias por HRGC-MS podrían explicar la

mutagenicidad observada. Sin embargo, en las fracciones polares solo se identificaron componentes biogénicos (por ejemplo, alcoholes y cetonas esteroideas y lineales) y trazas de xenobióticos tóxicos (por ejemplo, derivados de nonilfenol). Por estos motivos, se sugiere que la mutagenicidad de algunos componentes desconocidos podría acrecentarse por la concurrencia de los lípidos cocarcinogénicos encontrados.

ESTUDIOS CON *AEROMONAS* SP.

Los trabajos [5], [6] y [7] fueron el inicio de una nueva línea de investigación muy interesante por lo novedosa en su momento en el campo de la microbiología ambiental. Se investigó una posible correlación entre la presencia de aeromonas mesófilas y el número de coliformes fecales presentes en hábitats de agua dulce sujetos a diferentes niveles de contaminación fecal. La concentración de *Aeromonas* spp. que se encontraron en las aguas fue de $10^2 - 10^9$ ufc / 100 ml y de coliformes fecales entre $10^1 - 10^7$ ufc / 100 ml. En el agua libre de contaminación fecal no hubo correlación, pero en aguas contaminadas hubo una relación significativa entre el número de *Aeromonas* spp., coliformes fecales y la concentración de materia orgánica medida por la demanda biológica de oxígeno.

En otros estudios, los números de especies de *Aeromonas* spp. fueron monitoreados durante un año en 18 estaciones en la costa de Barcelona; sus concentraciones excedían a las de los coliformes y estreptococos fecales en todas las muestras, tanto en la línea de costa como a 500 m del litoral. Los valores medios de los tres recuentos bacterianos reflejaron la proximidad de los efluentes/vertidos terrestres. Hubo una correlación positiva entre *Aeromonas* spp. y los indicadores fecales en la línea de costa, pero no a 500 m mar adentro. Esto corroboró su origen común y las diferentes tasas de supervivencia en el agua de mar.

También se inoculó agua de mar estéril con *A. hydrophila* ATCC 7966; su concentración disminuyó inicialmente en tres órdenes de magnitud antes de que comenzaran a multiplicarse. De nuevo la concentración inicial de *Aeromonas* se pudo relacionar con la concentración de materia orgánica en el agua.

ESTUDIOS EN VIROLOGÍA AMBIENTAL

Esta línea de investigación se inició en 1980 en el Departamento. Fue una decisión valiente, ya que en aquella época nadie hacía virología ambiental en España y además tenía el inconveniente de ser una metodología cara con requerimientos especiales a nivel de infraestructuras. Sin embargo, a pesar de los inconvenientes,

se inició esta línea que es mantenida en la actualidad por diferentes grupos de investigación del Departamento.

La primera publicación en virología ambiental [8] se realizó en varios sistemas de aguas superficiales del AMB, incluidos dos ríos y tres playas, donde se analizaron en diferentes campañas de muestreo virus entéricos humanos. Se utilizó un método de concentración de virus basado en el polvo de vidrio como adsorbente para concentrarlos; el método utilizado permitía la concentración de grandes volúmenes de hasta 200 l de agua en un solo paso. Los valores obtenidos variaron de 18,4 a valores superiores a 55 MPNCU l⁻¹ en el río Besòs, y de 0,44 - 44 MPNCU l⁻¹ en el río Llobregat. Se aislaron virus en muestras de agua de mar, con unos valores que oscilaron entre 0 y 1,60 MPNCU l⁻¹. Estos primeros resultados se discutieron en términos de la no-correlación entre la contaminación por enterovirus humanos y los indicadores bacterianos tradicionales de contaminación fecal.

En un segundo trabajo [9], se estudiaron muestras de aguas residuales y superficiales del AMB, con el fin de identificar los virus entéricos circulantes. Se aislaron virus entéricos en las muestras de agua de salida de una planta de aguas residuales (con un 90 % de aislamientos positivos), de dos ríos (con un 92 y 80 % de aislamientos positivos) y de tres playas (17, 17 y 8 % de aislamientos positivos). Las identificaciones virales revelaron que se detectaron poliovirus en todos los tipos de agua en estudio, siendo la cepa prevalente poliovirus vacunal tipo 3. Estos trabajos fueron de los primeros en identificación de virus entéricos humanos en aguas superficiales de nuestro entorno.

Estas investigaciones permitieron poner en evidencia que un programa de inmunización masiva contra la poliomielitis llevado a cabo en una ciudad costera se correlacionó con un aumento significativo en los niveles de cepas de poliovirus de tipo vacunal recuperadas en el agua de mar próximo. Estas cepas de virus vacunales se detectaron junto con otras cepas silvestres aisladas regularmente que no excedían los niveles detectados habitualmente [10].

