

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA



E.T.S. INGENIEROS DE CAMINOS, CANALES Y PUERTOS

DPTO. DE CIENCIAS Y TÉCNICAS DEL AGUA Y DEL MEDIO AMBIENTE

GRUPO DE EMISARIOS SUBMARINOS E HIDRÁULICA AMBIENTAL

TESIS DOCTORAL

**ESTUDIO DE LOS EFECTOS SOBRE EL MEDIO
LITORAL DERIVADOS DE LA IMPLANTACIÓN
DE SANEAMIENTOS INTEGRALES EN LA COSTA
CANTÁBRICA**

Presentada por: **BEATRIZ ECHAVARRI ERASUN**

Dirigida por: **JOSÉ A. JUANES DE LA PEÑA
GERARDO GARCÍA-CASTRILLO RIESGO**

Santander, Enero de 2007

3. MATERIAL Y MÉTODOS

A continuación se describe la metodología establecida para alcanzar los objetivos planteados, diferenciando dos grandes bloques dedicados a las metodologías empleadas en el estudio de afección realizado en el entorno del emisario (apartado 3.2) y al análisis de la evolución de las masas de agua en la Bahía de Santander (apartado 3.3). No obstante, dada la importancia del propio sistema de saneamiento como elemento estructurante de estos objetivos, se incluye una breve descripción del saneamiento integral de la Bahía de Santander, tanto a nivel estructural como del funcionamiento de las infraestructuras, el tipo de carga, el tratamiento al que se someten las aguas residuales, el modo de vertido y la dilución mínima de los efluentes tratados o sin tratar al medio marino (apartado 3.1).

3.1. DESCRIPCIÓN DEL SANEAMIENTO INTEGRAL DE LA BAHIA DE SANTANDER

El saneamiento de la Bahía de Santander constituye el sistema integral de canalización, tratamiento y evacuación de las aguas residuales de cerca de 230.000 habitantes provenientes de los municipios aledaños a la Bahía de Santander. Desde un punto de vista constructivo, este saneamiento se llevó a cabo en tres fases, durante el período 1998-2002, dedicados a la puesta a punto de cuatro grandes infraestructuras: el colector-

interceptor y algunas redes de colectores secundarios de nueva creación (Fase I), la estación de bombeo e impulsión a la estación depuradora, el sistema de evacuación al mar a través de emisario submarino (ambos elementos incluidos en la Fase II) y la estación depuradora de aguas residuales (E.D.A.R, Fase III) (Figura 3.1).

La primera de estas estructuras está conformada por un colector-interceptor, cuya función es la de regular la incorporación de las aguas residuales y las escorrentías generadas en las cuencas urbanas, recogidas en la red de colectores secundarios de la ciudad. Este colector incluye una serie de estaciones de bombeo encargados de regular y gestionar la mezcla y transporte de los vertidos urbanos hasta la estación de bombeo principal (segunda infraestructura), desde donde se impulsan las aguas residuales hasta la EDAR, situada a las afueras de Santander.

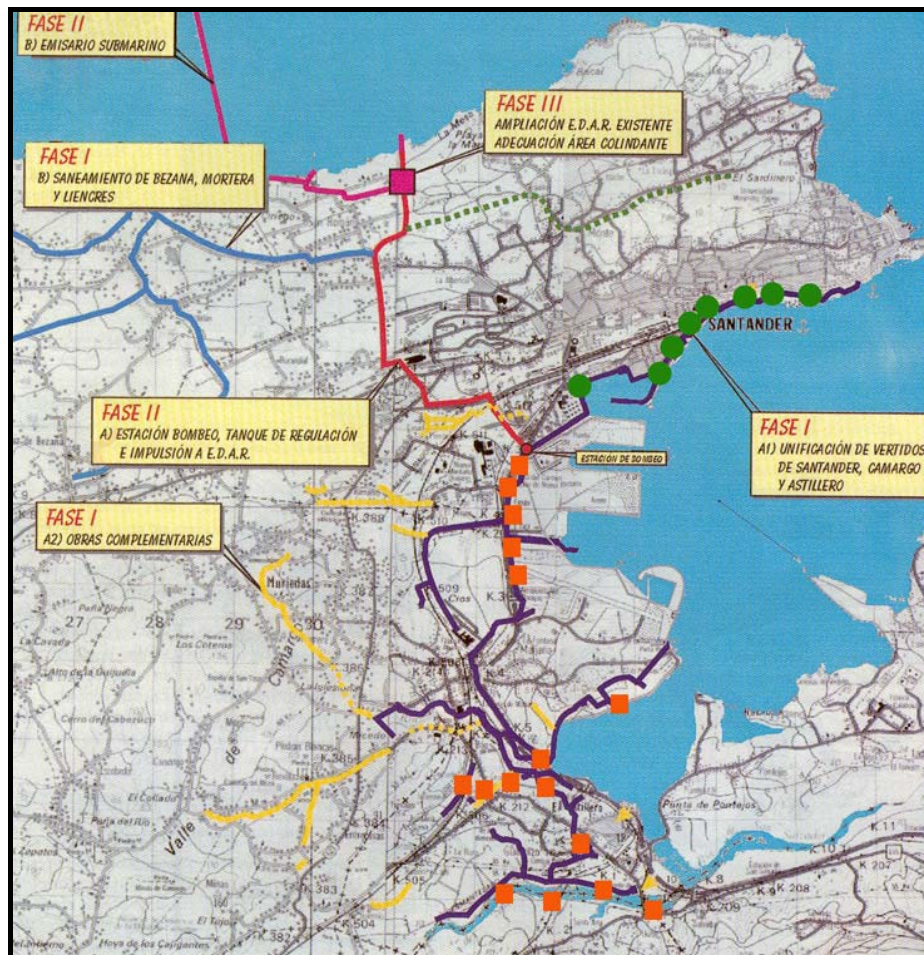


Figura 3.1. Esquema de las fases de desarrollo del saneamiento de la Bahía de Santander (Zabala *et al.*, 1999). Los tanques de tormenta se señalan en verde (●) y los alivijs en naranja (■).

Esta tercera infraestructura es la encargada de depurar las aguas mediante un tratamiento biológico de alta carga (desbaste, desarenado, desengrasado, tratamiento biológico y decantación), con el que se consigue una elevada reducción de la DBO₅ y de los sólidos en suspensión. Una vez tratadas, las aguas son vertidas al entorno costero de la Virgen del Mar mediante la cuarta de las infraestructuras, consistente en un emisario submarino de 2430 m de longitud. El arranque del emisario se sitúa en las proximidades de la Virgen del Mar y su traza discurre con rumbo N 12° 49' W entre este punto y la cota -42,5 m, donde finaliza el último difusor. Este último tramo, que comienza en la cota -34 m, presenta una longitud de 280 m y dispone de un total de 21 tubos elevadores, con tres boquillas de difusión situadas en sus extremos, por los que se van a liberar los efluentes tratados provenientes de la EDAR

La calidad y volumen del efluente vertido a través del emisario submarino va a variar dependiendo de las condiciones climatológicas. Así, durante tiempo seco, el volumen de agua residual depurada vertida por el emisario es de unos 4500 l/s. Entre las características del efluente depurado cabe destacar los 60 mg/l de DBO₅ en el agua y los 50 mg/l de carga media de sólidos en suspensión (siempre y cuando la reducción obtenida por la depuradora de DBO₅ y sólidos sea del 70% y 80%, respectivamente). Estas concentraciones variarán una vez sean vertidos a través de los difusores ya que el número, distribución y características de los elevadores y boquillas difusoras del emisario aseguran una dilución mínima de cien (1:100) para los caudales de evacuación que no se superen durante el 95% del tiempo de funcionamiento del mismo.

Durante la temporada de lluvias, el funcionamiento de la red normal varía, ya que los fuertes aguaceros pueden provocar en determinados momentos la sobresaturación de la red de colectores. Durante estos episodios, el excedente no transportable por la red de colectores es aliviado al estuario mediante los tanques de tormenta (vertidos de “tormenta”) que aseguran una dilución de 1:3 (1 residuales, 3 pluviales) o a través de los distintos aliviados establecidos a lo largo de la red de colectores (Figura 3.1). Por el contrario, si la sobresaturación se produce en el emisario, la evacuación de los excedentes se realiza, a través de un emisario de tormenta construido en la salida de la EDAR, a la zona costera de la Virgen del Mar.

La puesta en funcionamiento del sistema integral de saneamiento se estableció en dos etapas. En junio de 2001 se produjo la conexión del sistema de evacuación de las aguas

residuales desde la Bahía hasta el emisario submarino de la Virgen del Mar por donde se comenzó a verter un efluente pretratado (desbaste, desarenado). Un año mas tarde, en junio de 2002, entró en servicio el sistema de depuración biológico de la EDAR. Posteriormente, se están abordando obras complementarias de enganche de algunas redes de colectores secundarios que representan un porcentaje pequeño de población con respecto al total del sistema, pero que producen efectos contaminantes en puntos localizados del medio estuarino y costero.

Las predicciones teóricas calculadas a partir de los resultados de los modelos aplicados al sistema de saneamiento adoptado han resuelto que el correcto funcionamiento de este sistema hace esperar una baja probabilidad de incumplimiento de los criterios de calidad establecidos en las masas de agua de la Bahía incluso durante los períodos de intensa lluvia.

Período de retorno (años)	Criterio Imperativo (2000 UFC/100 ml)		Criterio Guía (100 UFC/100 ml)	
	t	Pr	t	Pr
5	2,1	6,4	5,7	0,4
10	2,2	6,9	6	0,5
20	2,8	10	7,5	1,4

Tabla 3.1. Tiempos de superación (t, %) de los criterios Imperativo y Guía y probabilidad de rechazo (Pr) asociada a los mismos en el punto de control de la Playa de los Peligros (Revilla *et al.*, 1998).

Así, por ejemplo, en el caso de la contaminación bacteriológica (playas), los estudios desarrollados, con base a una metodología que predice el comportamiento de la red de colectores a partir de la simulación de su funcionamiento en las condiciones meteorológicas registradas durante los últimos 30 años, han determinado, de modo teórico, que la probabilidad de rechazo de los criterios Guía e Imperativo (76/160/CEE) en los próximos 20 años es inferior al 10% en las playas del interior de la Bahía (Tabla 3.1).

3.2. EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS PRODUCIDOS POR EL VERTIDO DEL EMISARIO

El diseño y la metodología aplicados en la evaluación de los efectos producidos por el vertido del emisario se organizó en dos grandes bloques metodológicos correspondientes al estudio de la columna de agua y de los fondos, respectivamente. En el primer bloque se expone la metodología aplicada en el **estudio del estado de las aguas**, agrupando el análisis del estado trófico y químico de las aguas adyacentes al vertido, así como en el análisis de la calidad bacteriológica de las zonas de baño más cercanas. En el segundo bloque se explica el diseño y métodos aplicados en el **análisis del estado de los fondos**, englobando tanto los fondos sedimentarios adyacentes al emisario como las comunidades bentónicas que colonizan el fondo rocoso. Antes de pasar a describir la metodología, se incluye una breve descripción del área de estudio, la zona costera de la Virgen del Mar.

3.2.1. DESCRIPCIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO

Localizado a unas 8 millas al Oeste de la Bahía de Santander (Cantabria) se emplaza el entorno costero de la Virgen del Mar. Esta franja costera, de elevada hidrodinámica, se encuentra situada entre los paralelos 43° 30,8' y 43°27,5' de latitud norte y 3° 52,9' y 3°50,7' de longitud oeste.

La topografía de los fondos rocosos en dicha franja es muy irregular, con presencia de grandes bloques de piedra mezclados con otros de menor tamaño, canales y paredes verticales, ofreciendo un aspecto abrupto y caótico (Revilla *et al.*, 1998). A partir de cierta profundidad, entre las formaciones rocosas se hallan intercaladas dos grandes fosas estrechas de sedimentos. El mayor de dichos arenales presenta forma de media luna y está compuesto, en su mayoría, por arenas de tipo fino, que alcanzan espesores de entre 1 y 6 metros (Figura 3.2) (MOPT, 1992).

Esta fisonomía es la responsable de la variedad de ambientes presentes en la zona. En los ambientes más someros (<25 m), las lastras y crestas de las formaciones rocosas se encuentran colonizadas de forma predominante por *Gelidium*, *Laminaria*, *Saccorhiza* y *Cystoseira*, mientras que las algas de menor porte se ven relegadas a paredes y

ambientes menos iluminados. Tapizando el sustrato basal de las áreas con mayor dominancia en ambientes esciáfilos se asientan comunidades de invertebrados, principalmente filtradores. A mayor profundidad (30 a 45 metros de profundidad), los fondos predominantes están compuestos por lastras rocosas entre las que se intercalan lenguas de arenas móviles.

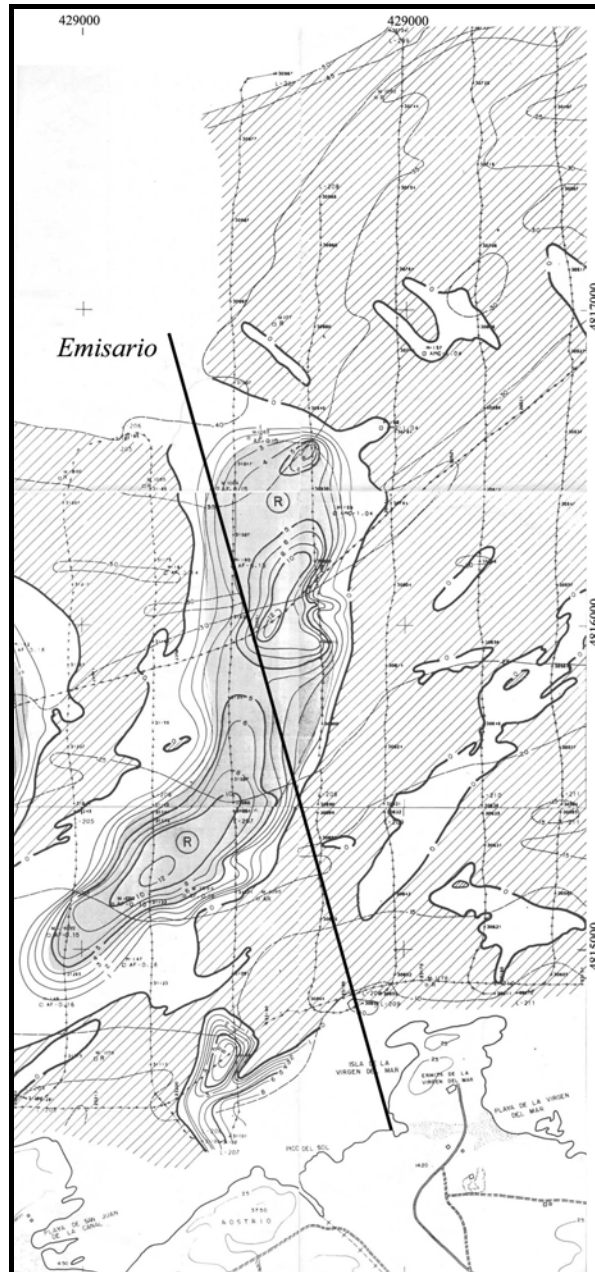


Figura 3.2. Geofísica del entorno de la Virgen del Mar a escala 1:5000 (MOPT, 1992). La trama rallada indica dominancia de fondos rocosos.

