

SEGUNDA PARTE

PARAMETROS FISICO-QUIMICOS: ALCALINIDAD

DEFINIMOS ALCALINIDAD COMO la capacidad del agua para neutralizar ácidos o aceptar protones. Esta representa la suma de la bases que pueden ser tituladas en una muestra de agua. Dado que la alcalinidad de aguas superficiales está determinada generalmente por el contenido de carbonatos, bicarbonatos e hidróxidos, ésta se toma como un indicador de dichas especies iónicas. No obstante, algunas sales de ácidos débiles como boratos, silicatos, nitratos y fosfatos pueden también contribuir a la alcalinidad de estar también presentes. Estos iones negativos en solución están comúnmente asociados o pareados con iones positivos de calcio, magnesio, potasio, sodio y otros cationes. El bicarbonato constituye la forma química de mayor contribución a la alcalinidad. Dicha especie iónica y el hidróxido son particularmente importantes cuando hay gran actividad fotosintética de algas o cuando hay descargas industriales en un cuerpo de agua.

La alcalinidad, no sólo representa el principal sistema amortiguador del agua dulce, sino que también desempeña un rol principal en la productividad de cuerpos de agua naturales, sirviendo como una fuente de reserva para la fotosíntesis. Históricamente, la alcalinidad ha sido utilizada como un indicador de la productividad de lagos, donde niveles de alcalinidad altos indicarían una productividad alta y viceversa (Tabla 1).

Dicha correlación se debe en parte a que la disponibilidad del carbono es mayor en lagos alcalinos y también al hecho de que las rocas sedimentarias que contienen carbonatos, a menudo contienen también concentraciones relativamente altas de nitrógeno y fósforo

(en comparación con el granito, otras rocas ígneas y regiones donde el lecho rocoso ha sido desgastado y lavado, los cuales generalmente contienen bajas concentraciones de estos dos nutrientes limitantes y del CaCO_3).

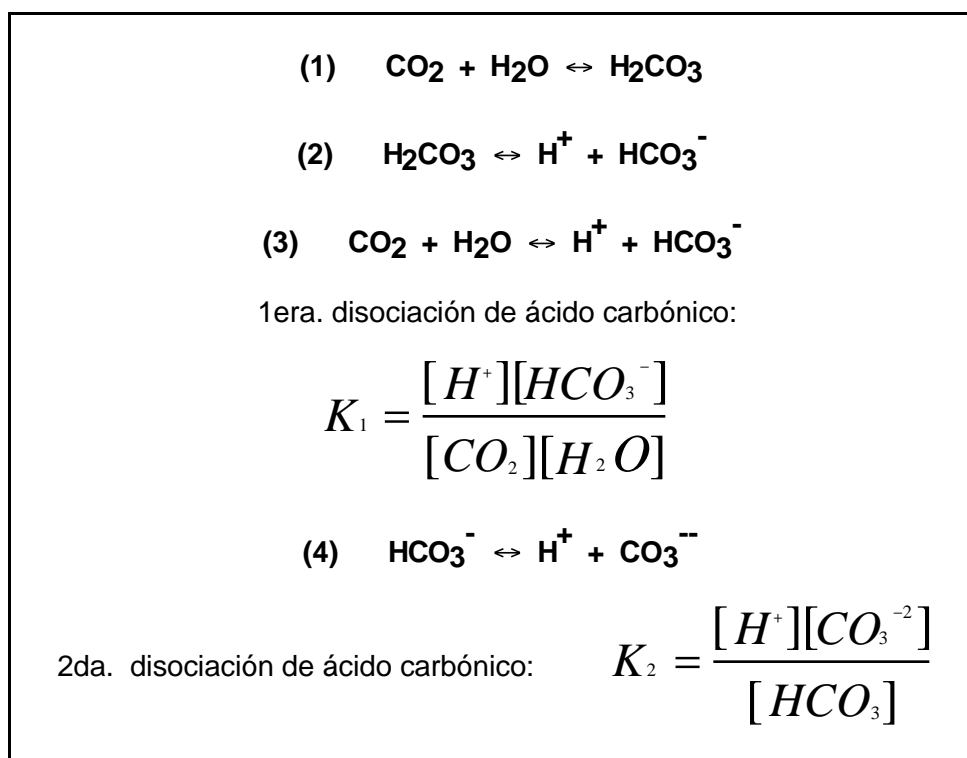
Tabla 1: Rangos de alcalinidad.