Siguiendo con los estudios de nuestro entorno, se realizaron investigaciones de los sedimentos marinos delante de la costa de Barcelona, en un área que recibía efluentes contaminados de las plantas de tratamiento de aguas residuales, colectores y aliviaderos no conectados a las plantas y los ríos del AMB. Se detectaron enterovirus en 21 de las 38 muestras analizadas (55 %). Los virus se encontraron a 5 km de la costa y a una profundidad de 82 m. Se calcularon múltiples correlaciones entre enterovirus y bacterias, detectadas en las mismas muestras. No se pudo demostrar una correlación entre el número de virus y cualquier otro parámetro en muestras de sedimentos recolectadas en Barcelona. Esta falta de correlación se debe probablemente a las diferentes tasas de inactivación natural que muestran las bacterias y los enterovirus [11].

Los estudios no solo se realizaron en nuestro entorno, sino que, incluso, para poder trabajar en unos modelos naturales más controlados, se llevaron a cabo unos estudios en el río Duero a su paso por la ciudad de Soria para poder evaluar los fenómenos de autodepuración natural. Se realizó un estudio durante varios meses para monitorear los enterovirus en cinco estaciones de muestreo a lo largo del río Duero, en las cercanías de Soria. Una estación estaba antes de la ciudad, otra era el vertido de aguas residuales de esta al río, y varias estaciones después del vertido a lo largo del río, hasta varios km río abajo. También se analizaron bacterias aeróbicas totales, coliformes fecales totales y estreptococos fecales, junto con varios parámetros fisicoquímicos.

El río alcanzaba un alto nivel de contaminación fecal después de la descarga del desagüe urbano de aguas residuales crudas. Se observó una disminución progresiva en los niveles de virus a lo largo del curso del río, que muestra la efectividad de los fenómenos naturales de inactivación de virus que tienen lugar en los ríos.

Aunque todas las poblaciones de las bacterias estudiadas se correlacionaban entre sí, no se demostró ninguna correlación entre los niveles de virus y ningún otro parámetro. Los procesos de depuración del virus se verificaron que ocurrieron, pero de forma diferencial con respecto a los indicadores bacterianos de contaminación fecal [12].

Estos estudios iniciados en los años ochenta continuaron con los que se hicieron en el AMB durante los años siguientes. Así, en 1979, el número de enterovirus infecciosos circulantes en las aguas residuales del AMB estaba alrededor de los 5000 ufp por litro, y, 20 años después, se encontraban en unas concentraciones de unas 5-10 veces menos; también ha habido una evolución en la diversidad de estos: en 1979 se identificaban un 86 % de poliovirus, de estos el 69 % eran vacunales; un 9 % de coxsackievirus tipo B2, B3 y B5, y el resto, echovirus tipo 1. En el año 2000, en un estudio similar, se encontraron un 2 % de poliovirus (vacunales); un 81 % de coxsackievirus, tipo A9, B1, B2, B3, B4 y B5, y un 12 % de echovirus tipo 1, 7, 9, 14 y 24. En definitiva, ha habido una evolución epidemiológica de los enterovirus que circulan, y lo que se encuentra en las aguas residuales es un reflejo del estado sanitario de la población en cuanto a virus entéricos circulantes.

Durante estos trabajos se constató que, debido a las concentraciones de los virus patógenos y a los métodos de su puesta en evidencia, se hacía necesario un método de concentración; este método de concentración no tenía que ser universal, sino que tenía que depender de las características de la muestra, de la presencia de materia en suspensión, del pH, etc.; había una necesidad de mejorar estos métodos y estandarizarlos. Otra cosa parecida ocurría con la puesta en evidencia de enterovirus a partir de muestras sólidas, ya sean alimentos o muestras naturales como sedimentos, lodos, suelos, etc. Había una necesidad de disponer de métodos de

extracción de los virus de estos sólidos teniendo en cuenta los siguientes parámetros: relación peso muestra / volumen solución extraente; agitación; ultrasonidos; tipo de tampón; pH; adición de proteínas, etc. Siempre ha habido la necesidad de mejorar los métodos de puesta en evidencia de los virus humanos; esto se ha llevado a cabo durante estos años gracias al desarrollo de las técnicas moleculares.

Estos primeros trabajos en virología ambiental sirvieron para sentar las bases y conclusiones que más tarde se han utilizado para la continuación y el desarrollo de esta línea en el Departamento:

- No hay correlación de estos con los indicadores bacterianos clásicos.
- Hay un diferente comportamiento de estos frente a las barreras naturales y/o tratamientos.
 - Presentan fenómenos de autodepuración diferenciales.
 - Mayor permanencia en el medio ambiente.
 - Necesidad de saneamiento ambiental.
 - Necesidad de estandarización de los métodos de puesta en evidencia de los virus entéricos.
 - Presentan una evolución epidemiológica.
 - Necesidad de la búsqueda de microorganismos modelo para virus humanos distintos a los bacterianos clásicos.

Lo explicado hasta este punto entraría dentro del apartado de la investigación básica, realizada por el doctor Ramon Parés en el ámbito de la microbiología ambiental, que tiene como finalidad la obtención y recopilación de la información para ir construyendo una base de conocimiento que se va agregando a la información previa existente. Es por todo ello que en reconocimiento a su labor académica se le concedió el título de doctor *honoris causa* por la Universidad de Nancy (Francia, 1987).