Las especies que colonizan estos ambientes son, en su mayoría, algas rodófitas de escaso porte e invertebrados establecidos sobre o dentro de un sustrato biogénico

constituido por restos de algas incrustantes y tubos de poliquetos (Revilla *et al.*, 1998). En la base de los bloques donde hay presencia de sedimentos, el sustrato rocoso aparece limpio, por la abrasión producida por la elevada hidrodinámica y la presencia de las lenguas de arena.

altura oleaje (m)	Dirección											
	N	N-E	NE-E	E	E-SE	S-SE	S	S-SW	W-SW	W	W-NW	N-NW
<0,5	1,97	2,46	2,07	1,18	4,14	0,98	0,49	0,59	1,38	1,67	1,28	2,66
0,5-1,0	1,87	3,25	4,64	4,04	0,69	1,38	0,49	0,59	1,87	3,84	3,55	2,37
1,0-1,5	1,67	1,36	2,56	1,77	0,19	0,39	0,49	0,88	1,87	3,15	2,56	2,66
1,5-2,0	0,88	0,78	1,58	1,79	0,29	0,09	0,49	1,18	1,87	1,97	1,77	1,18
2,0-2,5	0,29	0,49	1,68	0,29	0,09	-	0,19	0,19	0,49	1,08	0,59	0,79
2,5-3,0	0,29	0,09	0,39	0,29	-	-	0,09	0,29	0,59	1,06	0,98	0,69
3,0-3,5	0,19	-	0,98	0,29	-	-	-	-	0,29	0,79	0,59	0,49
3,5-4,0	0,09	-	0,59	0,98	-	-	-	-	0,09	0,29	0,49	0,09
4,0-4,5	-	-	-	-	-	-	-	-	0,19	0,09	0,09	-
4,5-5,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,29	-	-
5,0-5,5	0,09	-	-	0,98	-	-	-	-	-	-	-	-
5,5-6,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,09	-
6,0-6,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,19	-	-
6,5-7,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7,0-7,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,09
7,5-8,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total	7,34	8,43	14,49	11,61	5,4	2,84	2,24	3,72	8,64	14,42	11,99	11,02

Tabla 3.2. Distribución media anual del oleaje (frecuencias porcentuales) en la zona oriental del Cantábrico para el periodo 1949-1969 (Oficina Británica Meteorológica).

Las ondas de marea, el oleaje, el viento y las corrientes predominantes en esta zona van a ser los principales factores generadores de la elevada hidrodinámica dominante. De este modo, las mareas correspondientes a la zona de estudio son las características del océano Atlántico, con un periodo de 12 h 42', con ciclos de pleamar y bajamar cada 6 h 21' y un rango de oscilación, de la altura media de marea, que se mueve en torno a los 4 metros. Por otro lado, el oleaje dominante en la Virgen del Mar, tanto a nivel de intensidad como de altura, proviene del primer, segundo y cuarto cuadrante; por el contrario, el componente sur del oleaje presenta valores considerablemente inferiores (según datos provenientes de la Oficina Británica de Meteorología) (Tabla 3.2).

De forma análoga, los vientos dominantes en la zona son los procedentes del W-NW, W-SW y E-NE, con velocidades medias máximas, en torno a los 20 km/h. Hay que destacar que la dirección dominante está íntimamente ligada a la estacionalidad, de manera que durante el otoño y el invierno son los vientos procedentes del oeste y suroeste los más frecuentes, mientras que en la época estival destacan los nordestes (Figura 3.3).

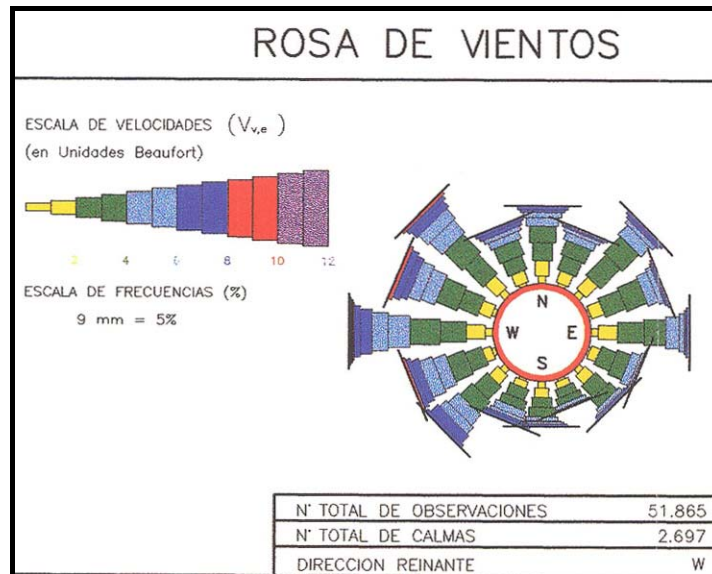


Figura 3.3. Rosa de vientos obtenida a partir de los datos medios observados desde buques en ruta en la cornisa cantábrica (Área I) ((Muñoz, 1995).

Por último, otro de los factores que va a condicionar la hidrodinámica en la zona, aunque a menor escala, son las corrientes generales superficiales y profundas. La primera de dichas corrientes sigue un patrón circulatorio dependiente de la época estacional. De este modo, durante los meses otoñales e invernales, frente a la Virgen del Mar discurre una corriente superficial homogénea de W a E que alcanza su máxima intensidad en invierno (en función de los vientos dominantes) con velocidades de cerca de 1 nudo (para distancias superiores a los 100 km). El segundo modelo de circulación se produce en verano con corrientes superficiales inversas a las registradas en invierno, aunque de menor intensidad, que discurren paralelas a la costa mostrando un desplazamiento hacia el W (González *et al.*, 2004). En contraposición, las corrientes profundas, en esta zona, van a discurrir en sentido contrario a las superficiales.

3.2.2. ESTUDIO DEL ESTADO TRÓFICO DE LAS AGUAS

Campañas de campo

El estudio del estado trófico de las aguas se realizó mediante un análisis de la evolución espacial y temporal de las variables indicadoras en el entorno de la posible afección del vertido. La posición de las estaciones del muestreo, establecidas para dicho estudio, quedó definida en función de su distancia a la salida del vertido procedente del emisario y de la profundidad (todas las estaciones estuvieron localizadas entre los 25 y 45 metros, con el fin de evitar interferencias en las variables producidas por la profundidad).

La malla de muestreo utilizada incluyó 11 estaciones situadas en 4 anillos concéntricos (L1-L4) en torno a un punto central localizado en el segundo difusor. Los tres primeros anillos (L1-L3) se situaron a 300, 800 y 1200 m, respectivamente, e incluían 9 estaciones, mientras que, las dos restantes (L4) se ubicaron en áreas más alejadas del vertido y sirvieron como punto de referencia o control en el análisis comparativo (Figura 3.4).

El período de estudio fue de dos años, durante los cuales se realizaron seis campañas de muestreo distribuidas en tres épocas: invierno, primavera y verano. En cada una de las seis campañas planteadas se procedió a la recogida de muestras de agua en las 11 estaciones indicadas anteriormente.

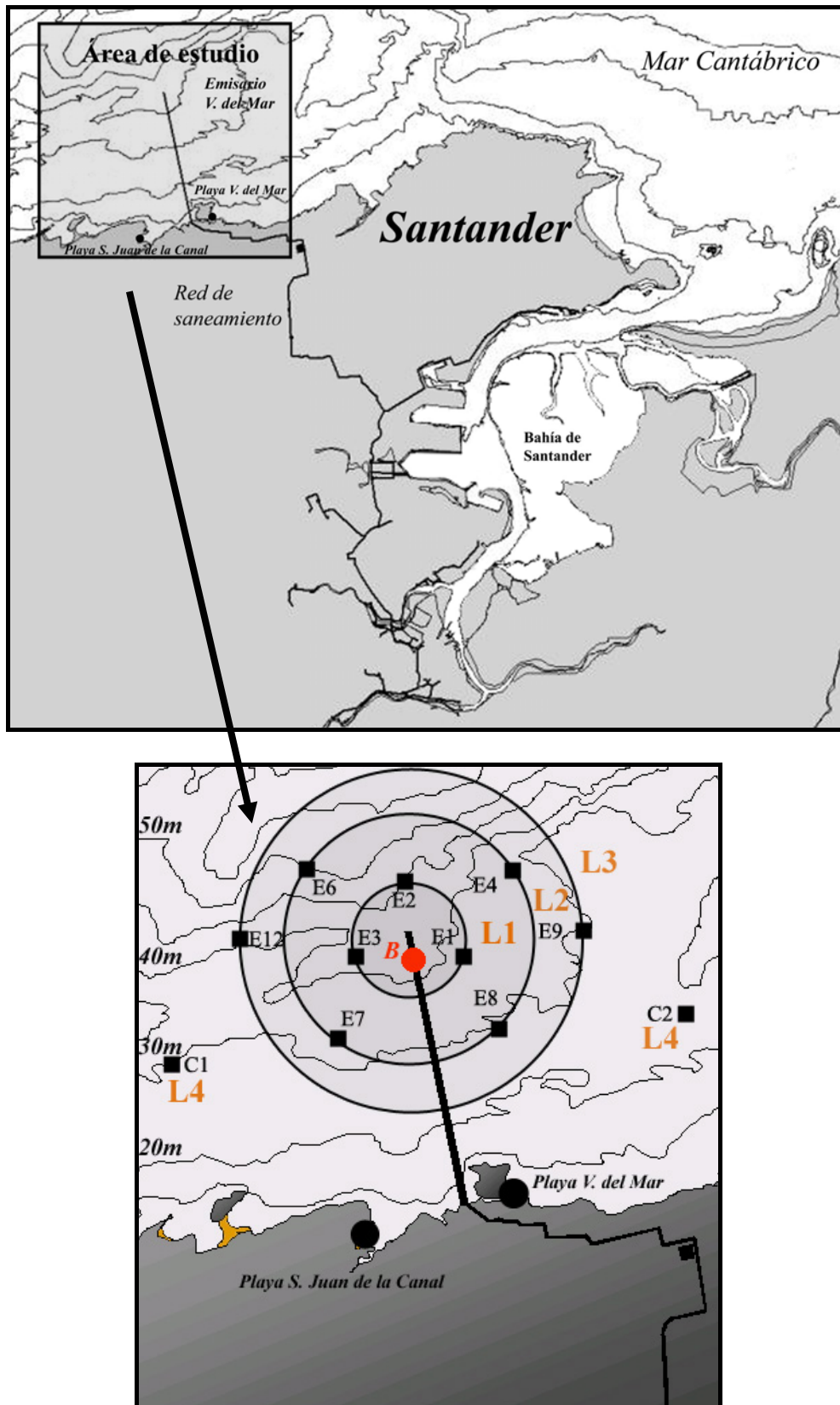


Figura 3.4. Localización del área de estudio (Virgen del Mar) y distribución de las estaciones de muestreo, para el análisis del estado trófico y bacteriológico de las aguas (Estaciones E1-E9 y C1-C2) (■), de la calidad química de las aguas (Estación B, ●) y de la calidad bacteriológica de las aguas de baño (●).

Toma de muestras y análisis de las variables

El estudio del estado trófico en los sistemas costeros se llevó a cabo mediante el análisis de las siguientes variables: salinidad, temperatura, pH, oxígeno disuelto, clorofila “a”, nutrientes (NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ , PO_4^{3-}) sólidos en suspensión, turbidez y aceites y grasas. La toma de muestras para el análisis de las variables se llevó a cabo en el barco oceanográfico “José Rioja” del Instituto Español de Oceanografía (Figura 3.5). La cuantificación de dichas variables se realizó mediante la utilización de medidas en continuo, a lo largo de perfiles verticales, y a partir de muestras discretas recogidas a diferentes profundidades (superficie y fondo).



Figura 3.5. Barco oceanográfico “José Rioja” del Instituto Español de Oceanografía utilizado para la toma de muestras.

Las mediciones en los **perfiles verticales** se realizaron mediante un CTD marca Seabird SBE 19 que estaba complementado con sensores específicos para la cuantificación simultánea de la salinidad (a partir de la conductividad), turbidez, pH, oxígeno disuelto y clorofila “a” (Figura 3.6). La atemperación de los sensores se realizó en cada nueva medición. Para la calibración del electrodo de oxígeno disuelto se tomaron, en determinadas estaciones, muestras de agua para el análisis del oxígeno en el laboratorio mediante el método volumétrico Winkler, modificado con azida sódica. El procesado de los datos se realizó en el laboratorio, donde los datos brutos tomados por el CTD fueron corregidos mediante el empleo del programa Seabird Processing, para eliminar los errores generados por el movimiento del CTD en el agua (penduleo, loops, etc) y para transformar los registros de conductividad a datos de salinidad. La integración de los datos obtenidos se efectuó cada medio metro.

La Tabla 3.3 muestra los métodos estandarizados empleados para de determinación de las variables medidas en continuo, así como los instrumentos de medida empleados y la precisión de los mismos. Las **muestras puntuales** realizadas en superficie y fondo de la columna de agua se emplearon para el análisis de sólidos en suspensión, nitratos, nitritos, amonio, fosfatos, aceites y grasas. La toma de muestras se realizó con botellas Niskin de 5 litros de capacidad (Figura 3.6).

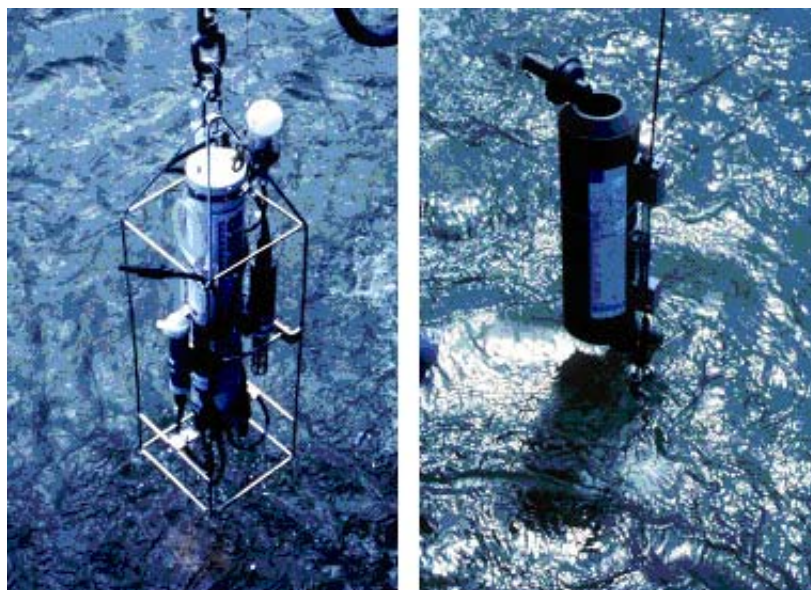


Figura 3.6. CTD y botella Niskin utilizada para la toma de muestras.