RANGO	ALCALINIDAD (mg/L CaCO_3)
BAJA	< 75
MEDIA	75 - 150
ALTA	> 150

* Datos tomados de Kevern (1989).

El sistema de alcalinidad tiene interacciones importantes con los procesos de fotosíntesis y respiración celular. Veamos en primer término las reacciones de equilibrio que describen la interacción de CO_2 y H_2O (Figura 1).

Figura 1: Equilibrio que describen la interacción de CO_2 y H_2O .



Dado que la concentración de ácido carbónico (H_2CO_3) es generalmente baja, las primeras dos ecuaciones se combinan para formar el equilibrio descrito en la ecuación

#3. Determinando los valores de las constantes de disociación K_1 y K_2 (las cuales varían con la temperatura y el pH), podemos calcular las concentraciones relativas de los componentes de estas ecuaciones de equilibrio. La figura 2 y la tabla 2 ilustran cómo el por ciento de composición de dichos componentes varía con el pH.

Figura 2: Efecto del pH en el por ciento de composición de especies de bióxido de carbono en agua.

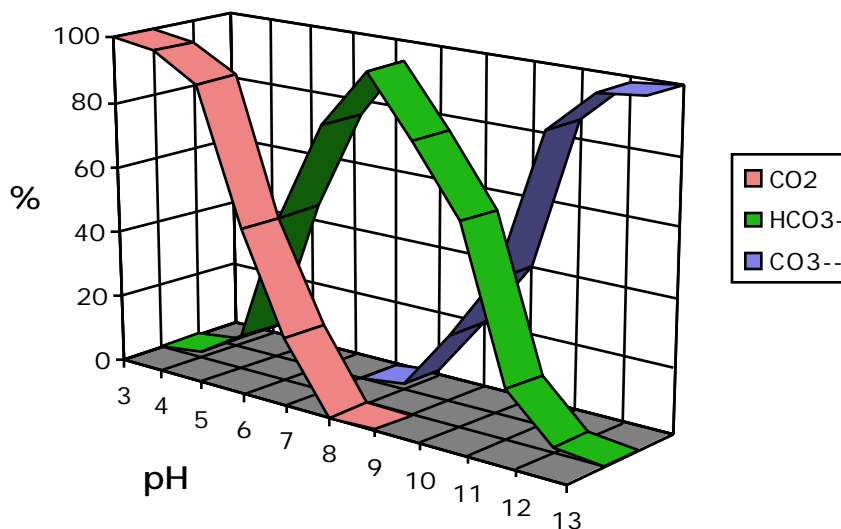


Tabla 2: Efecto del pH en las proporciones de especies iónicas de bióxido de carbono en agua.