La investigación aplicada, sin embargo, tiene como objetivo resolver un determinado problema o planteamiento específico. Es en este apartado donde el doctor Ramon Parés desarrolló parte de su trabajo profesional.

La situación de la AMB en los años ochenta era, desde el punto de vista ambiental, algo complicada. Se venía de una etapa donde el medio ambiente no había sido una prioridad, y, como consecuencia de todo ello, las playas de la AMB no eran aptas para el baño y los ríos Besòs y Llobregat no reunían los estándares de calidad aceptables, incluso en algunos casos estaban dentro de los *rankings* de los ríos más contaminados de Europa.

Esta situación se empezó a transformar a partir de la promulgación en el *Diari Oficial de la Generalitat de Catalunya*, núm. 133 (06/10/1981), de la Ley 5/1981 de 4 de junio, sobre desarrollo legislativo en materia de evacuación y tratamiento de aguas residuales. En la misma se recogía que la protección del medio ambiente en materia de evacuación y tratamiento de aguas residuales, uno de los aspectos más

importantes de la conservación de la naturaleza, exigía la ejecución de una serie de obras públicas que son de interés de la Generalitat y que se deben realizar exclusivamente en su propio territorio y que corresponden a su competencia.

Es en este momento cuando se comienzan a realizar colaboraciones con distintos organismos públicos y privados en temas medioambientales. La línea iniciada en microbiología ambiental sirve a la Administración y a algunas empresas para establecer colaboraciones de cara a tomar decisiones en las gestiones del agua dentro de sus distintas competencias.

Durante este período se realizaron más de cincuenta informes elaborados para la Corporación Metropolitana de Barcelona, la Empresa Metropolitana de Sanejament SA, la AMB, la Generalitat de Catalunya, la ATLL, la SGAB-AGBAR; todos ellos gracias a convenios de colaboración a través de la Fundació Bosch i Gimpera. Fue un largo camino, permítanme que les cuente algunos pasos.

En los años ochenta se emprenden las grandes obras de saneamiento como la de interceptación de los colectores que vertían en línea de mar en los municipios de Montgat, Badalona y Sant Adrià de Besòs. Esta obra se desarrolló en varias fases, ya que implicaba llevar todas las aguas residuales de estos municipios, incluso las de Santa Coloma de Gramenet, hacia la EDAR del Besòs, que en aquella época solo tenía un tratamiento primario, y un emisario submarino de 500 m. En el centro de la ciudad estaba la planta del Bogatell, que vertía al mar las aguas tratadas en línea de costa.

EFEECTO DEL COLECTOR INTERCEPTOR DE LA COSTA DE LEVANTE SOBRE LA CONTAMINACIÓN DEL LITORAL DE BARCELONA (1982-1986)

Los estudios realizados para la CMB y EMSSA permitieron poner en evidencia las mejoras que se alcanzaron con esta infraestructura de saneamiento. El proyecto se realizó en diferentes fases. La primera fue la de conectar los colectores de la costa hasta la primera estación de bombeo, situada en la frontera de los municipios de Badalona y Sant Adrià; más tarde se hizo una conexión hasta la estación de bombeo del río Besòs, y, mediante un sifón y gracias a una estación de bombeo, se pudo llevar el agua hasta la EDAR del Besòs. En paralelo se conectaron los colectores de los municipios de Santa Coloma y Sant Adrià, que vertían al río en el colector interceptor en el punto del sifón/estación de bombeo situado en la desembocadura del río Besòs, y de allí a la estación depuradora.

Esta situación permitió un saneamiento de la costa que implicaba que las playas del litoral norte se pudieran utilizar para el baño. Sin embargo, se constató la importancia del río Besòs, ya que sus condiciones de mala calidad hacían que las playas próximas a su desembocadura no alcanzaran los niveles de calidad de las si-

tuadas más al norte. Esta circunstancia provocó que se probase, durante un período breve de tiempo, mediante la construcción de una barrera litoral en la desembocadura del río, que todo el caudal del río se pudiera llevar a la estación elevadora y de esta a la estación depuradora. Esta situación solo se podía dar con caudales bajos, y fuera de la época de lluvias, ya que el sistema hacía que la barrera se rompiera de manera natural por el incremento del propio caudal del río durante una fuerte lluvia.

Estos trabajos pusieron en evidencia varias cosas. La primera fue constatar la eficacia del saneamiento hecho en el litoral norte y la importancia de sanear el río Besòs en la gestión integral del litoral y la del propio río. Estos trabajos realizados en el litoral, con la puesta en evidencia de la importancia del río Besòs en cuanto a su impacto en el litoral, influyeron en el plan de saneamiento del río Besòs y provocaron que fuera mejorando toda su cuenca mediante la construcción de plantas depuradoras río arriba, acabando en las últimas etapas en la situación actual, con la construcción de parques fluviales donde los vecinos de sus márgenes pueden bajar a realizar diferentes actividades recreativas.

La construcción de este interceptor implicó un aumento significativo en cuanto al régimen de la planta del Besòs, con lo que ello implicaba sobre su tratamiento, ampliación y vertido de la misma, ya que, si bien se cumplían los niveles imperativos de la normativa, no se estaba en los niveles guía, que era el objetivo en cuanto a la calidad del agua litoral.