Las muestras de agua para el análisis de nutrientes y sólidos en suspensión fueron almacenadas en botellas de plástico de 1 litro. Una vez en el laboratorio, las muestras fueron filtradas y congeladas hasta su posterior procesado, excepto las obtenidas para el análisis de sólidos en suspensión que fueron refrigeradas a 4° C y procesadas dentro de las 24 horas posteriores a su recolección. El filtrado de las muestras de sólidos en suspensión se realizó con un equipo de filtración MILLIPORE y discos de fibra de vidrio WHATMAN GF/C de 47 mm de diámetro. Además, con el fin de eliminar interferencias provocadas por la retención salina, las muestras fueron lavadas con agua destilada. Por otro lado, las muestras para el análisis de aceites y grasas fueron almacenadas en botellas de vidrio esmerilado (1 litro) y conservadas mediante la adición de 1 ml de H₂SO₄ hasta su inmediato procesado. Todas las muestras fueron analizadas en laboratorio mediante metodologías estandarizadas especificadas en el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (1995) y en el manual de la EPA (U.S. Environmental Protection Agency), que se resumen en la Tabla 3.3.

Variables	Modo medida	Unidades	Toma muestra	Técnica	Método	Límite de detección/Rango medida	Tipo sensor/ instrumento	Precisión
Salinidad	C	PSU	CTD	Electrometría	APHA -2520 B Salinidad	0 a 7	Conductímetro SBE-4	0,001
Temperatura	C	°C	CTD	Electrometría	APHA -2550 Temperatura	-5 a 35	Termistor SBE-3	0,01
Oxígeno disuelto	C	mg/l	CTD	Electrometría	APHA-4500 G Oxígeno	0-15	Electr.membrana SBE-23y	0,1
	P	mg/l	Niskin	Volumetría/Winkler	APHA-4500 C Oxígeno			----
pH	C		CTD	Electrometría	APHA-4500-H ⁺ ^B pH	0-14	pH-metro SBE-18	0,1
Turbidez	C	NTU	CTD	Nefelometría	APHA-2130 B Turbidez	0-750	Turbidímetro Seapoint	<2%
Clorofila "a"	C	µg/l	CTD	Fluorimetría	APHA-10200 H Clorofila	0.03-75	Fluorómetro WETstar	0,03
S. suspensión	P	mg/l	Niskin	Gravimetría	APHA-2540 D	----	Balanza Sartorius AC 201 S	0,1
Nitratos (N-NO ₃)	P	µM/l	Niskin	Espectrofotometría V	APHA-4500-NO ₃ ⁻ F	0,01µM/l	Autoanalizador Bran+Luebbe AA3	----
Nitritos (N-NO ₂)	P	µM/l	Niskin	Espectrofotometría V	APHA-4500-NO ₂ ⁻ A	0,01µM/l	Autoanalizador Bran+Luebbe AA3	----
Amonio (N-NH ₄)	P	µM/l	Niskin	Espectrofotometría V	APHA-4500-NH ₃ ⁻ H	0,01µM/l	Autoanalizador Bran+Luebbe AA3	----
Fosfatos (P-PO ₄)	P	µM/l	Niskin	Espectrofotometría V	APHA-4500 P F	0,01µM/l	Autoanalizador Bran+Luebbe AA3	----
Aceites y grasas	P	mg/l	Niskin	Espectrofotometría IR	APHA-5520 C	0,01mg/l	Espectrofotómetro IR Perkin-Elmer Parangon	----
<i>Escherichia coli</i>	P	ufc/100ml	N/M	Filtración por membrana	Chromocult® coliform agar			

Tabla 3.3. Variables analizadas en las aguas. En la tabla se exponen además el tipo de medida; **C**= continua o **P**= puntual, las unidades de medida, el modo de toma de muestras (N/M= Niskin y manual), la técnica (V=visible, IR= infrarroja) y método analítico, el límite de detección o rango de medida, el tipo de sensor o instrumento de medida empleado y la precisión del mismo.

Análisis de los datos

El estudio estadístico de la posible afección ocasionada por el vertido continuo del emisario sobre el estado trófico de las aguas costeras afectadas se llevó a cabo mediante la combinación de diferentes técnicas (estadística descriptiva, ANOVA, correlación, Análisis de Componentes Principales) que permitieron contrastar, de una forma progresiva, la hipótesis planteada. De este modo, el estudio se realizó en dos etapas: primero se analizaron las tendencias espaciales y temporales de variación y, en una segunda fase, se evaluó la tendencia general de evolución del sistema (Figura 3.7).

La primera parte del estudio comenzó con el análisis general de los parámetros estadísticos descriptivos (media, desviación típica, valores máximos y mínimos) de cada una de las variables analizadas agrupadas en los distintos anillos y campañas realizadas. Posteriormente, a partir de la misma matriz de datos brutos, se estableció la significación estadística de las diferencias entre las variables analizadas a distintas distancias del punto de vertido (anillos) y en las distintas campañas mediante sendos análisis de la varianza de una vía (distancia y tiempo, respectivamente). Debido a la falta de normalidad de los datos de la mayoría de las variables y de la heterogeneidad de algunos grupos de varianzas, se optó por el empleo de una técnica de análisis de la varianza no paramétrica, el ANOVA de rangos de Kruskal-Wallis.

El análisis espacial de las variables se efectuó por campañas, empleando para ello, los registros brutos obtenidos en los perfiles verticales de las estaciones muestreadas en los cuatro anillos (Figura 3.7). De este modo se ejecutaron 6 ANOVA de 1 vía (uno por campaña) asignando como factor fijo la distancia al emisario (anillos; L1-L4). En el caso de la campaña de invierno de 2002 en la que sólo se comparaban dos grupos (anillos L1 y L2) se utilizó el test de suma de rangos de Mann-Whitney. Los resultados se expresaron mediante el estadístico H, para el Kruskal-Wallis, o T, para el Mann-Whitney, y, en todos los casos, se indicó el nivel de significación obtenido (ρ). Las diferencias se consideraron significativas con $\rho < 0,05$. Para detectar entre qué anillos fueron significativas las diferencias, se realizaron test (*a posteriori*) de comparaciones múltiples de Dunn para Kruskal-Wallis (Zar, 1996).

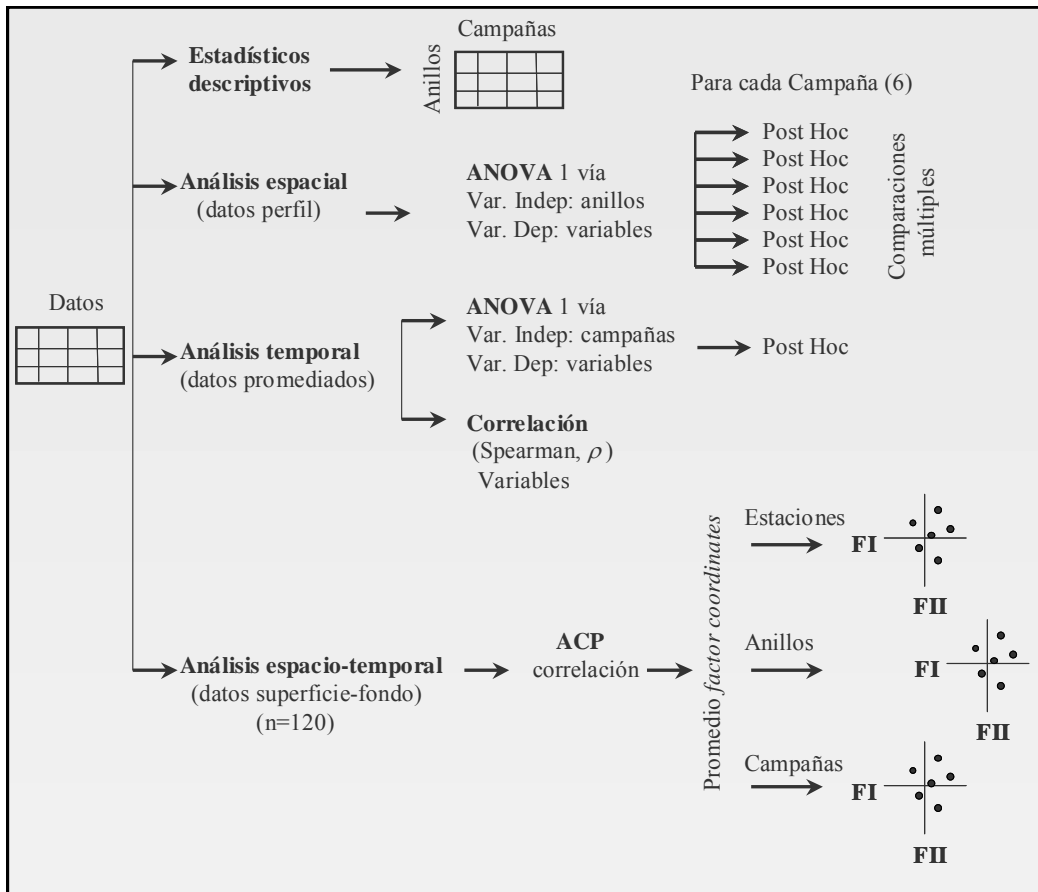


Figura 3.7. Esquema del tratamiento estadístico utilizado en el estudio del estado trófico de las aguas en el entorno de emisario.

De forma análoga, se efectuó el ANOVA de rangos y el test de comparaciones múltiples (*Post Hoc*) para determinar la existencia de diferencias estadísticas entre las variables registradas en el sistema a lo largo del tiempo (análisis temporal), asumiendo para ello, como variable independiente, el tiempo tras el inicio del vertido (campañas de muestreo). Este análisis se desarrolló a partir de los datos de las variables promediadas en cada una de las estaciones a lo largo de las distintas campañas analizadas. Por último, a fin de establecer el grado de significación de las relaciones establecidas entre las variables analizadas se llevó a cabo un análisis de correlación de rangos (Spearman) con los datos promediados de las variables medidas en cada estación a lo largo de las campañas. Los Test de significación estadística se realizaron con los programas SPSS y Sigmastat[®].

La segunda fase de este estudio abordó el análisis de la evolución global del estado trófico de las aguas mediante un análisis multivariante de Componentes Principales (ACP). Este método estadístico de clasificación busca establecer combinaciones de

variables capaces de describir las principales tendencias observadas mientras se estudia una matriz de datos. De este modo se pueden conocer las variables que mejor reflejan la variabilidad del sistema y, en este sentido, constatar la importancia relativa de posibles cambios explicados por aquellas variables asociadas al vertido.

La matriz de cálculo estuvo conformada por los datos de las variables sin transformar (tanto medidas de manera continua como puntual) obtenidos en la superficie y fondo de la columna de agua en las 11 estaciones analizadas durante el período 2001-2003 (120 casos). Las medidas de asociación empleadas en el ACP fueron las correlaciones entre los pares de variables.

Una vez definidas las cargas que aportaron las variables ambientales a cada uno de los componentes o factores, se realizó la agrupación de los casos obtenidos en el ACP en estaciones, anillos (análisis espacial) y en campañas (análisis temporal) calculando el valor medio de las coordenadas de los casos (*factor coordinates*) obtenidas en el ACP para una misma estación, anillo o campaña (Figura 3.7). Dichos factores se utilizaron para la representación de los valores medios obtenidos en el espacio factorial.

Las agrupaciones espaciales (estaciones, anillos) proporcionan una idea global de las condiciones tróficas que se dan en el entorno del emisario sin tener en cuenta las variaciones temporales. De forma análoga, la agrupación de los casos en campañas ofrece una visión de la dinámica estacional, reduciendo la zona de estudio a un único punto en el espacio factorial (campaña).

Los ACP se calcularon mediante el paquete estadístico STATISTICA y las representaciones gráficas de las estaciones, anillos y campañas se realizaron empleando el programa Sigmaplot[®].

3.2.3. ESTUDIO DEL ESTADO QUÍMICO DE LAS AGUAS

Este estudio se llevó a cabo mediante la realización de un ensayo de bioacumulación *in situ* en organismos filtradores en el que se analizaron las concentraciones de los compuestos tóxicos más comunes en las aguas residuales urbanas, los metales pesados.

Selección de organismos

El organismo seleccionado para el ensayo fue el bivalvo filtrador *Mytilus edulis* (mejillón). Su gran capacidad de bioacumulación de contaminantes (capaz de filtrar entre 1 y 2 litros a la hora) y su gran resistencia a la manipulación, hacen que este bivalvo sea empleado en numerosos trabajos de este tipo (Honkoop *et al.*, 2003; Andral *et al.*, 2004).

Los mejillones empleados en el ensayo procedieron de las rías gallegas y su tamaño osciló entre 50 y 70 mm, asegurando, de este modo, la similitud genética, fisiológica y metabólica de los mismos (Figura 3.8). La limpieza externa de las valvas se realizó empleando placas de polipropileno y guantes de látex para evitar cualquier tipo de contaminación de las muestras. Con el fin de reducir los efectos negativos sobre la supervivencia de los individuos y la tasa de crecimiento derivados de una manipulación excesiva (Salazar *et al.*, 1995), se extremaron las precauciones para no dañar a los organismos durante la misma.

Sistema de cultivo

Para llevar a cabo este estudio se diseñó un sistema de cultivo consistente en un cabo de nylon, de 7 mm de diámetro y 8-10 m de longitud, anclado a la escollera de protección del emisario mediante un ancla de tipo DANFORT de 70 kg y sujetado por una boya, sobre el que se enganchaban las unidades experimentales de incubación (Figura 3.9). Cada unidad experimental consistía en una cesta de 50 x 25 x 10 cm, fabricada manualmente en malla plástica flexible de 1 cm de luz de malla, que estaba subdividida en 10 compartimentos de tamaño similar con capacidad para albergar unos 15 individuos (Figura 3.8). Esta estructura evitaba el hacinamiento de los mejillones y permitía una exposición homogénea al vertido.