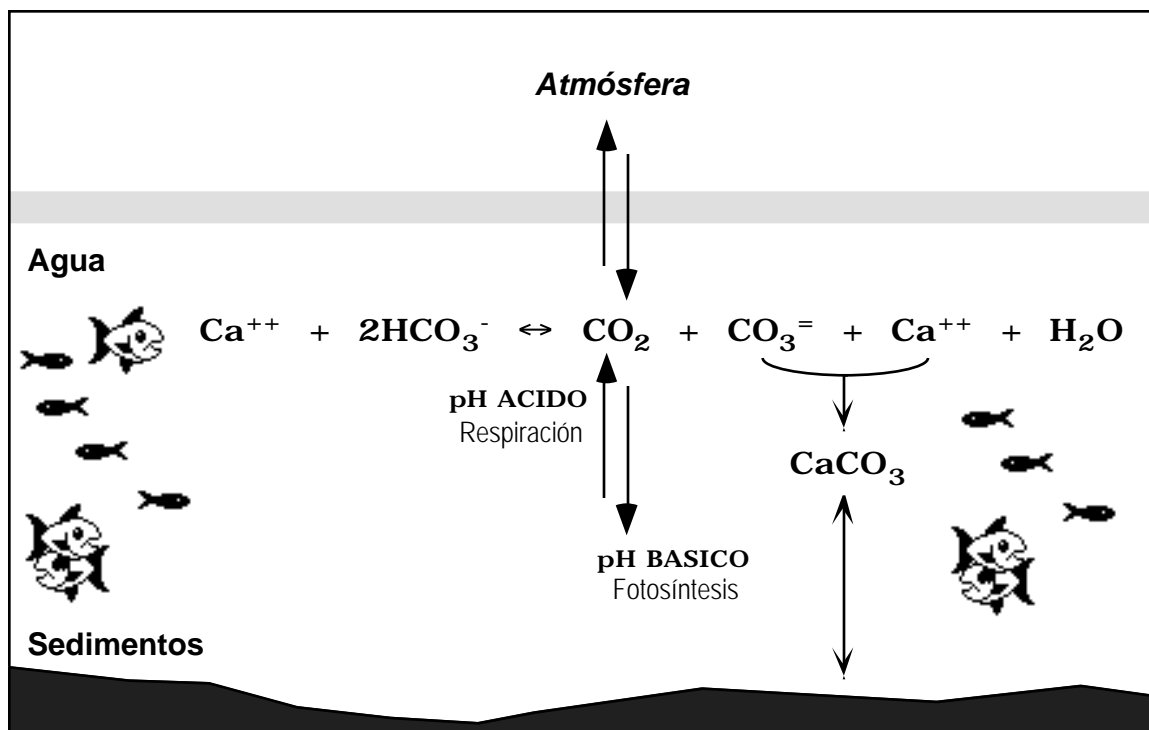
pH	CO ₂	HCO ₃ ⁻	CO ₃ ²⁻
4	0.996	0.004	1.25 x 10 ⁻⁹
5	0.962	0.038	1.20 x 10 ⁻⁷
6	0.725	0.275	9.1 x 10 ⁻⁵
7	0.208	0.792	2.6 x 10 ⁻⁴
8	0.025	0.972	3.2 x 10 ⁻³
9	0.003	0.966	0.031
10	0.000	0.757	0.243

* Datos tomados de Hutchinson (1957).

Es evidente que las proporciones de las especies iónicas de bióxido de carbono son alteradas significativamente por cambios en pH. A un pH < 6, **CO₂** es la especie

dominante. A valores de pH entre 7 y 9, HCO_3^- predomina, mientras que CO_3^{2-} comienza a aumentar su concentración significativamente a valores de pH > 9. El sistema de alcalinidad tiene interacciones importantes con los procesos de fotosíntesis y respiración. Dichas interacciones se ilustran en la figura 3 donde aparecen combinadas la primera y segunda disociaciones de ácido carbónico.

Figura 3: Efecto de procesos metabólicos en la alcalinidad.



Durante el proceso de fotosíntesis se consume CO_2 desplazándose el equilibrio descrito en la figura 3 hacia la derecha, causando a su vez que el pH aumente. El aumento en pH se debe a que la baja en concentración de CO_2 libre ocasiona a su vez una disminución en la concentración del ión hidronio (H^+) y por ende un aumento en pH. Dicho efecto lo podemos apreciar al analizar las reacciones de equilibrio que describen la interacción de CO_2 y H_2O (Figura 1: ecuaciones 1 - 3). Si las concentraciones de CO_2 libres disminuyen, entonces disminuyen también las concentraciones de H^+ como lo establece la ecuación #3 y la constante de disociación K_1 . En adición, si el equilibrio descrito en la figura 2 se desplaza hacia la derecha durante periodos intensos de fotosíntesis, entonces la concentración de carbonatos debe aumentar causando que la concentración de H^+ disminuya de acuerdo con la ecuación #4 (Figura 1) y la constante de disociación K_2 .