GESTIÓN DE LA EDAR DEL BESÒS, AÑOS OCHENTA

Un ejemplo de algunos trabajos que se hicieron en aquellos años podría ser la valoración de distintos tratamientos en el funcionamiento de la EDAR del Besòs. El tratamiento final de la EDAR del Besòs es biológico, con un emisario submarino de más de 2.000 m. Durante el proceso hubo muchos pasos intermedios con tratamientos alternativos, intensivos durante ciertos períodos (Olimpiadas), que implicaron estudios de valoración de las distintas opciones de cara a la opción más adecuada en todo momento. La finalidad de todos estos estudios estaba encaminada a:

- Gestionar eficazmente el sistema de vertido.
- Evaluar si se cumplían los objetivos de calidad impuestos por la normativa vigente y condicionado a la autorización del vertido.
- Realizar las modificaciones convenientes en el tratamiento de la EDAR.

Se llevaron a término muchos estudios encaminados en todo momento a la gestión de la EDAR. En la actualidad, la infraestructura de la planta de saneamiento de aguas residuales y pluviales del Besòs es con tratamiento biológico; está

situada entre Sant Adrià de Besòs y Barcelona; es una de las depuradoras cubiertas, debajo de la plaza del Fòrum, integradas al tejido urbano más grandes del mundo y la de mayor capacidad de procesamiento de Catalunya. De hecho, da servicio a más de la mitad de la población del AMB, dado que sanea las aguas residuales del tramo final de la cuenca del Besòs. Concretamente, trata las aguas de las poblaciones de Badalona, Barcelona (65 %), Montgat, Sant Adrià de Besòs, Santa Coloma de Gramenet y Tiana.

El espacio urbano en el que se ubica esta depuradora es una zona con una plaza pública, hoteles, oficinas y viviendas, donde el hecho de conseguir una integración armoniosa ha sido clave. Por este motivo, la depuradora del Besòs se ha dotado de infraestructuras muy compactas, de dispositivos de renovación de aire y de un sistema de lavado químico de olores muy sofisticado. Gracias a ello, se consiguen reducir los impactos ambientales asociados a la depuración. En la figura 1 se presentan la evolución de los resultados de la contaminación fecal en cuatro estaciones del litoral norte durante el desarrollo de estos estudios:

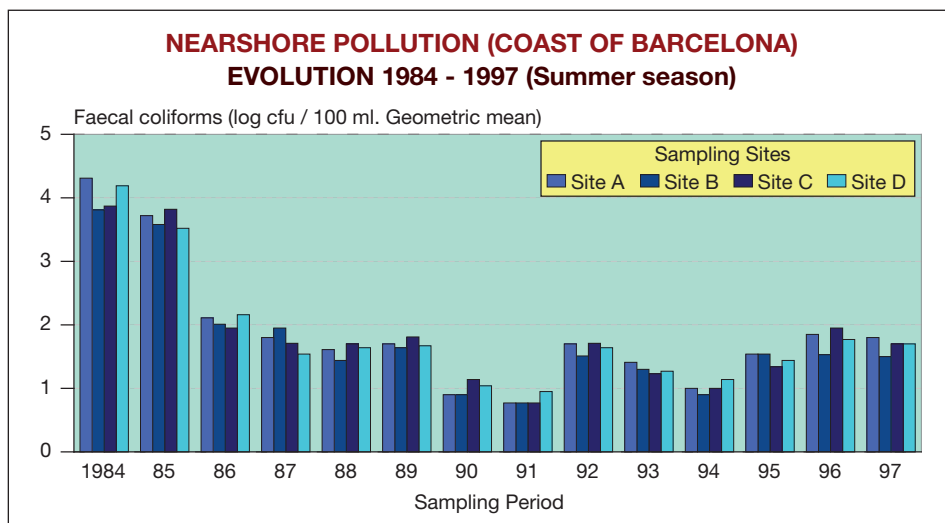


FIGURA 1

EMISARIOS SUBMARINOS

En la orden de 13 de julio de 1993, se define como *emisario submarino*, la conducción cerrada que transporta las aguas residuales desde la estación de tratamiento hasta una zona de inyección en el mar, de forma que se cumplan las dos condiciones siguientes: 1) Que la distancia entre la línea de costa en bajamar

máxima viva equinoccial y la boquilla de descarga más próxima a esta sea mayor de 500 m. 2) Que la dilución inicial calculada para la hipótesis de máximo caudal previsto y ausencia de estratificación sea mayor de 100:1.

Son aspectos a tener en cuenta en todo emisario: 1) La conducción de desagüe: conducción abierta o cerrada que transporta las aguas residuales desde la estación de tratamiento hasta el mar, vertiendo en superficie o mediante descarga submarina, sin que se cumplan las anteriores condiciones del emisario submarino. 2) La conducción de vertido: término que engloba tanto a los emisarios submarinos como a las conducciones de desagüe. 3) La zona de inyección: entorno del dispositivo de descarga (ya sea de boca única o un tramo difusor con múltiples boquillas) constituido por aquellos puntos en los que, como consecuencia del impulso inicial del efluente al salir por las bocas de descarga o de la fuerza ascensional debida a la diferencia de densidades, pueda darse una diferencia apreciable de velocidades entre la de la mezcla y la del medio receptor bajo alguna de las condiciones posibles del flujo.