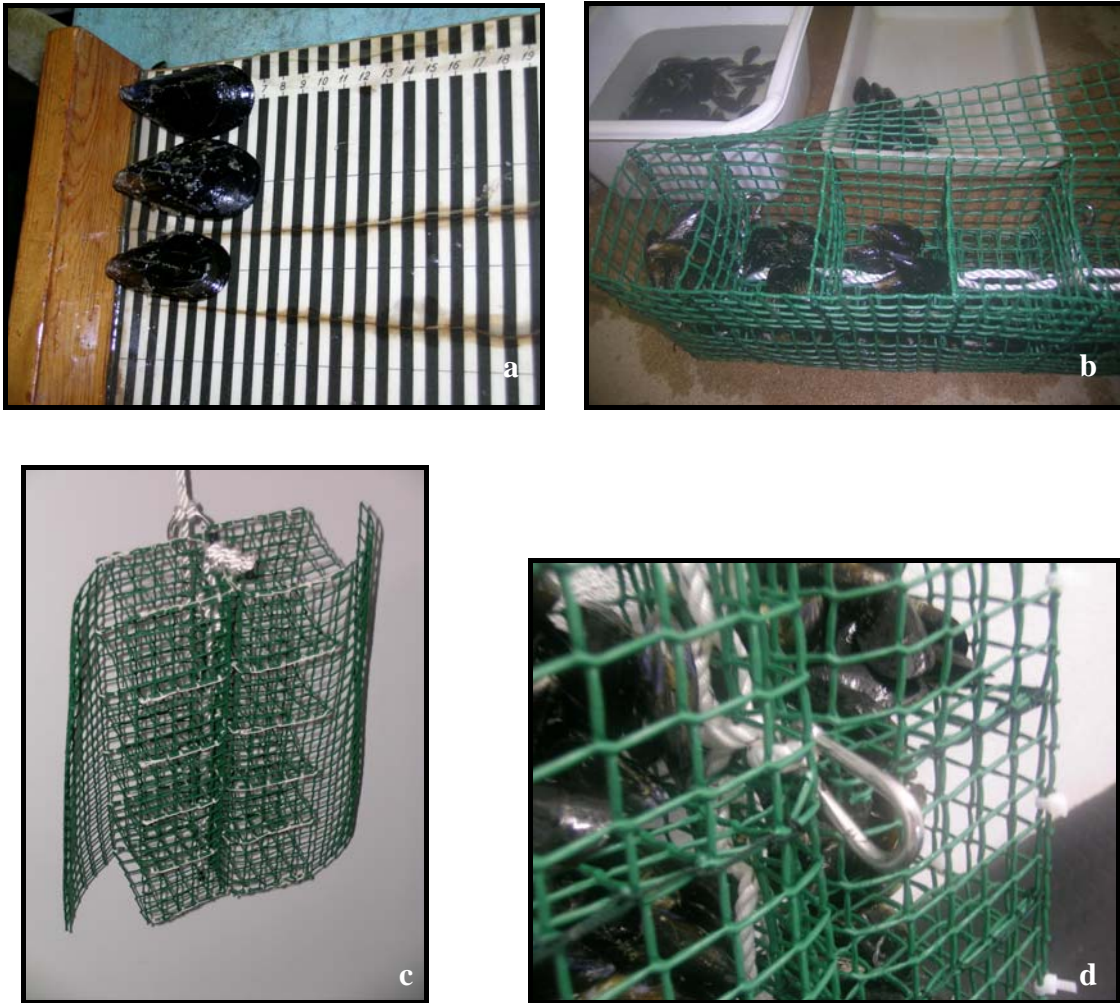


Figura 3.8. Selección de los especímenes según tamaño (a), introducción de los mismos en las unidades experimentales (b). Unidades experimentales (c) y pieza de anclaje a las estructuras de fijación (d).

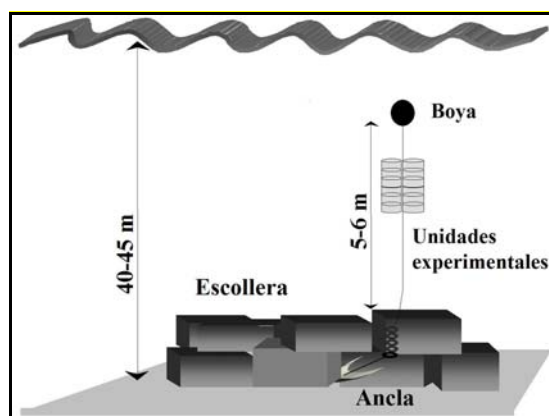


Figura 3.9. Esquema de una estructura de fijación junto con las unidades experimentales.

Diseño experimental

El estudio se llevó a cabo en la zona de los difusores, a unos 40-45 m de profundidad, mediante la colocación de dos unidades de cultivo ubicadas a ambos lados de la escollera, a unos 7-10 m del difusor. Tras la colocación del sistema de soporte, el experimento se extendió durante un período de 100 días, contados a partir de la introducción de las unidades experimentales, en el mes de mayo de 2004 (primavera-verano). Como pasos previos al trasplante, se seleccionaron 1500 individuos al azar, que fueron introducidos en cada una de las 10 unidades experimentales (150 individuos por unidad), los cuales se acondicionaron durante 5-6 días en tanques de agua de mar en circuito abierto.

De este modo, a finales del mes de mayo se realizó el trasplante de 8 de las 10 unidades experimentales a la zona de estudio (4 unidades x estructura) mediante buceadores con equipos autónomos. Las dos unidades que no fueron transplantadas fueron retiradas de los tanques de acondicionamiento con el fin de procesar los mejillones para el posterior análisis de las concentraciones basales o control de metales pesados en los mismos (T0). A partir de dicho momento, durante los tres meses que duró el ensayo, se llevó a cabo la recogida de dos unidades experimentales (una unidad por estructura) con una frecuencia aproximadamente mensual, de modo que, finalizado el ensayo, se dispuso de material para analizar correspondiente a tiempo T0 (control), T30, T60 y T100 días de exposición al vertido (mejillones tratados).

Con objeto de relacionar la posible bioacumulación de contaminantes con el vertido del emisario, se realizó una caracterización simultánea del efluente de la EDAR. La caracterización de los efluentes se efectuó sobre muestras compuestas (12h) generadas a partir de submuestras horarias recogidas con un muestreador automático en la arqueta de salida de la depuradora de San Román, siguiendo las recomendaciones de la Normativa ISO 5667-2:1991. Al objeto de caracterizar la variabilidad del efluente, estos muestreos se efectuaron durante ciclos de 24 h (2 muestras: período nocturno y diurno), repetidos cada 15 días durante los 3 meses que duró el ensayo de bioacumulación (mayo-julio 2004), haciendo un total de 20 muestras de agua (10 muestras x 2 réplicas). Las muestras de agua fueron almacenadas en botellas de vidrio esmerilado de 1 litro de capacidad hasta su análisis.

Procesado y análisis de las muestras

A medida que fueron retiradas las unidades experimentales, los mejillones se sometieron a una fase de depuración, durante 24 h, para la eliminación de pseudoheces, en una depuradora con circuito abierto de agua de mar tratada con rayos UV.

Posteriormente, el procesado de los mejillones se llevó a cabo en el laboratorio, donde se procedió a la extracción de los tejidos en vivo con la ayuda de escalpelos de acero inoxidable. Los especímenes de cada muestra fueron escurridos durante 30 segundos, empleando un embudo Büchner, con el fin de eliminar los restos de líquido intervalvar antes de ser congelados a -18° C.

Los análisis de metales pesados (Zn, Cd, Hg, Ni, Cu, Pb, Cr total y As) se realizaron conjuntamente al finalizar el estudio de campo. Para ello, se procedió al descongelado de las muestras antes de realizar su homogeneización en un mortero de ágata y la digestión ácida de dicho material en un horno microondas. Las concentraciones de los diferentes metales pesados en las muestras (extracto de muestras de mejillones y aguas del efluente de la EDAR) fueron analizadas, salvo el mercurio, por espectrofotometría de masa con plasma de acoplamiento inductivo según el método EPA 6020. Las determinaciones analíticas se realizaron con un espectrofotómetro MS-ICP serie 7500 c, modelo G3155A, siendo el límite de detección de la técnica 0,001 mg/kg. La concentración de mercurio en todas las muestras fue analizado por espectrofotometría de absorción atómica por técnica de vapor frío, siguiendo el método APHA 3112b, siendo el límite de detección de la técnica 0,001 mg/kg. Por último, en el caso del arsénico, las interferencias creadas por los cloruros fueron eliminadas mediante el empleo de celda de colisión.

Las concentraciones de metales en mejillones obtenidas se expresaron en base seca (mg/kg peso seco de mejillón), tras el cálculo del residuo seco de las muestras.

Análisis de los datos

El estudio de la evolución temporal de la concentración de metales pesados en los mejillones partió del análisis de los parámetros estadísticos descriptivos de cada una de las variables analizadas.

Para examinar el grado de significación de las diferencias establecidas entre las concentraciones de los metales en los mejillones a lo largo del tiempo se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) de una vía: el tiempo de exposición al vertido (0, 30, 60 y 100 días). Antes de ejecutar el análisis, se verificó la homogeneidad de varianzas (Test de Levene) y la normalidad de los datos (test de Kolmogorov-Smirnoff). De igual forma, debido al elevado crecimiento observado en los mejillones a lo largo del estudio se realizó un análisis de correlación entre el peso seco de los especímenes y la concentración de metales presentes en el tejido de los mejillones para comprobar si los datos necesitaban ser estandarizados (Andral *et al.*, 2004). La ausencia de relaciones positivas entre ambas variables a lo largo del tiempo fue suficiente para descartar este tipo de transformación. Para aquellas variables (metales pesados) para los que se obtuvieron diferencias significativas en los ANOVA se realizaron comparaciones múltiples mediante el Test de Tukey (*Post hoc*) con el fin de valorar la significación entre los distintos tratamientos.

Por último, las concentraciones medias de metales pesados obtenidas en la carne de los mejillones control y transplantados fueron comparadas con los niveles de referencia (I-Bc, I-Mc y I-Ec) establecidos por un organismo con elevada experiencia en este campo como es el Instituto Francés de Investigaciones marinas (IFREMER, 1993). Estos niveles de referencia (I-Bc, I-Mc y I-Ec) son los rangos de concentración planteados dentro de los cuales los mejillones se consideran que muestran un estado de calidad bueno (nivel basal: I-Bc), malo (nivel de precaución: I-Mc) o extremadamente malo (nivel de peligro: I-Ec), respectivamente. Las concentraciones se expresaron en mg/kg peso seco. De igual manera, las concentraciones de metales analizadas en el efluente fueron promediadas y comparadas con los valores límite de estos compuestos que pueden tener los vertidos desde tierra a mar establecidos por la Administración de Murcia. Así mismo estas concentraciones fueron contrastadas con los objetivos de calidad de las aguas de mar establecidos por la Legislación vigente (Directivas 82/176/CEE; 83/513/CEE) y por Belzunce (2004) para el País Vasco, valores obtenidos a partir de diferentes aproximaciones que combinan criterios químicos y biológicos (EPA, 1999) así como por valores propuestos en la Legislación Española y Europea (Directivas 82/176/CEE y 83/513/CEE).

3.2.4. ESTUDIO DE LA CALIDAD BACTERIOLÓGICA DE LAS AGUAS DE BAÑO

Este estudio contempló la realización de ensayos complementarios dirigidos a: 1) analizar la variabilidad de los contaminantes bacteriológicos en el entorno del vertido del emisario; 2) estimar la calidad bacteriológica de las aguas de las playas más próximas al punto de vertido del emisario durante una temporada de baño y; 3) determinar los rangos de variación de este tipo de contaminantes a lo largo de un ciclo diario en una playa situada en el área de influencia del vertido del emisario.

Diseño de muestreo

La consecución del primero de dichos ensayos se llevó a cabo mediante la realización de una única campaña durante la temporada de baño de 2003. Su ejecución coincidió en el espacio (estaciones de muestreo) y en el tiempo con la campaña estival correspondiente al estudio del estado trófico (Figura 3.4), utilizando los mismos medios ya indicados (apto. 3.2.1). En este caso, el muestreo se realizó a dos niveles de la columna de agua (superficie y fondo), almacenando las muestras recogidas en recipientes de polipropileno estériles, de 100 ml de capacidad. De forma complementaria, se disponen de datos bacteriológicos del efluente de la EDAR recogidos en la arqueta de salida de la instalación durante la temporada estival de 2004 que servirán para estimar los factores de reducción alcanzados.

Por otro lado, el segundo de los ensayos se llevó a cabo, también, durante la temporada de baño de 2003, mediante muestreos semanales en 4 estaciones establecidas en las playas de San Juan de la Canal (SJ) y la Virgen del Mar (VM) (2 estaciones por playa) (Figura 3.10). La recogida de las muestras para este estudio se llevó a cabo a las 11:00 horas, todos los lunes y miércoles incluidos en el período comprendido entre el 21 de julio y el 24 de septiembre (10 semanas). En cada estación se recogieron dos muestras de agua directamente en recipientes de polipropileno estériles de 100 ml de capacidad, a 30 cm de la superficie del agua en zonas donde la profundidad fue superior a 1 metro. Además, se midió la temperatura ambiente y la temperatura del agua, estimando, así mismo, la nubosidad, como octavos de cielo cubierto, y la turbidez en el momento de la toma de muestras. De igual modo se desarrolló, en esta época, el estudio de la evolución de la calidad bacteriológica en dos estaciones de la playa de San Juan de la Canal (SJ) a

lo largo de un ciclo diario (Figura 3.10). La toma de muestras para este estudio se realizó, siguiendo el mismo procedimiento que en el caso anterior, aproximadamente cada hora, desde las 7:00 a las 20:00 h.



Figura 3.10. Estaciones de muestreo para el estudio bacteriológico en las playas de San Juan de la Canal (SJ) y la Virgen del Mar (VM). El estudio de la contaminación bacteriológica de las aguas de baño se realizó de julio a septiembre de 2003.

En todos los casos, la variable seleccionada para estimar la influencia del vertido fue la concentración de *Escherichia coli*, indicador de la calidad bacteriológica empleado en el diseño medioambiental del emisario y en la Directiva de calidad de las aguas de baño vigente (2006/7/CE).

Procesado y análisis de las muestras

Las muestras de agua obtenidas en los tres estudios se almacenaron en un lugar fresco y se trasladaron al laboratorio para su inmediato procesado (<6 horas). El análisis de las muestras para la detección y cuantificación de *Escherichia coli* se efectuó siguiendo el método Chromocult® Coliform agar aprobado por la EPA bajo las normas referentes a Coliformes Totales (40 CFR Part 141). Esta técnica de filtración por membrana, que emplea como medio de cultivo el Chromocult® Coliform agar de la casa Merck, se llevó a cabo siguiendo las indicaciones establecidas en la ficha técnica proporcionada por los fabricantes. La incubación tuvo lugar a una temperatura entre 35 y 37° C durante 24 h. Una vez finalizado el tiempo de incubación se procedió al recuento de las colonias típicas de *E.coli*, considerando como tales aquéllas que presentaban un color entre azul oscuro y violeta. Las concentraciones de *E. coli* se expresaron en UFC/ 100 ml.