Según el CO_2 es incorporado a fotosintetatos, su concentración en agua puede ser restituida por difusión molecular de CO_2 atmosférico al agua o puede ser repuesto por el

sistema de alcalinidad a través de la disociación de bicarbonato (ecuación #1). En aguas con alta productividad, el proceso fotosintético puede agotar los niveles de CO₂ libre, a tal punto que el crecimiento de plantas acuáticas se ve limitado y el pH puede alcanzar valores mayores de 9 ó 10.

Por otro lado, los procesos de respiración aerobia y anaerobia generan CO₂, el cual, dependiendo de su concentración, puede desplazar el equilibrio descrito en la ecuación #1 hacia la izquierda, causando que el pH disminuya.

La actividad fotosintética puede redundar en la precipitación de carbonato de calcio (CaCO₃), si la concentración de carbonato aumenta lo suficiente como para exceder la constante de solubilidad de carbonato de calcio (K_{sp} a 25°C = $10^{-8.35}$). Esa es una situación muy común en lagos de alta productividad con una alta alcalinidad, donde se puede observar una cubierta blancuzca sobre la superficie de estructuras vegetales y sobre el sedimento. Cuando la actividad del proceso de respiración excede la actividad fotosintética (se produce CO₂ por respiración aerobia y anaerobia) disminuye la concentración de carbonato a tal punto que los depósitos de carbonato de calcio se disuelven en el agua.

El CaCO₃ puede ser producido también por procesos abióticos en lagos que reciben afluentes de manantiales con una alcalinidad alta, supersaturados con CO₂. Una vez el afluente entra al lago, el CO₂ se libera a la atmósfera (ecuación #1). El equilibrio se desplaza hacia la derecha, aumentando así la concentración de carbonato, a tal punto que excede el K_{sp} de CaCO₃ y se precipita. Dichos lagos se caracterizan por presentar gránulos blancos finos suspendidos en la columna de agua, los cuales pueden causar turbidez en el agua.

Origen de carbonatos y bicarbonatos en agua dulce:

Los carbonatos y bicarbonatos presentes en cuerpos naturales de agua dulce se originan generalmente del desgaste y disolución de rocas en la cuenca que contienen carbonatos tales como la piedra caliza. A pesar de que la piedra caliza no es muy soluble en agua pura, su disolución es promovida por la presencia de CO₂ disuelto en el agua (CO₂ atmosférico o CO₂ generado en sedimentos ricos en materia orgánica). El CO₂ reacciona con el agua para generar pequeñas cantidades de ácido carbónico, el cual disuelve entonces las rocas de carbonato en la cuenca, lo que a su vez contribuye a la alcalinidad del agua (Figuras 4 y 5).

Figura 4:

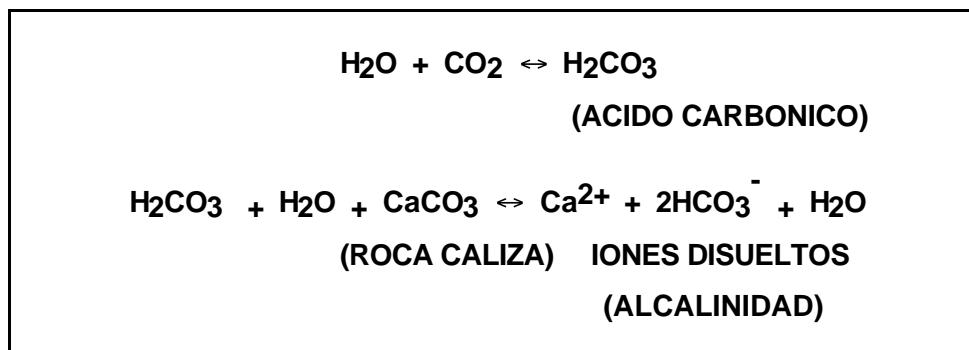
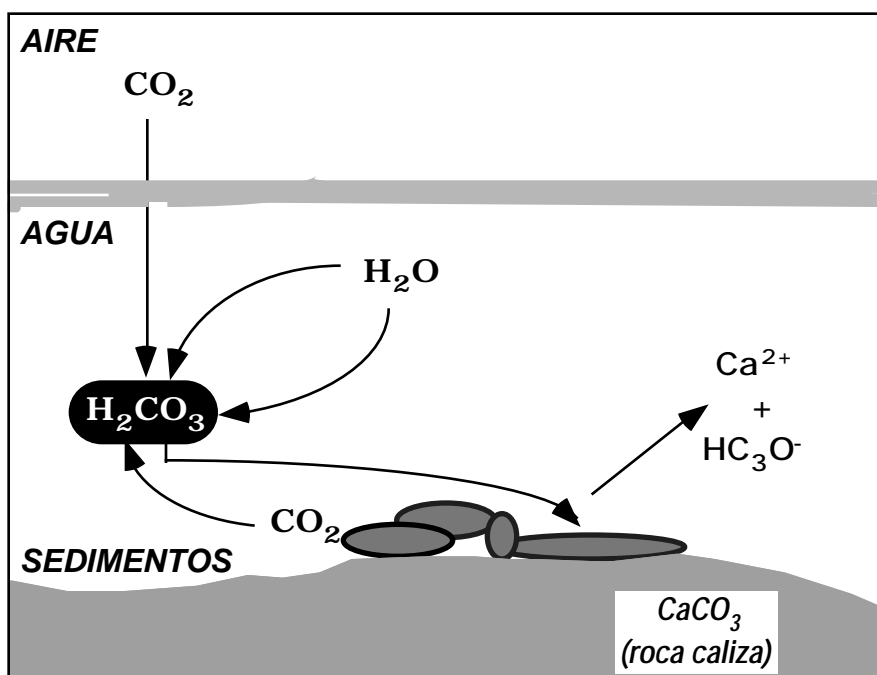


Figura 5: Origen de bicarbonato y carbonato en agua dulce.