Es dentro de estas infraestructuras de saneamiento donde se planteaban opciones de depuración, plantas pequeñas en cuanto al tratamiento con emisarios largos o bien plantas grandes con emisarios más cortos. Debido a las ampliaciones de las EDAR del Besòs y del Prat, estas opciones estaban encima de la mesa. Los trabajos realizados en este campo fueron diversos, desde los cálculos de la inactivación bacteriana en el litoral, hasta los cálculos de dilución inicial de los parámetros microbiológicos determinados *in situ*, con el fin de poder obtener los valores y alimentar los cálculos necesarios para el diseño de los emisarios que sirvieran para los proyectos de las infraestructuras a realizar.

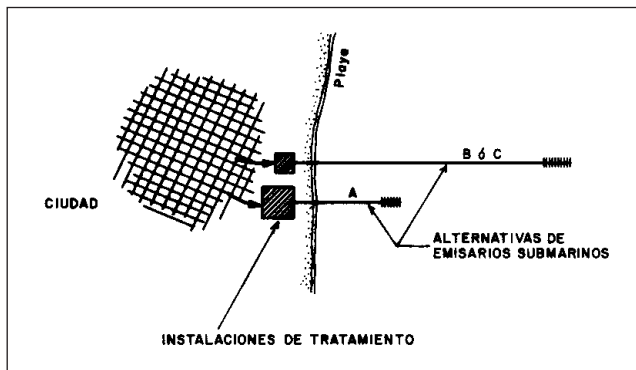


FIGURA 2. Instalación del tratamiento.

En este sentido, se determinaron, *in situ*, con la metodología que se define en la legislación vigente, tanto el índice de desaparición bacteriana de los coliformes

fecales, en el medio receptor, en las condiciones de máxima insolación, como los valores de la dilución inicial del emisario. Con ello se pretendía hacer una comprobación de los valores a aplicar en distintas situaciones reales, *in situ*, con los obtenidos por un «modelo» de cálculo de la estima del índice de dispersión del efluente de los futuros emisarios y que permitían realizar los proyectos de diseño de los emisarios en diferentes escenarios.

En cuanto al índice de la desaparición bacteriana de coliformes fecales que se alcanzaron, se compararon con los que se obtienen al aplicar la fórmula definida en el BOE para el cálculo de la T90, para unas condiciones ambientales parecidas a las de los días de muestreo.

$$T90 = (a/60 (1 - 0,65 \cdot C^2) (1 - SS/800) + 0,02 (10^{(T - 20)/35}))^{-1}$$

donde

a: es el ángulo solar respecto a la línea del horizonte

C: es el porcentaje de cobertura nubosa (en tantos por uno)

SS: son los sólidos en suspensión

T: es la temperatura del agua

La media de las T90 obtenidas de nueve muestras correspondientes a períodos de máxima insolación y mínima cobertura nubosa fue de: T90 = 42,2 minutos.

Este valor se puede comparar con el que se obtendría a partir de la fórmula empírica que se utiliza para el diseño de emisarios submarinos. Así, nos encontramos que para un a = 90°, C = 0, SS = 12 ppm y T = 17 °C, el resultado es de:

$$T90 = (1/60 (1 - 0,65 \cdot 0^2) (1 - 12/800) + 0,02 (10^{(17-20)/35}))^{-1} = 40,2 \text{ minutos}$$

Tanto los resultados *in situ* como los empíricos obtenidos de la T90 para los coliformes fecales en las condiciones ensayadas en estos trabajos fueron muy similares.

También se hicieron estudios *in situ* de coliformes fecales, para calcular las diluciones iniciales del emisario, tanto con el medio sin estratificar, como con la termoclina bien formada. Los valores encontrados de dilución inicial para los coliformes fecales tanto en medio estratificado (136) como en medio no estratificado (171-245) fueron superiores a 100, y similares a los encontrados utilizando el programa CORMIX: Cornell Mixing Zone Expert System (Cormix v.2.10). Se supusieron una serie de situaciones durante los dos períodos estudiados (medio estratificado y sin estratificar), donde básicamente la variable modificada fue la velocidad de la corriente en el medio receptor con el fin de comparar los resultados de campo con los obtenidos con el programa.

Las velocidades de corrientes escogidas para este estudio fueron los promedios de la zona para el período de estudio considerado. Estos valores de corrientes se obtuvieron a partir del estudio de corrientes realizado dentro del Proyecto SPIO (CMB, Ministerio de Obras Públicas, Universidad de Barcelona, 1988).

Los datos obtenidos en los cálculos de la T90, así como en la dilución inicial del emisario, en los trabajos de campo con las variables microbiológicas, con el medio estratificado o no, son homologables a los obtenidos por el programa/mo- delo; esto permitió estudiar una serie de escenarios distintos con el fin de progra- mar las nuevas infraestructuras.