Análisis de los datos

A partir de los resultados obtenidos se aplicaron tratamientos específicos para cada uno de los ensayos. Así, la variabilidad espacial de la contaminación bacteriológica en el entorno del emisario se analizó mediante la interpolación de los resultados obtenidos a cada nivel de profundidad (superficie/fondo), utilizando la técnica de *kriging* del programa Surfer 8.

En relación con la calidad bacteriológica de las aguas de las dos playas próximas, el procedimiento de análisis estadístico aplicado fue el propuesto en la Directiva 2006/7/CE. Éste se basa en la determinación de los valores de concentración del indicador bacteriológico (*E.coli*) correspondientes al percentil 95 y 90, respectivamente, a partir de la distribución de probabilidad obtenida, en este caso, de los resultados de cada playa a lo largo de la temporada de baño. Dichos percentiles representan los parámetros de calidad que se contrastan frente a los umbrales establecidos para *E. coli* en la Normativa (percentil 95 < 250 UFC/100 ml: calidad excelente; < 500 UFC/100 ml: calidad buena; percentil 90 < 500 UFC/100 ml: calidad suficiente) (Tabla 3.4). Así mismo se elaboraron gráficos de probabilidad de superación (%) de una cierta concentración de *Escherichia coli* para las playas de San Juan de la Canal y Virgen del Mar.

Por último, los rangos de variación de dicho indicador a lo largo del ciclo diario se analizaron mediante la representación directa de las concentraciones obtenidas a lo largo del tiempo, utilizando, además, la misma aproximación metodológica planteada en la Directiva, aplicada, en este caso, a los registros diarios.

<i>Aguas costeras y de transición</i>			
Parámetros	Calidad excelente	Calidad buena	Calidad suficiente
Enterococos intestinales (UFC/100 ml)	100 (*)	200 (*)	185 (**)
<i>Escherichia coli</i> (UFC/100 ml)	250 (*)	500 (*)	500 (**)

(*) Con arreglo a lo dispuesto a la evaluación del Percentil 95 (Anejo II)

(**) Con arreglo a lo dispuesto a la evaluación del Percentil 90 (Anejo II)

Tabla 3.4. Valores del percentil de las enumeraciones microbiológicas a partir de las cuales las aguas se considera que tienen una calidad excelente, buena o suficiente según los Anejos I y II de la Directiva 2006/7/CE.

3.2.5. ESTUDIO DE LA CALIDAD DE LOS FONDOS SEDIMENTARIOS

Diseño de muestreo

La comprobación del estado físico y químico de los fondos se realizó, de acuerdo con la propuesta de Smith *et al.* (1987) y Roper *et al.* (1989), en la zona de mayor influencia del vertido (200-300 m de radio alrededor de los difusores), un año después de la entrada en servicio del saneamiento (verano de 2002). Para ello, se diseñó una malla de muestreo de 16 estaciones distribuidas, de forma sistemática, a lo largo de 4 transectos ubicados con un ángulo de 70-110° entre sí, que tomaron como punto de partida el segundo difusor (Figura 3.11). En cada transecto se localizaron 4 estaciones, a una distancia aproximada de 50, 100, 200 y 300 metros del punto de vertido, en las que se recogió una muestra de sedimento, de modo directo, por buceadores autónomos. Las muestras obtenidas se almacenaron en botes de polipropileno y posteriormente se congelaron a una temperatura de -18°C hasta su posterior procesado.

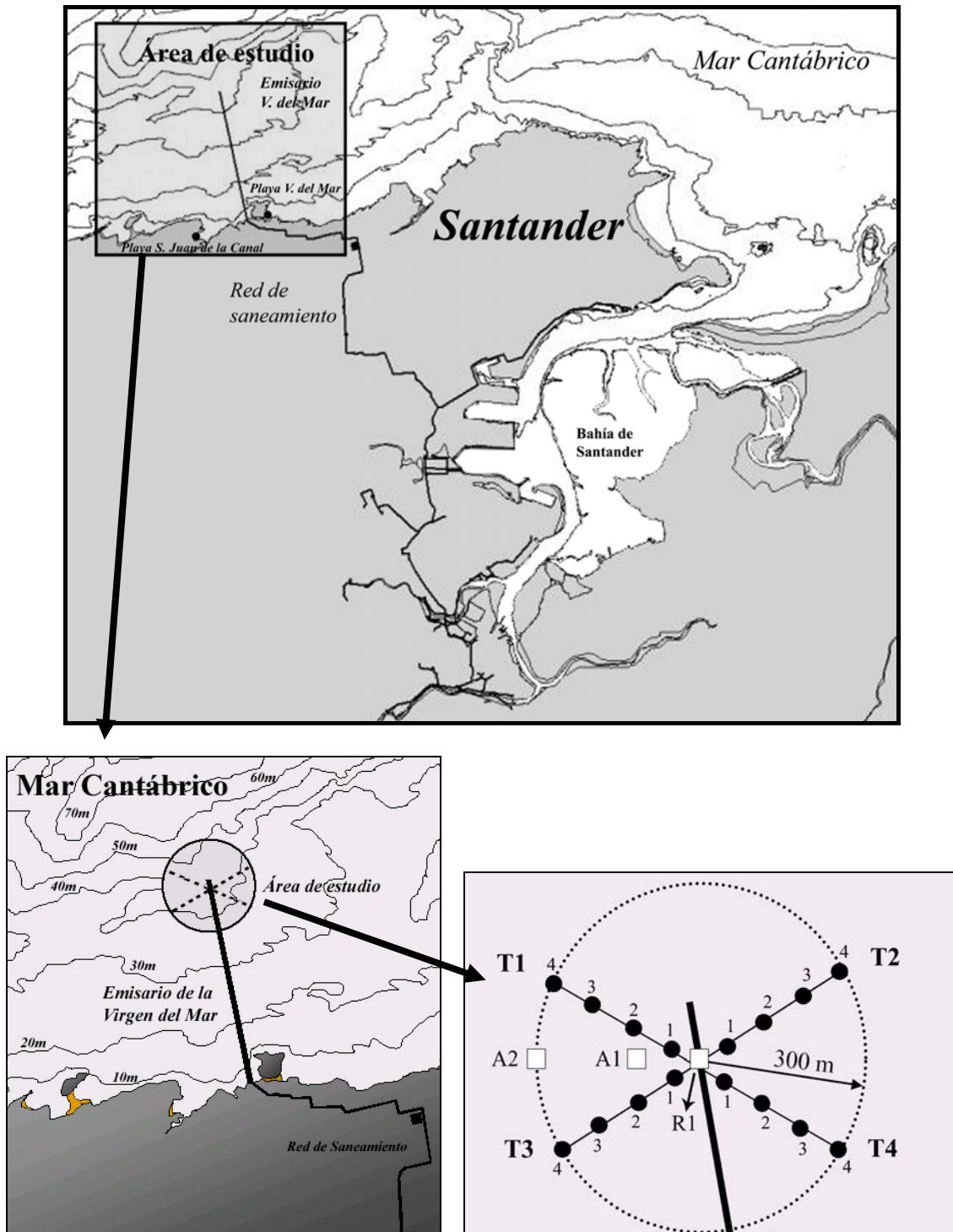


Figura 3.11. Localización del área de estudio (Virgen del Mar), distribución de las estaciones de muestreo del sedimento en los transectos T1 a T4 (●) y localización de las estaciones de muestreo (R1, A1 y A2) correspondientes al estudio de las comunidades bentónicas de fondo duro (□).

Procesado y análisis de las muestras

Antes de realizar los análisis, las muestras fueron descongeladas al aire. Posteriormente, el sedimento fue secado a 105° C durante 24 h, para realizar los análisis granulométricos y de materia orgánica y para obtener material suficiente para las determinaciones analíticas realizadas sobre la fracción fina (metales pesados y bifenilpoliclorados (BPCs)).

Los análisis granulométricos se realizaron, en seco, por gravimetría de partículas (escala de Wentworth) empleando una columna de 7 tamices homologados marca CISA (4; 2; 1; 0,5; 0,25; 0,125 y 0,063 mm de luz de malla, respectivamente) y una balanza de precisión Sartorius SL 150S ($\pm 0,001$ g), tras realizar una combustión seca a 550° C durante 6 horas en un horno mufla Hobersal HK-11, partiendo de una muestra del sedimento previamente homogeneizada y secada a 105° C.

El análisis de metales pesados se realizó sobre la fracción fina ($< 0,063$ mm) con el fin de normalizar los datos e incluyó la determinación de As, Cd, Cu, Fe, Hg, Pb, Ni, Zn y Cr total mediante espectrofotometría de masas con acoplamiento inductivo, salvo en el caso del mercurio que se utilizó espectrofotometría de absorción atómica por técnica de vapor frío, siguiendo las especificaciones técnicas indicadas en la Tabla 3.5.

Por último, los BPCs (congéneres: BPC₂₈, BPC₅₂, BPC₁₀₁, BPC₁₁₈, BPC₁₃₈, BPC₁₅₃ y BPC₁₈₀) se determinaron siguiendo un método basado en la Norma Holandesa VPR C88-16, previa extracción con éter de petróleo y 2 h de agitación o sonicación. Posteriormente, el extracto se concentraba y lavaba mediante un *cleanup* con florisil. Una vez limpio, el extracto fue analizado por cromatografía gaseosa con detector de captura electrónica en un cromatógrafo Autosystem (Perkin-Elmer).

Además, este estudio contó con datos físicos y químicos de sedimento no perturbado, analizados durante el año 2005, según la metodología descrita, en zonas del Cantábrico aledañas (GESHA, 2005). Estos registros fueron empleados como valores de referencia o control en los posteriores análisis.

Variables	Tipo fracción	Unidades	Técnica	Método	Pretratamiento	Límite de detección	Tipo sensor/ instrumento
Granulometría	Total	%	G				Balanza de precisión Sartorius BL 150S
Materia orgánica	Total	%	G				Horno mufla Hobersal HK-11
Cd, Cu, Cr, Fe, Mn, Ni, Pb, As y Zn	<63µm	mg/kg	E	EPA 6020	EPA SW 3052	0,2 µg/kg	Espectr. Mas. A. Inductivo MS-ICP 7500/G3155A
Hg	<63µm	mg/kg	E	APHA 3112 B	EPA SW 3052	0,1 µg/kg	Espectr. Abs. Atómica Perkin-Elmer 5100 PC
BPC's	<63µm	ppm	C	Bas.VPR C88-16	Bas. VPR C88-16	0,04 µg/l	Cromatogr. Gas. Cap. Electr. Perkin-Elmer Autosystem

Tabla 3.5. Variables analizadas en los sedimentos. En la tabla se exponen además el tipo de fracción de sedimento analizado, las unidades de medida, la técnica empleada (G-gravimetría, E-espectrofotometría y C-cromatografía), el método analítico, el pretratamiento, el límite de detección del método de análisis y el sensor o instrumento de medida empleado (Espectr. Mas. A. Inductivo: espectrofotómetro de masas con acoplamiento inductivo. Espectr. Abs. Atómica: espectrofotómetro de absorción atómica. Cromatogr. Gas. Cap. Electr.: cromatógrafo de gases con detección de captura electrónica).

Análisis de los datos

La comprobación de la afección originada por el vertido del emisario sobre los fondos sedimentarios adyacentes se efectuó mediante tres tipos de aproximaciones: la evaluación de la calidad de los sedimentos, la constatación de las relaciones existentes entre las diferentes variables físicas y químicas y el análisis de los factores que condicionan la calidad actual de dichos sedimentos en el entorno de afección. Para llevar a cabo el primer análisis se calcularon los parámetros descriptivos de cada una de las variables analizadas en las muestras de sedimento correspondientes a las estaciones situadas en cuatro anillos concéntricos a diferentes distancias alrededor del difusor, así como en las estaciones control. Dichos valores fueron comparados con los criterios de calidad propuestos a nivel nacional (CEDEX, 1994) para la evaluación de materiales de dragado y otros propuestos por la NOAA para la evaluación de los efectos sobre las comunidades biológicas (Long *et al.*, 1995). En segundo lugar se llevó a cabo un análisis de correlación paramétrico (Test de Pearson, r) con los datos de las variables medidas únicamente en los sedimentos de la zona del vertido, previa comprobación de la normalidad de los datos mediante el Test K-S (Kolmogorov-Smirnoff). Por último, se ejecutó un ACP empleando como medida de asociación las correlaciones entre los pares de variables medidos en el sedimento (datos sin transformar). Este análisis sirvió para establecer, por un lado, los factores de variación conjunta definidos entre los distintos metales analizados, el contenido en materia orgánica y el porcentaje de finos ($\emptyset < 0,063$ mm) y, por otro lado, para cuantificar la influencia de dichos factores en el patrón de distribución de los sedimentos con diferente calidad dentro de la zona de estudio. Los ACP y análisis de correlación fueron ejecutados mediante el programa STATISTICA.

3.2.6. ESTUDIO DE LAS COMUNIDADES BENTÓNICAS DE FONDO ROCOSO

Diseño de muestreo

El análisis de la afección sobre las comunidades bentónicas en el entorno de la Virgen del Mar se realizó en la zona rocosa adyacente al vertido. El estudio cuantitativo realizado contempló un diseño antes-después (Green, 1979; Underwood, 1994), considerando las variaciones temporales en las comunidades que colonizan el entorno

del emisario antes (estado basal) y después del inicio de los vertidos (estado de perturbación).

El estado basal se determinó a partir del estudio realizado antes de la construcción del emisario submarino, durante la primavera-verano de 1998 (Revilla *et al.*, 1998). En este período se llevaron a cabo dos campañas que incluyeron 3 estaciones de muestreo localizadas a unos 35 m de profundidad, dentro de la zona de estudio, en las que se recogieron 3 réplicas de 2500 cm² de superficie mediante muestreo directo (raspado total).

El análisis de las posibles perturbaciones originadas por el vertido se inició dos años después de la entrada en servicio del emisario submarino y se prolongó durante dos años (primavera-verano 2003 y 2004). En ambas campañas se llevó a cabo un muestreo en tres estaciones situadas a 40-45 m, a lo largo de un transecto de 200 m de longitud, en la zona de influencia del vertido (R1: 0 m (escollera), A1: 50 m, A2: 200 m; Figura 3.11). En cada estación se recogieron un mínimo de 2 réplicas de 625 cm², superficie recomendada para las comunidades dominadas por invertebrados o por algas de mediano y bajo porte (Hiscock, 1979; Fernández & Niell, 1981; Borja, 1991), mediante buceadores autónomos.