EMPLEO DE LA TELEDETECCIÓN EN ESTUDIOS AMBIENTALES

Una nueva línea de investigación fue la iniciada con el Institut Cartogràfic de Catalunya a partir de las imágenes capturadas con el satélite Landsat y sensores aerotransportados como el CASI, con el fin de realizar trabajos con la utilización de la teledetección en los estudios ambientales de la contaminación en el litoral. La idea era realizar extensas campañas marinas al mismo tiempo que se obtenía la imagen del satélite o del sensor CASI del litoral.

En estas campañas, con más de 100 estaciones de muestreo geoposicionadas en distintas zonas del litoral, con características y grados de contaminación dife- rentes, se analizaban variables fisicoquímicas como pH, turbidez, salinidad, TOC y clorofila y variables microbiológicas como los coliformes y estreptococos fecales y sobre todo *Aeromonas*, que en estudios anteriores se habían correlacionado con los fenómenos de eutrofización y con aumentos de la materia orgánica.

Se realizó un esfuerzo estadístico con toda la información de la campaña ma- rina, así como la obtenida con las radiancias de los siete canales, en este caso del satélite. La idea era encontrar relaciones en estas 100 estaciones, que correspon- dían a 100 píxeles de la imagen, con las radiancias de los canales del satélite en es- tos mismos píxeles, y, encontradas estas relaciones en los 100 píxeles, poder extra- polar los resultados al resto de la imagen capturada en el litoral de la AMB, correspondiente a una situación tipo del litoral.

A partir de las relaciones entre variables de la campaña marina, se pudo obte- ner que el factor 1 del análisis de componentes principales puede ser explicado a partir de las variables como pH, salinidad... cuando es negativo, y, si es positivo, se relaciona con los indicadores bacterianos de contaminación fecal (CF, EF), *Ae- romonas* y turbidez.

La regresión multivariante entre el factor 1 del análisis de componentes prin- cipales y los distintos canales del sensor, con un coeficiente de correlación múlti- ple de 0,968, fue de:

Factor 1 = 0,113202 (B3/B7) + 3,54100 Ln B7 + 0,00000672 (B6) (B6) (B6) – 0,007589 (B7) (B7) (B7) – 15,632301

También se pudo obtener la regresión multivariante entre la variable *Aeromonas* y distintos canales del sensor, con un coeficiente de correlación múltiple de 0,798.

Aeromonas = 0,025784 (B4) (B4) (B4) (B4) – 133293,6990 (B6) + 0,0005077 (B1) (B1) (B1) (B1) + 10885305,151

A partir de esta relación se obtuvieron imágenes como las que se presentan a continuación de las desembocaduras de los ríos Besòs y Llobregat, donde se aprecian los diferentes niveles de contaminación, formas y tamaño de las plumas, etc.

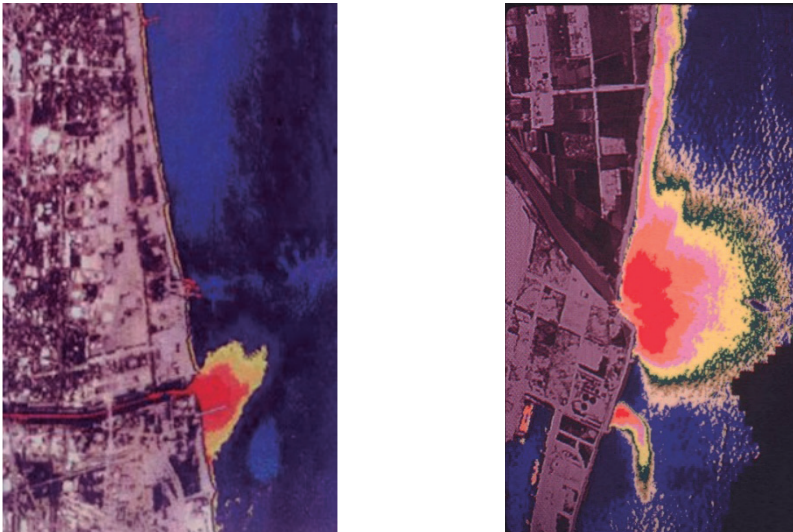


FIGURA 3. Plumas de dispersión de *Aeromonas* en las desembocaduras de los ríos Besòs y Llobregat.

Gracias a esta tecnología se pudo trabajar en diferentes escenarios como los estudios de la evolución de la contaminación del litoral; el impacto provocado por las plumas de los ríos, aliviaderos, rieras; el efecto de las lluvias, temporales con mar de fondo, etc. La ventaja de trabajar con imágenes era que permitían valorar las situaciones/escenarios de un modo global, y, junto con los datos de campo, trabajar en la gestión del litoral de una forma coordinada.