El material biológico recogido en cada muestra se guardó en bolsas de plástico herméticas convenientemente etiquetadas y se transportaron al laboratorio donde se congelaron a -18°C hasta su posterior procesado.

Una vez en el laboratorio se procedió al triado de las muestras con la ayuda de un microscopio estereoscópico (KIOWA SZM-P), separando los organismos en los principales grupos presentes para facilitar su posterior determinación taxonómica y cuantificación. La identificación de las especies se realizó con un microscopio OLYMPUS BH empleando las claves de identificación taxonómica especificadas en el apartado bibliográfico de esta tesis. Los criterios taxonómicos adoptados siguieron la clasificación propuesta por las escuelas inglesa y francesa.

La cuantificación de la abundancia se estimó en nº individuos/m² y la biomasa de las especies de algas presentes en g PS/m² (PS= peso seco). Los ejemplares fueron conservados, posteriormente, en etanol al 70%.

Análisis de los datos

El análisis de la afección en el entorno del emisario contempló una serie de análisis estadísticos univariantes y multivariantes que se resumen en la Figura 3.12, cuyo objetivo es aportar diferentes “líneas de evidencia” para responder cuestiones relacionadas con la modificación de la presencia de taxones, su abundancia o su composición relativa debida a la perturbación provocada por el vertido. En primer término, se procedió a la caracterización de las comunidades asentadas en el entorno del emisario antes y después del inicio de los vertidos, mediante el empleo de análisis univariantes a nivel de especie (Figura 3.12). Estos análisis reducen los datos de las especies presentes en cada muestra a valores de distintos coeficientes o índices biocenóticos, los cuáles se detallan a continuación:

- **Riqueza de especies (S):** número medio de especies por muestra (n° spcs). Este índice se precisa mediante valores específicos para las especies de fauna (S_n) y de algas (S_b).
- **Abundancia (N):** número total de organismos de las especies faunísticas (n° ind/m²).
- **Biomasa (B):** biomasa de las especies algales presentes (g peso seco/m²).
- **Diversidad (H'):** calculada según el índice de Shannon ((Shannon & Weaver, 1963).

$$H' = -\sum_{i=1}^s p_i \log_2 p_i$$

donde p_i es la proporción sobre la abundancia total de la especie i . La diversidad se calculó atendiendo al número de individuos de especies faunísticas “contables” ($H'n$) o a la biomasa de especies algales ($H'b$).

- **Dominancia (S_i'):** calculado según el índice de Simpson.

$$S_i' = 1 - \sum_{i=1}^s p_i^2$$

donde p_i es la proporción sobre la abundancia total de la especie i . La dominancia también se calculó atendiendo al número de individuos de especies faunísticas “contables” (Sin) o a la biomasa algas (Sib).

• **Equitatividad (J')**: calculado según el índice de Pielou. Compara el valor del índice de Shannon actual con su valor hipotético si todas las especies se hallasen en igual proporción ($\log s$).

$$J' = H' (\log s)^{-1}$$

donde s , es la riqueza observada de especies. El cálculo de la equitatividad se realizó tanto con la abundancia en número de las especies faunísticas ($J'n$) como con la biomasa de las algas presentes ($J'b$).

A partir de los valores calculados para las diferentes muestras, se calculó el valor medio, la desviación estándar, y los valores máximos y mínimos de cada índice por estación (zona) y campaña.

Además de los índices calculados, la caracterización de las comunidades contempló el análisis de la composición taxonómica de las mismas. De este modo se cuantificó el número de especies pertenecientes a los distintos grupos taxonómicos en las distintas réplicas y campañas analizadas, procediendo, posteriormente, al cálculo de la media y de la desviación típica para cada estación muestreada (zona). Esto permitió la comparación de las composiciones taxonómicas antes y después de la perturbación.

Como complemento necesario para cuantificar y valorar la significación de los cambios en la composición taxonómica, se procedió a identificar las especies que contribuyeron en mayor medida a diferenciar las comunidades establecidas en las estaciones muestreadas en el entorno del emisario antes y después del inicio de los vertidos. Para ello, se realizó un análisis de similitud SIMPER (Clarke, 1993; Clarke & Warwick, 1994) con el objeto de determinar las diferencias entre los grupos o zonas establecidas (antes-después; distancia al punto de vertido), mediante el reconocimiento de las especies responsables de las similitudes dentro de grupos y de las disimilitudes entre grupos. La matriz de partida de este análisis se construyó con los datos de

presencia/ausencia de las especies de fauna y flora sin transformación ni estandarización previa.

Siguiendo el esquema metodológico planteado (Figura 3.12), el grado de asociación o similitud en la composición, abundancia y biomasa de las especies presentes en las muestras antes y después del vertido, se determinó mediante análisis multivariantes de clasificación jerárquica (clústers/dendrogramas). Para ello, se aplicó el índice de similitud de Bray-Curtis (Bray & Curtis, 1957) a la matriz de composición específica de muestras, obteniendo una matriz triangular de distancias ecológicas, a partir de la cual se generaron los clústers. La matriz de similitud establecida entre los pares de muestras se obtuvo según el método *group average* en el que se toma como similitud entre réplicas o grupos de réplicas el promedio de las mismas entre los pares establecidos. Para visualizar la relación espacial entre las distintas muestras, se recurrió al análisis no paramétrico de ordenación MDS (*Multidimensional scaling*). El MDS construye un “mapa” o configuración de las muestras, en un número preestablecido de dimensiones que trata de satisfacer las condiciones impuestas por la matriz de similitudes ranqueada (*rank ordering*). Al igual que en el clúster o dendrograma, se partió de la matriz de similitud obtenida con el índice de similitud de Bray-Curtis, empleando los datos de composición, abundancia y biomasa de las especies previamente transformados ($\sqrt{\sqrt{x}}$).

Con el objeto de aportar una última línea de evidencia sobre los cambios potenciales asociados al vertido, se llevaron a cabo comprobaciones adicionales de la significación de las variaciones de la composición y estructura de las comunidades bentónicas a niveles taxonómicos superiores a la especie, siguiendo los planteamientos esgrimidos por (Ellis, 1985) sobre la aplicación del concepto de suficiencia taxonómica a la detección de impactos ambientales. De este modo, se repitieron los análisis de agregación jerárquica y de ordenación de las muestras, utilizando las matrices cualitativas y cuantitativas generadas a nivel de género y de familia, y se compararon las nueve matrices de similitud obtenidas (presencia/ausencia de fauna y flora, abundancia de taxones de fauna, biomasa de algas) mediante el coeficiente de correlación de Spearman por rangos (ρ), determinando el nivel de significación mediante el procedimiento de permutaciones RELATE (Clarke & Warwick, 1994).

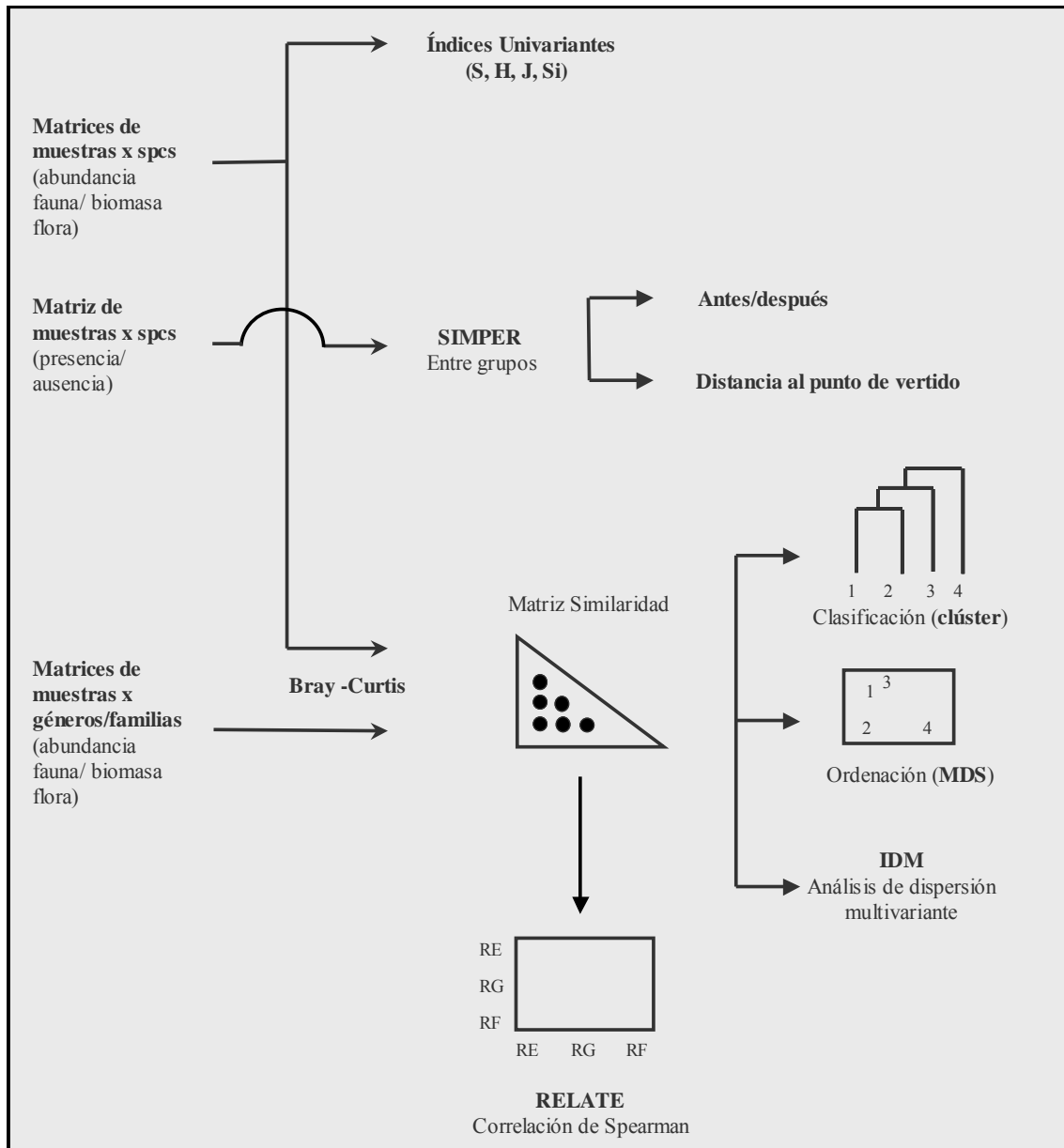


Figura 3.12. Esquema del tratamiento estadístico aplicado a los datos de bentos del entorno del emisario.

Por último, se llevó a cabo el análisis de la variabilidad relativa entre las estaciones control y las muestreadas tras el inicio de los vertidos como parámetro indicativo del estado de perturbación de las comunidades. Para ello se procedió al cálculo del índice de dispersión multivariante (IDM) (Clarke & Warwick, 1994) entre todos los pares de agrupaciones establecidas a partir de las matrices de similaridad. Este índice se emplea para contrastar el promedio del rango de similitudes obtenidos entre las muestras tomadas tras el inicio del saneamiento (R1, A1 y A2) y el promedio de rangos de los controles de 1998. Todos los análisis univariantes y multivariantes empleados en este estudio fueron ejecutados mediante los paquetes estadísticos PRIMER y STATISTICA.

3.3. ANÁLISIS DE LA EVOLUCIÓN DE LA CALIDAD DE LAS MASAS DE AGUA ESTUARINAS

El diseño y la metodología aplicados en el análisis de la evolución de la calidad de las aguas y fondos sedimentarios estuarinos, tras el cese de los vertidos continuos sin depurar a la Bahía se organizó en dos bloques metodológicos.

El primer bloque, denominado “**estudio de la calidad de las aguas estuarinas**”, expone la metodología aplicada en el análisis del estado trófico de las aguas en el estuario, así como en el estudio de la calidad bacteriológica de las zonas de baño cercanas. El segundo bloque sintetiza el diseño y métodos aplicados en el **estudio de la calidad de los fondos estuarinos**, englobando tanto los fondos sedimentarios como las comunidades bentónicas que los habitan. Dada la importancia de conocer la geomorfología y las características ambientales del área de estudio en el diseño de los muestreos, así como de las presiones que sobre él se venían originando, antes de pasar a describir la metodología, se incluye una breve descripción del estuario que conforma la Bahía de Santander.

3.3.1. DESCRIPCIÓN DE LA BAHÍA DE SANTANDER

La Bahía de Santander es una ensenada natural que se encuentra situada entre los paralelos 43° 28' y 43° 24' de latitud Norte, y los 3° 49,9' y los 3° 48,8' de longitud Oeste. Esta ensenada empezó a formarse hace doscientos millones de años, por la erosión de sedimentos blandos (yesos, arcillas, etc) ejercida por las fluctuaciones del nivel del mar, la acción mecánica de las corrientes, así como por la desembocadura de los aportes de aguas continentales provenientes del río Miera, y de las escorrentías de Tijero, Solía y Boo. Originariamente, un alto porcentaje del interior de este estuario estaba ocupado por marismas; sin embargo, los rellenos que se efectuaron desde mediados del siglo XVIII para la construcción de estructuras portuarias fueron ganando terreno al mar, hasta tal punto que actualmente sólo el 16 % de los márgenes de la Bahía son costa natural (García-Castrillo, 1997).

Pese a la reducción de su superficie, este enclave presenta, en la actualidad, grandes extensiones de fondos arenosos y fangosos de origen fluvial y biogénico que se

extienden desde la bocana hasta el interior de las rías. Estos fondos se han visto sometidos a la perturbación producida por los usos y actividades humanas que se vienen desarrollando en la Bahía (actividades portuarias, lavado de mineral, vertidos urbanos, etc). El grado de perturbación de estos sedimentos ha estado condicionado por la intensidad, tipología y localización de los efluentes que se han venido vertiendo a la Bahía, así como por las características morfológicas e hidrodinámicas presentes en las distintas zonas del estuario afectadas.

Estudios realizados por diversos autores (Moreno-Ventas (1998); Revilla, *et al.* (1998) y Puente *et al.* (2002)) destacaron la existencia de cuatro grandes zonas establecidas en la Bahía de acuerdo con las diferencias observadas en las características físicas, químicas y biológicas de las aguas y de los fondos. Las dos primeras zonas engloban la margen izquierda de la Bahía (frente urbano y canal), donde se localizaban los puntos de vertido de aguas residuales urbanas de mayor caudal y donde se realizan la mayor parte de los dragados portuarios. Estas zonas aún reciben en la actualidad los vertidos esporádicos de “tormenta” liberados a la Bahía durante los períodos en los que se supera la capacidad de carga de la red de saneamiento. Estas zonas están caracterizadas por albergar comunidades bentónicas, en su mayoría empobrecidas por el grado de contaminación de las aguas y de los sedimentos y por la perturbaciones mecánicas (dragados) a las que se ven sometidas (Puente *et al.*, 2002). Las alteraciones antropogénicas producidas y la elevada heterogeneidad espacial del sedimento determinan la presencia de numerosas variantes de las comunidades asentadas (Lastra, 1991). Así mismo, se puede señalar que los poliquetos son el grupo más abundante en la mayor parte de los ambientes, siendo frecuentes, los fenómenos de dominancia de estas especies.

En cuanto a las características hidrodinámicas existentes en ambas zonas, los estudios realizados han dejado evidencia de una alta hidrodinámica en la desembocadura que aumenta hacia la zona de la canal de navegación. Los principales factores generadores de dicha hidrodinámica son las ondas de marea (Castillejo *et al.* 1984), seguidas por el oleaje y las descargas fluviales. Así, por ejemplo, en el interior de la Bahía, la carrera de marea media se sitúa en 3 metros aproximadamente, llegando a un máximo de 4,75 m. El caudal medio de agua que fluye a través de la bocana de la Bahía en el periodo comprendido entre la bajamar y la pleamar es de 4000 m³/s, con máximos de 5500 m³/s

(FLTQ, 1990). Las velocidades de corriente más destacadas en el interior de la Bahía, las generadas con marea saliente, corresponden a zonas cercanas a la isla de la Horadada, llegando a alcanzar una velocidad máxima de 92 cm/s en condiciones favorables de viento y marea viva.

La segunda zona establecida engloba la margen derecha de la Bahía, donde se localizan amplias extensiones de páramos intermareales y submareales. Esta zona apenas recibe el aporte directo de las aguas residuales de Santander y se ve, al igual que las zonas del frente urbano y canal, ampliamente influenciada por los procesos mareales y por la desembocadura del río Miera. En esta zona habitan las comunidades infaunales de mayor biodiversidad y menor grado de perturbación (Puente *et al.*, 2002; Juanes *et al.*, 2004).

Por último, la zona de las rías está caracterizada por presentar bajas tasas de renovación de las aguas que, junto con la presencia de puntos de vertido de efluentes urbanos e industriales (alivios), que todavía no han sido conectados a la red de saneamiento (Figura 3.1), favorecen la contaminación de las aguas y de los fondos sedimentarios. En esta zonas, los fondos fangosos muestran altos contenidos en materia orgánica y contaminantes químicos (Viguri *et al.*, 2002; García-Castrillo *et al.*, 2003) que se han ido acumulando, a lo largo de los años. Estos fondos van a estar colonizados por comunidades biológicas muy poco diversificadas, con presencia dominante de poliquetos de la familia Nereidae y del bivalvo *Scrobicularia plana* (Juanes *et al.*, 2004) dando una idea del grado de perturbación al que están sometidos.

3.3.2. ANÁLISIS DEL ESTADO TRÓFICO DE LAS AGUAS ESTUARINAS

El estudio del estado de las aguas estuarinas se centró en el análisis de la evolución espacial y temporal de las variables analizadas y en la identificación de las fuentes de variación asociadas a los cambios en el estado trófico de las aguas. Para ello, el estudio contempló el análisis de las aguas del estuario antes y después del cese de los vertidos.

Diseño de muestreo

A lo largo de los 28 meses que duró el estudio, se llevaron a cabo siete campañas que incluyeron la toma de muestras en 11 estaciones, repartidas en tres zonas de la Bahía afectadas directamente por antiguos vertidos incontrolados y los actuales alivios de tormenta del saneamiento (Figura 3.13), tal y como se indica a continuación:

Frente urbano: estaciones P14, P16 y P17

Rías: estaciones P10 y P12

Canal: estaciones P3, P4, P6, P8, P28 y P31

La primera de las campañas efectuadas se realizó dos meses antes del cese de los vertidos, en la primavera de 2001. Una vez cesaron los vertidos se llevaron a cabo seis campañas consecutivas durante el verano de 2001 y la primaveras y veranos de 2002 y 2003.

En cada campaña se realizaron mediciones de las siguientes variables: salinidad, temperatura, pH, oxígeno disuelto, clorofila “a”, nutrientes (NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ y PO_4^{3-}), sólidos en suspensión, turbidez y aceites y grasas.

La cuantificación de dichas variables se realizó mediante la utilización de medidas en continuo, a lo largo perfiles verticales, y a partir de muestras discretas recogida a dos profundidades (superficie y fondo), aplicando los mismos procedimientos de toma de muestra, almacenamiento y conservación indicados anteriormente en el estudio del entorno costero (apartado. 3.2.2).

Procesado y análisis de las muestras

Las metodologías aplicables a la determinación de las diferentes variables fueron las mismas que las indicadas en el apartado 3.2.2.

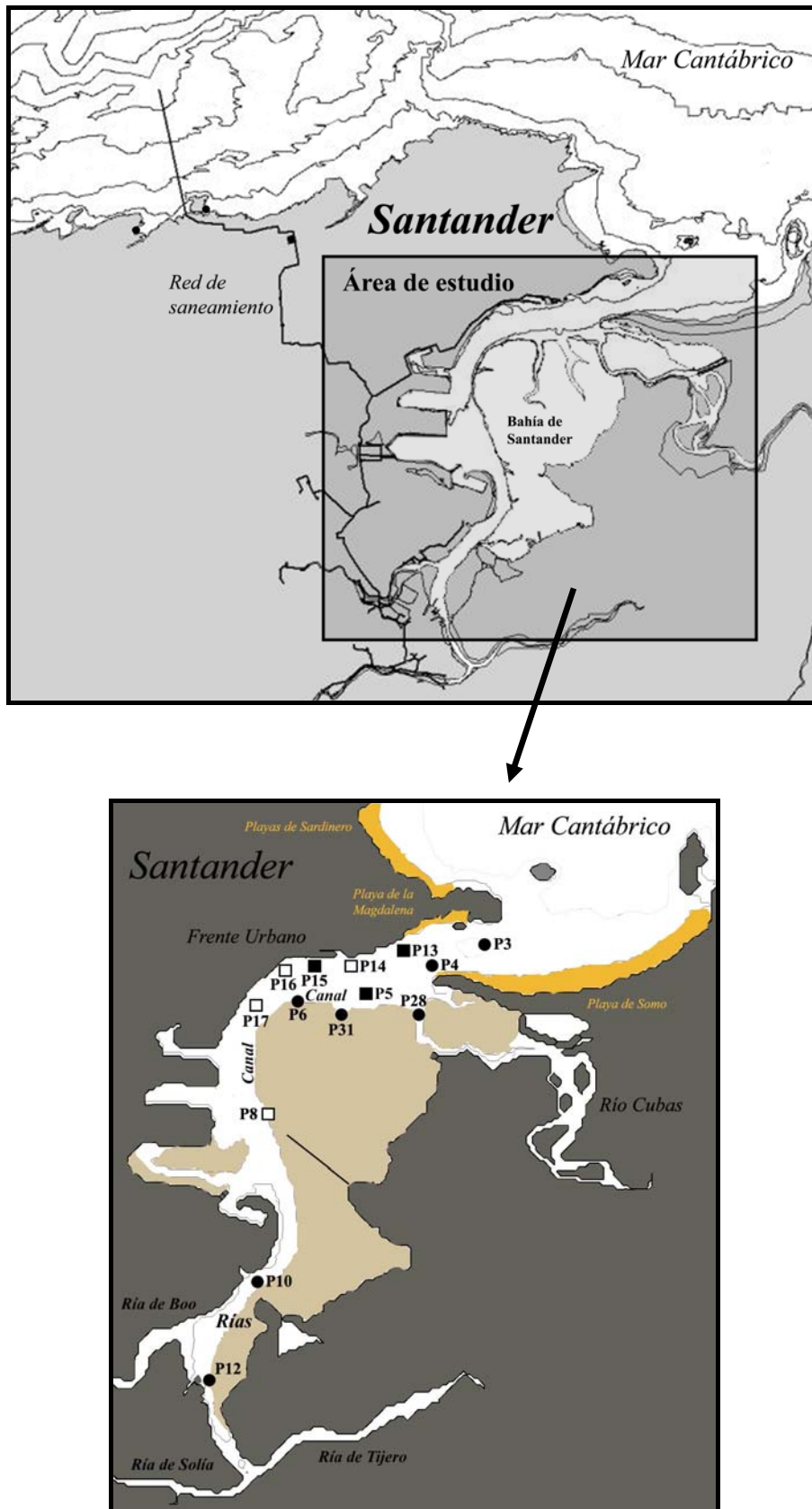


Figura 3.13. Localización del área de estudio (Bahía de Santander) y distribución de las estaciones de muestreo de agua, sedimento y comunidades bentónicas. Estaciones de agua (●), estaciones de sedimento y bentos (■) y estaciones de agua, sedimento y comunidades bentónicas (□).

Análisis de los datos

El tratamiento de los datos relativos al estado trófico del agua en la Bahía de Santander partió del análisis de los parámetros estadísticos descriptivos de cada una de las variables (media, desviación típica y valores máximos y mínimos) agrupadas a nivel de todo el estuario o segregadas por zonas, para cada una de las campañas.

Posteriormente, el estudio de la evolución de las condiciones tróficas de las aguas en la Bahía de Santander se realizó mediante la aplicación de un análisis de Componentes Principales (ACP), empleando como medida de asociación las correlaciones entre los pares de variables. La matriz de cálculo estuvo conformada por los datos promediados en profundidad de las 11 variables sin transformar obtenidos en cada una de las 8 estaciones analizadas (77 casos).

Una vez definidas las coordenadas (*factor coordinates*) correspondientes a cada uno de los 77 casos referentes a cada uno de los factores predefinidos, se calcularon los valores medios de dichos coeficientes por estación, zona y campaña, que sirvieron, así mismo, para su representación espacial en los planos factoriales (I-II y I-III).

Los ACP se calcularon mediante el programa estadístico STATISTICA y las representaciones gráficas se realizaron empleando el programa Sigmaplot[®].

3.3.3. ANÁLISIS DE LA CALIDAD BACTERIOLÓGICA DE LAS AGUAS DE BAÑO DE LA BAHÍA

El análisis de la influencia del saneamiento sobre la calidad bacteriológica de las playas antes y después del cese de los vertidos continuos a la Bahía se llevó a cabo a partir de los registros obtenidos en dos estudios específicos realizados en las playas durante los años 1998 (Delgado *et al.*, 2000) y 2006 (López *et al.*, 2006).

Diseño del estudio

De acuerdo con el objetivo planteado en este estudio, se seleccionaron tres playas situadas en el entorno de la Bahía de Santander: los Peligros, Biquinis y el Sardinero (1^a). Las dos primeras se localizan en la zona de la bocana del estuario y se vieron directamente afectadas por los vertidos incontrolados producidos en el interior de la

Bahía hasta la entrada en servicio del saneamiento integral, mientras que la tercera se sitúa en su parte exterior (abra), zona en la que se retiraron todos los vertidos directos a finales de los años ochenta.

A partir de los diferentes análisis llevados a cabo en los dos estudios de referencia en las playas escogidas, se tomaron aquellos registros correspondientes al único indicador bacteriológico que se midió de forma común en ambos trabajos, los coliformes fecales.

La toma de muestras para la determinación de esta variable en ambos estudios se realizó en los mismos puntos o estaciones de muestreo (3 estaciones, 1 por playa; Figura 3.14) durante las temporadas de baño de 1998 y 2006. En 1998 se recogieron 3 muestras semanales (41 muestras) mientras que en 2006, la toma de muestras se realizó con una frecuencia semanal (16-17 muestras).

Con el fin de reducir al máximo la variabilidad provocada por la evolución diaria de las concentraciones de los contaminantes bacteriológicos en las aguas de baño, se optó por seleccionar, en ambos estudios, aquellos registros que habían sido tomados durante la misma franja horaria, aquella comprendida entre las 8:00 y 9:00 de la mañana. Las muestras se tomaron a 30 cm por debajo de la superficie en una zona donde la profundidad fue superior a 1 metro. Tanto el transporte como la conservación de las muestras se llevó a cabo en condiciones de refrigeración y oscuridad.

Procesado y análisis de las variables

En ambos estudios se determinó la concentración de coliformes fecales (UFC/100 ml) mediante la técnica de filtración por membrana (NORMA ISO 9308: 1990), siguiendo los procedimientos y especificaciones técnicas propuestas en la Directiva de aguas de baño (76/160/CEE).



Figura 3.14. Localización de las playas y puntos de muestreo donde se efectuaron los dos estudios de la calidad bacteriológica (1998 y 2006). (Foto cortesía de Google[®], 2005, modificada por autor).

Análisis de los datos

La determinación del efecto causado por la entrada en servicio del saneamiento sobre la calidad bacteriológica de las aguas de baño se efectuó mediante la comparación de los registros de los coliformes fecales obtenidos en el estudio realizado en 1998 (antes del cese de los vertidos) con los obtenidos en el 2006 (tras el cese de los mismos). En un primer término se compararon los parámetros estadísticos descriptivos de las concentraciones de este indicador bacteriológico obtenidos en ambos estudios. Para examinar el grado de significación de las diferencias establecidas entre las concentraciones en las aguas de baño a lo largo del tiempo (1998-2006) se ejecutó un análisis de la varianza (ANOVA) de una vía con los registros de cada una de las playas seleccionadas. Antes del análisis, los datos fueron transformados a $\log_{10}(x)$, para cumplir el criterio de normalidad (test de K-S). Del mismo modo, se comprobó la homogeneidad de varianzas (Test de Levene).

Con el objeto de precisar, en los términos establecidos en la propia Normativa de aguas de baño, las posibles diferencias temporales en cada playa, se calculó el número y porcentaje de incumplimientos de los Criterios Guía (100 UFC/100 ml) e Imperativo (2000 UFC/100 ml) de coliformes fecales (CF) establecidos en la Directiva 76/160/CEE, a partir de los resultados obtenidos en ambos estudios.

3.3.4. ANÁLISIS DE LA CALIDAD DE LOS SEDIMENTOS ESTUARINOS

Diseño de muestreo

El análisis de la calidad de los sedimentos tras el cese de los vertidos continuos a la Bahía se llevó a cabo en dos de las cuatro zonas preestablecidas por Puente *et al.* (2002): el frente urbano, y la canal (Figura 3.13). El diseño de muestreo planteado fue de tipo antes-después en zona impactada (Roberts, 1996), incluyendo una malla de muestreo con 7 estaciones en las que se recogieron sedimentos en tres campañas de muestreo, una antes del cese de los vertidos (primavera del 2001) y dos tras la interrupción de los mismos (primaveras de 2002 y 2003), tal y como se indica a continuación:

Frente urbano: estaciones P14, P15, P16 y P17. **Canal:** estaciones P5, P8 y P13

El muestreo del sedimento se llevó a cabo desde el barco oceanográfico José Rioja, del Instituto Español de Oceanografía, empleando una draga tipo Box-corer realizada en acero inoxidable, que cuenta con una superficie de muestreo de 170 cm² y 15 cm de clavado (Figura 3.15). La muestra de sedimento obtenida en cada estación se almacenó en bolsas de plástico herméticas, para posteriormente ser congeladas a -18° C hasta su procesado.