ESTUDIOS DEL EFECTO LLUVIAS Y DE MAR DE FONDO

El objetivo principal de estos estudios era intentar relacionar los cambios de calidad del agua litoral con los fenómenos de precipitaciones y/o mar de fondo. Estas incidencias se producen en nuestro litoral con cierta frecuencia durante la época estival, y, como se ha visto en estudios anteriores, son una de las principales causas de alteración de la calidad del agua litoral. Es por ello que a lo largo de los años se realizaron diferentes estudios encaminados a valorar:

- Los cambios de calidad microbiológica provocados por las lluvias y el mar de fondo en el agua litoral de la AMB.
- La relación de la precipitación con los cambios de calidad microbiológica.
- La recuperación de la calidad microbiológica después de un episodio de lluvias y/o mar de fondo.

CAMBIOS DE CALIDAD PROVOCADOS POR LAS LLUVIAS Y EL MAR DE FONDO

Las precipitaciones y el mar de fondo son una de las causas más importantes de los cambios de calidad microbiológica del agua litoral. Los aumentos de contaminación que se producen son significativos, tanto en coliformes como en estreptococos fecales, y en algunas ocasiones hay hasta más de dos unidades logarítmicas de diferencia, con respecto al valor medio, observándose sin embargo diferencias claras entre ambas incidencias.

En el caso de las lluvias, estos cambios dependen de las zonas consideradas. Así, según las zonas, detectaremos si han funcionado los aliviaderos próximos, incremento de las plumas de los ríos Besòs y Llobregat por aumento del caudal, aperturas de las lagunas litorales como la Murtra, etc.

De forma general, se observa un mayor incremento de la contaminación en las playas del litoral sur, con respecto a las del norte, y dentro de estas últimas las estaciones que pueden presentar un incremento mayor son las de Vila Olímpica y Sant Adrià, debido a los «vertidos próximos» que se pueden ocasionar por efecto de las lluvias, aliviaderos y río Besòs, respectivamente.

En el caso de mar de fondo, hay una mayor homogeneización del aumento de la contaminación en las distintas zonas, y, en general, mayor que cuando hay precipitaciones. Este hecho puede explicarse por una menor dilución de los vertidos realizados en la costa, ya que, por efecto de las corrientes, estos son «confinados» en la línea litoral, haciendo que se incrementen los niveles de contaminación.

El cambio de calidad producido por estas incidencias se puede determinar por el aumento de la contaminación, medida en nuestro caso por los indicadores

de contaminación fecal (CF y EF), aunque de forma parecida se comporta una variable más conservativa como puede ser la turbidez. Así, en este caso, se detectan unos mayores niveles de turbidez en el litoral sur, con respecto a los del norte. Los incrementos son menores los días de lluvia con respecto a los días de mar de fondo.

En cuanto a la recuperación del litoral, podemos observar la homogeneidad del cambio de calidad en todas las estaciones durante un episodio de mar de fondo y cómo este se recupera siguiendo un modelo exponencial. Este modelo es similar en el caso de las lluvias, pero solamente tiene lugar en aquellas zonas donde ha habido un cambio de calidad provocado por un aumento del vertido ocasionado por las lluvias.

RELACIÓN DE LA PRECIPITACIÓN CON EL CAMBIO DE CALIDAD MICROBIOLÓGICA

Se ha intentado relacionar los datos de contaminación (calidad microbiológica) con los de precipitación. Se ha considerado como variable independiente la precipitación (X) y como dependiente la calidad microbiológica (Y). Por este motivo, y a falta de otras hipótesis básicas de inicio, se ha aplicado el modelo de regresión lineal, y se ha obtenido para cada punto de muestreo la recta de regresión CF/X y EF/X, así como el coeficiente de correlación para medir la bondad del modelo, y por lo tanto el grado de relación lineal existente. Los resultados obtenidos muestran un grado de ajuste lineal muy bajo, aunque en algunos casos resulte significativo, lo que estaría en la línea de aceptar un grado de relación bajo entre las variables estudiadas.

Se ha estudiado también el grado de correlación mediante un coeficiente no paramétrico. En este sentido se ha escogido el coeficiente de correlación por rangos de Kendall, que mide el grado de concordancia entre las variables obtenidas respecto a la ordenación de valores. Los valores obtenidos por el coeficiente de correlación de Kendall son realmente bajos, con lo cual es difícil establecer relaciones entre la precipitación y los cambios de calidad microbiológica.

La baja relación encontrada entre las variables precipitación - contaminación nos indica que la variable precipitación considerada en este estudio (datos meteorológicos suministrados por los centros de la Vila Olímpica - litoral norte y aeropuerto - litoral sur) no es suficientemente significativa para relacionarse por sí sola con la contaminación. Esto se puede interpretar de varias formas:

— Que los valores puntuales de precipitación utilizados no pueden aplicarse como un reflejo de la totalidad del vertido responsable del aumento de contaminación que llega al mar.

— Que en los valores de la variable dependiente (contaminación), actúen no tan solo los valores de precipitación, sino otras variables como pueden ser variaciones de los caudales de los afluentes que desembocan al mar: ríos, aliviaderos, etc.; corrientes marinas, temperatura del agua, insolación etc., que no se han tenido en cuenta para este modelo.

RECUPERACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DESPUÉS DE UN EPISODIO DE LLUVIAS Y/O TEMPORAL

En este caso se ha intentado relacionar el tiempo transcurrido desde la precipitación y/o temporal, ocasionando un cambio de calidad con el tiempo de recuperación a la calidad inicial antes de las incidencias.

El modelo preseleccionado para ajustarse mejor a la recuperación de la calidad en las aguas ha sido el de la exponencial negativa, ya que parece lógico que este describa aceptablemente bien la relación entre las variables estudiadas. Se podría argumentar que, para un grupo de bacterias, las cinéticas de inactivación en el medio marino tienden a este comportamiento.

Para resolver este modelo exponencial tenemos que resolver el modelo lineal relacionando las variables $\log(Y)/X$, siendo Y los valores de CF y EF (tomados como variable dependiente) y X el tiempo en días después de la precipitación (como variable independiente). Por otro lado, la pendiente estimada es una medida de la tasa de recuperación de la calidad, siendo tanto más grande cuanto más grande es esta pendiente en valor absoluto.

De forma general, si observamos los datos de lluvias, se ajustan a un modelo exponencial negativo. En algunos casos ha sido necesario prescindir del modelo exponencial y utilizar directamente el modelo lineal. En este sentido se ha obtenido que, para un episodio de lluvias, una vez incrementada la contaminación de hasta dos unidades logarítmicas, llegar de nuevo al valor medio de la calidad del agua implicaba una recuperación del litoral para los coliformes fecales de 3,30 días con una desviación de 0,77 días y de 3,02 días con una desviación de 0,59 días para los estreptococos fecales.

Estos estudios han servido para ir estableciendo sistemas de predicción de la calidad microbiológica de las aguas de baño: «Sistemas *a priori* de calidad», que han necesitado toda la información con el fin de poder establecer las necesidades de los modelos que mejor se ajustarían a estos sistemas *a priori* de control de calidad.

Es en este apartado de microbiología ambiental, aplicada al área de la AMB, donde el doctor Parés desarrolló parte de su trabajo profesional y donde tuvo un reconocimiento social, como en 1986, cuando recibió la Medalla Narcís Montu-

riol al Mérito Científico y Tecnológico de la Generalitat por su destacada labor investigadora de la microbiología de la contaminación, y en 1997, cuando recibió la Medalla de Oro al Mérito Científico del Ayuntamiento de Barcelona.

La importancia de esta época de cambio iniciado en 1980 por el doctor Parés en la línea de microbiología ambiental se refleja en la actualidad en las líneas de investigación que siguen estando activas en el Departamento:

- Bacterias y protozoos en los sistemas acuáticos.
- Biología molecular bacteriana.
- Biología molecular de virus entéricos.
- Ecogenética y diversidad microbianas.
- Enzimas microbianos de aplicación industrial.
- Genómica y proteómica de los factores de virulencia bacterianos.
- Microbiología de aguas relacionada con la salud.
- Virus contaminantes de agua y alimentos.

FRANCISCO LUCENA GUTIÉRREZ
Catedrático de microbiología de la Universitat de Barcelona

BIBLIOGRAFÍA

- [1] «Selective medium for isolation and enumeration of *Bifidobacterium spp.*». *Applied and Environmental Microbiology* (1988), 54 (7), pp. 1715-1718.
- [2] «Selective aerobic degradation of methyl-substituted polycyclic aromatic hydrocarbons in petroleum by pure microbial cultures». *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* (1986), 23 (4), pp. 289-303.
- [3] «Degradation of aromatic petroleum hydrocarbons by pure microbial cultures». *Chemosphere* (1984), 13 (5-6), pp. 593-601.
- [4] «Assessment of mutagenic activity of coastal sediments off Barcelona». *Toxicity Assessment* (1988), 3 (3), pp. 315-329.
- [5] «Distribution of aeromonas species in waters with different levels of pollution». *Journal of Applied Bacteriology* (1991), 71 (2), pp. 182-186.
- [6] «Relation between aeromonas and faecal coliforms in fresh waters». *Journal of Applied Bacteriology* (1989), 67 (2), pp. 213-217.
- [7] «The effect of terrestrial effluents on the incidence of *Aeromonas spp* in coastal waters». *Journal of Applied Bacteriology* (1990), 69 (3), pp. 439-444.
- [8] «Viral pollution determination of superficial waters (river water and sea-water) from the urban area of Barcelona (Spain)». *Water Research* (1982), 16 (2), pp. 173-177.
- [9] «Identification of viruses isolated from sewage, riverwater and coastal seawater in Barcelona». *Water Research* (1985), 19 (10), pp. 1237-1239.

- [10] «The effect of a mass poliomyelitis vaccination program on the occurrence of enteroviruses in seawater». *Zentralbl bakteriol mikrobiol hyg b* (1986), 1, pp. 67-69.
- [11] «Occurrence of enteroviruses in marine sediment along the coast of Barcelona, Spain». *Canadian Journal of Microbiology* (1988), 34 (7), pp. 921-924.
- [12] «Survey of viral pollution in Duero river (Spain): occurrence of natural virucidal phenomena». *Environment International* (1988), 14, pp. 37-41.