La caracterización de los sedimentos se efectuó mediante la determinación de las siguientes variables: distribución granulométrica, redox (*in situ*), materia orgánica (%), nitrógeno y fósforo total, y metales pesados (As, Cd, Cu, Cr total, Fe, Mn, Hg, Ni, Pb y Zn).

Procesado y análisis de las muestras

Antes de llevar a cabo el análisis de las muestras, éstas fueron descongeladas al aire y secadas en horno a 105° C durante 24 h. Una vez secas las variables se determinaron siguiendo los procedimientos establecidos en la Tabla 3.6. Dado el alto porcentaje de finos de los sedimentos, el estudio de la distribución granulométrica se realizó mediante una técnica de gravimetría en húmedo, siguiendo un método modificado a partir de la propuesta de Buchanan (1984). Para ello, en primer lugar, se tamizó una cantidad

determinada de muestra seca a través de un tamiz de 0,063 mm con el fin de eliminar la fracción fina. Después, la fracción restante fue secada a 105° C y nuevamente tamizada. La diferencia entre el peso inicial y el final fue considerada como la fracción fina eliminada (<0,063 mm).

El nitrógeno total se analizó realizando una volumetría ácido-base, según el método del Ministerio de Agricultura para suelos, empleando ácidos sulfúrico y salicílico como reactivos y sulfato potásico, de cobre y selenio como mezcla catalítica. El fósforo total fue analizado siguiendo el método automatizado de reducción con ácido ascórbico. Por último, la determinación de los metales pesados se realizó siguiendo los procedimientos establecidos en la Tabla 3.6.

Análisis de los datos

El estudio de la evolución de los sedimentos de la Bahía se desarrolló, en primer término, mediante el análisis de los parámetros descriptivos de cada una de las variables analizadas en las dos zonas preestablecidas (frente urbano y canal) a lo largo de las tres campañas efectuadas. Dado que no existe ninguna Normativa en la que se establezcan criterios de calidad para valorar los sedimentos, se ha optado por comparar los valores obtenidos con los niveles de acción (NAI y NAII) propuestos por el CEDEX en la recomendación para la caracterización de los materiales de dragado. Dichos niveles, extraídos a partir de los criterios adoptados por OSPAR (1998) establecen los umbrales por encima de los cuales se pueden producir efectos nocivos (NAI) o adversos (NAII) para los organismos. Así mismo, las concentraciones de nitrógeno total y fósforo total obtenidas en los sedimentos fueron comparadas con las concentraciones planteadas en el sistema de valoración de los sedimentos portuarios (nitrógeno Kjeldahl (NTK) y fósforo total (PT)) establecido por el IFREMER (Grall *et al.*, 2003).

En segundo término se efectuó un análisis multivariante con las variables analizadas en el sedimento en cada una de las estaciones, zonas y campañas. Para ello se aplicó un análisis de componentes principales (ACP) sobre la matriz de datos sin transformar. El ACP ejecutado se realizó empleando como medida de asociación las correlaciones entre los pares de variables analizadas. Los ACP se calcularon mediante el paquete estadístico STATISTICA y las representaciones gráficas se realizaron empleando el programa SigmaPlot[®].

Variables	Tipo fracción	Unidades	Técnica	Método	Pretratamiento	Límite de detección	Tipo sensor/ instrumento
Granulometría	Total	%	G				Balanza de precisión Sartorius BL 150S
Redox	Total	eV	P				Electrodo Redox Hanna 9023 C
Materia orgánica	Total	%	G				Horno mufla Hobersal HK-11
Nitrógeno total	Total	mg/kg	V	N. ISO. R 937	N. ISO. R 937	$5 \cdot 10^{-5}$ mg/kg	
Fósforo total	Total	mg/kg	E	APHA 4500-P F	EPA SW 3052	$1 \cdot 10^{-6}$ mg/kg	Espectr. UV visible Hatch
Cd, Cu, Cr, Fe, Mn, Ni, Pb, As y Zn	<63 μ m	mg/kg	E	EPA 6020	EPA SW 3052	0,002 mg/kg	Espectr. Mas. A. Inductivo MS-ICP 7500/G3155A
Hg	<63 μ m	mg/kg	E	APHA 3112 B	EPA SW 3052	0,001 mg/kg	Espectr. Abs. Atómica Perkin-Elmer 5100 PC

Tabla 3.6. Características analíticas de los métodos empleados para la determinación de las diferentes variables analizadas en los sedimentos: tipo de fracción, unidades de medida, técnica (G-gravimetría, P- potenciometría, V-volumetría y E-espectrofotometría), método analítico, pretratamiento, límite de detección del método y el tipo de sensor o instrumento de medida empleado así como la marca del mismo (Espectr. Mas. A. Inductivo: espectrofotómetro de masas con acoplamiento inductivo, Espectr. Abs. Atómica: espectrofotómetro de absorción atómica).

3.3.5. ESTUDIO DE LAS COMUNIDADES BENTÓNICAS DE FONDO BLANDO

Diseño de muestreo

El estudio cuantitativo de la evolución de las comunidades bentónicas en las dos zonas preestablecidas se realizó utilizando la misma malla de muestreo y periodicidad que las establecidas en el apartado 3.3.4. En este caso, se tomaron dos submuestras de 170cm², cada una, cuyo contenido se mezclaba para la estimación de la abundancia y biomasa de la macrofauna presente (Figura 3.15).

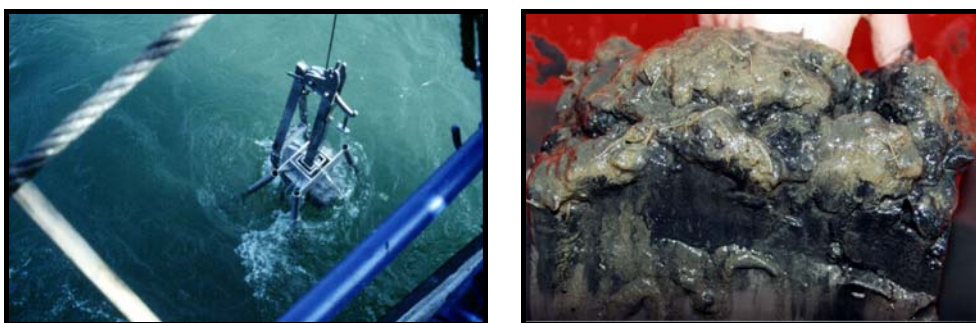


Figura 3.15. Draga Box-Corer utilizada para la toma de muestras e imagen de una de las réplicas extraídas.

Una vez recogidas, las muestras fueron cribadas a bordo, empleando tamices de acero inoxidable 1 mm de luz de malla. El material retenido se guardó en recipientes de polipropileno de 500 ml y se fijó con formaldehído al 10%. Tras ser fijadas, las muestras se conservaron en etanol al 70%. Una vez en el laboratorio, se procedió al triado del material recogido con la ayuda de un microscopio estereoscópico (KIOWA SZM-P), separando los organismos en los principales grupos presentes para facilitar su posterior determinación taxonómica y cuantificación.

La identificación de las especies se realizó con un microscopio OLYMPUS BH empleando las claves de identificación taxonómica especificadas en el apartado bibliográfico de esta tesis. Los criterios taxonómicos adoptados siguieron la clasificación propuesta por las escuelas inglesa y francesa. La cuantificación de la abundancia se estimó en nº individuos/estación y la biomasa de las especies macrofaunales presentes en g PFE/estación (PFE= peso fresco escurrido).

Análisis de los datos

El análisis de la evolución de las comunidades infaunales estuarinas anteriormente afectadas por los vertidos continuos contempló la realización de una serie de análisis estadísticos univariantes y multivariantes que se resumen en la Figura 3.16. En primer término, se procedió a la caracterización de las comunidades asentadas en la zona del frente urbano y la canal antes y después del inicio de los vertidos, mediante el empleo de análisis univariantes a nivel de especie (Figura 3.16). De este modo se calcularon la riqueza, la abundancia (nº individuos/estación), la biomasa de especies (g PFE/estación), la diversidad de Shannon, la equitatividad de Pielou y la dominancia de Simpson en cada una de las estaciones muestreadas a lo largo de las campañas, de acuerdo con las especificaciones del apartado 3.2.6. Además se emplearon gráficos de distribución o curvas ABC (Abundance-Biomass Comparison method). La comparación entre las curvas de abundancia y biomasa de especies en las zonas preestablecidas en el diseño de muestreo (canal, frente urbano) antes y después del cese de los vertidos, dio una idea del grado de perturbación de las comunidades obtenido a partir de la distribución de las abundancias y biomasa entre las distintas especies (especies estrategias de la K o conservativas de gran tamaño y baja capacidad reproductiva; o bien entre los estrategias de la R u oportunistas de pequeño tamaño y gran capacidad reproductiva) (Clarke & Warwick, 1994). En tercer lugar, se procedió a la definición de las especies que contribuyeron en mayor medida a diferenciar las comunidades que colonizan las distintas zonas antes y después del inicio de los vertidos en cada una de las zonas preestablecidas. Este estudio se realizó mediante la aplicación de análisis SIMPER (Figura 3.16).

Por otra parte, se realizaron análisis multidimensionales de agregación para tratar de establecer el grado de similaridad entre las comunidades asentadas en cada estación a lo largo del tiempo. Para ello se emplearon técnicas de clasificación (dendrogramas) y de ordenación (MDS) a partir de las matrices de abundancia y biomasa sin estandarizar, previamente transformadas a raíz cuarta ($\sqrt[4]{x}$). El coeficiente de similaridad aplicado en el cálculo de la matriz de partida fue el de Bray-Curtis.

Tratando de comprobar la similitud entre las agrupaciones establecidas en los MDS calculados a partir de la abundancia y biomasa de especies se estableció un análisis de correlación de Spearman por rangos (ρ) entre las matrices de similaridad. El nivel de

significación de la correlación se determinó usando el procedimiento de permutaciones denominado RELATE (Clarke & Warwick, 1994)

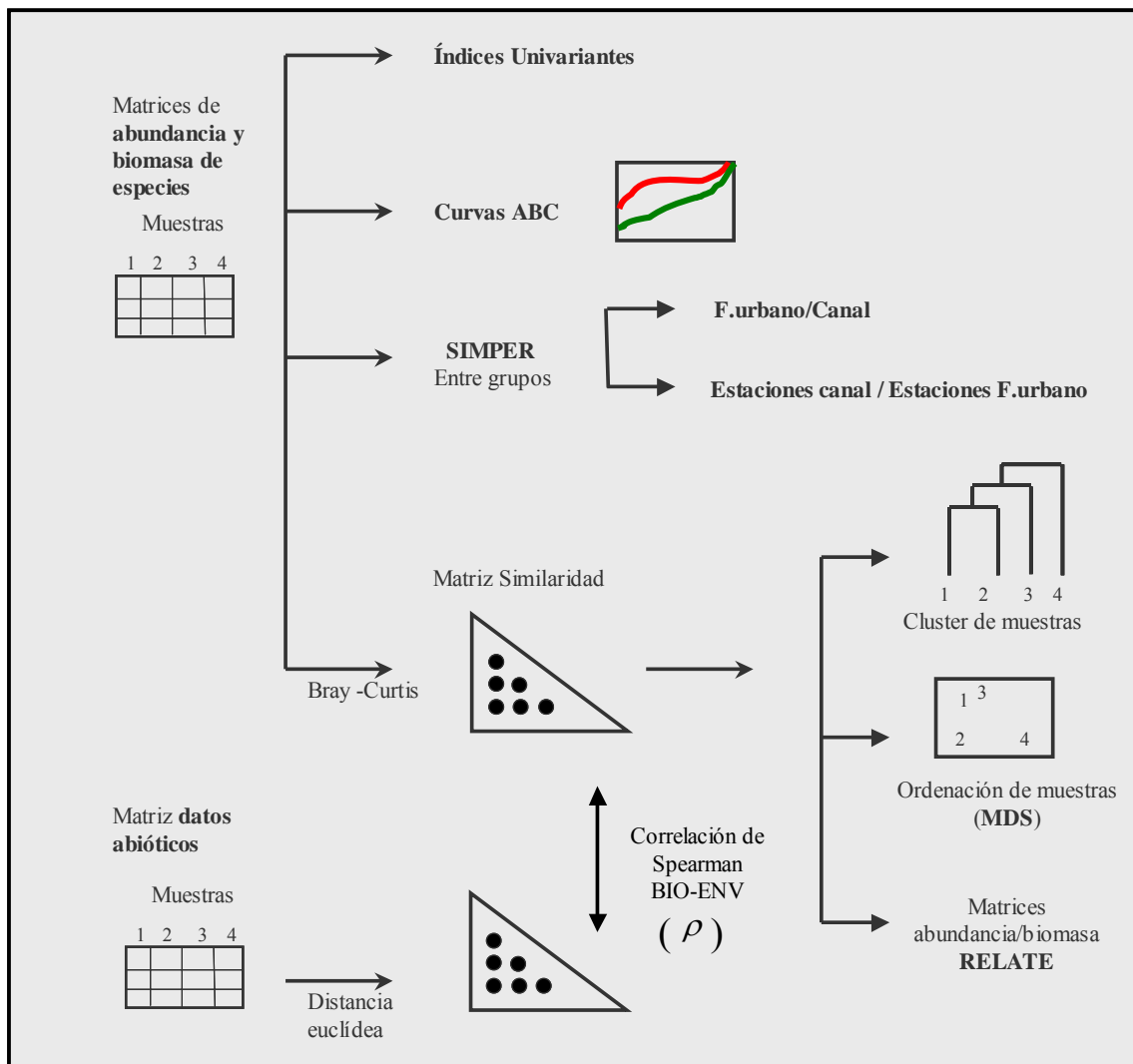


Figura 3.16. Esquema del tratamiento estadístico aplicado a los datos de bentos de la Bahía de Santander.

Por último, se analizaron las relaciones entre las variables ambientales del sedimento y las comunidades bentónicas asentadas, mediante el procedimiento BIO-ENV (Tabla 3.16). Este análisis permite seleccionar la combinación de variables ambientales capaces de maximizar las correlaciones entre las matrices de (dis)similaridad bióticas (abundancia y biomasa) y abióticas. El análisis se efectuó según el rango de correlaciones de Spearman (ρ). Las matrices de similaridad bióticas se calcularon previa transformación en \sqrt{x} mediante el coeficiente de Bray-Curtis. Del mismo modo, la matriz de similaridad abiótica se computó previa transformación en \sqrt{x} mediante el cálculo de la distancia euclídea normalizada.