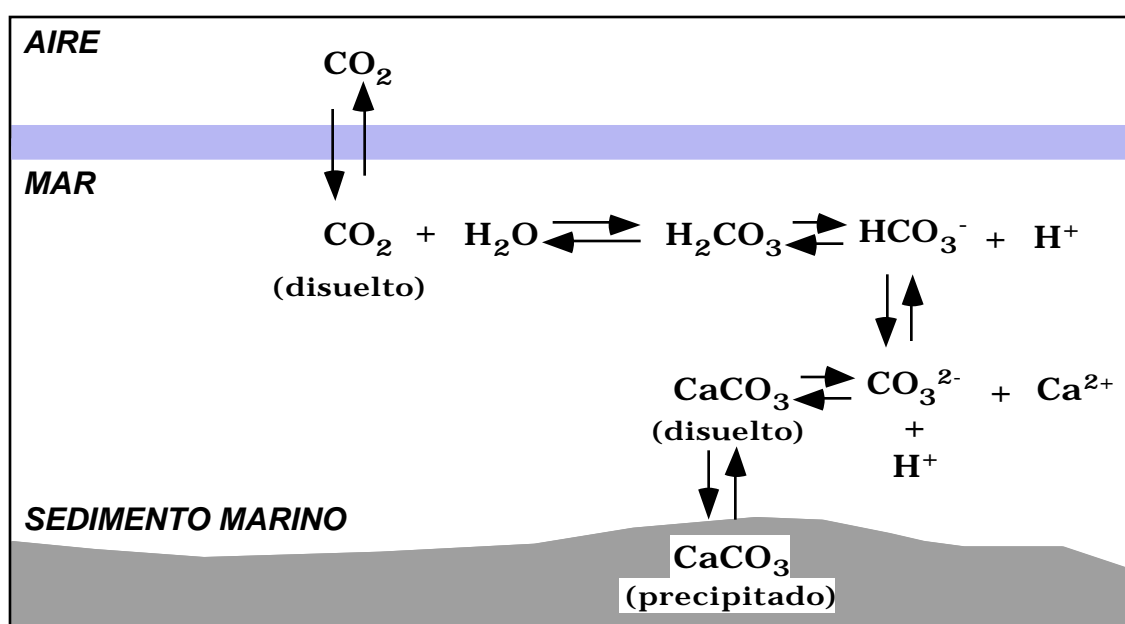


Lagos ubicados en regiones donde abunda la roca caliza presentan una alcalinidad alta, al igual que una capacidad amortiguadora alta. En regiones donde el lecho rocoso está compuesto mayormente de granito y otras rocas ígneas pobres en carbonatos, generalmente encontramos lagos y corrientes con una alcalinidad baja y una pobre capacidad amortiguadora. Dichos cuerpos de agua son a menudo más susceptibles al impacto de la lluvia ácida. Otras zonas donde encontramos lagos y corrientes con baja alcalinidad son áreas que reciben una precipitación abundante. En dichas áreas la mayoría de los carbonatos expuestos y disponibles se han disueltos y han sido lavados a lo largo del tiempo.

Origen de carbonatos y bicarbonatos en agua de mar:

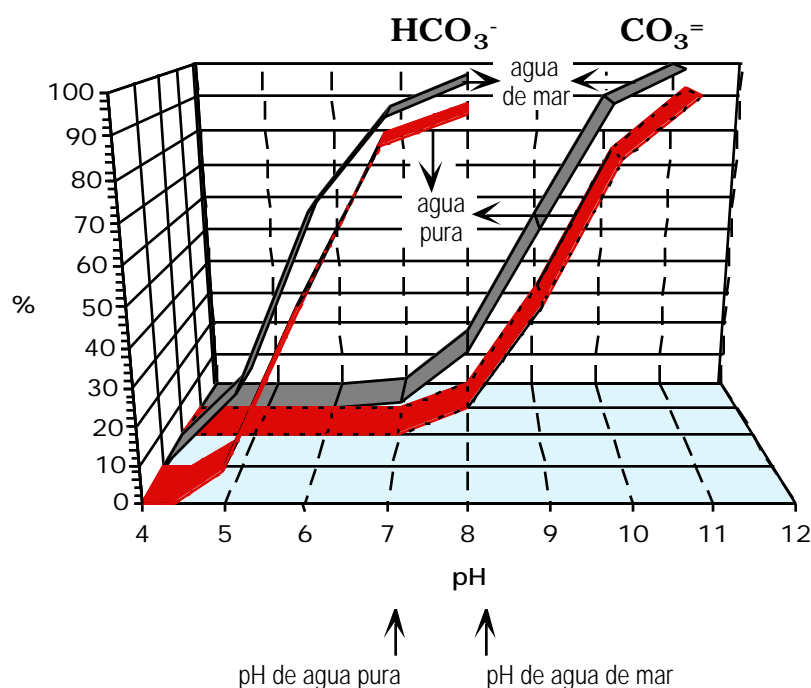
El CO_2 atmosférico se difunde al agua de mar, combinándose químicamente con el agua para producir el ión de bicarbonato y un ión de hidronio, tal y como ocurre en agua dulce (Figura 6). El bicarbonato se disocia para producir carbonato e hidronio. El carbonato se combina con calcio para producir carbonato de calcio. Este último se puede precipitar depositándose en el lecho marino, removiendo así CO_2 del agua de mar. Sí el pH del agua de mar baja significativamente, dichas reacciones pueden revertir hacia la formación de CO_2 .

Figura 6: Origen de bicarbonato y carbonato en el ambiente marino.



El efecto del pH sobre el por ciento de composición de las especies de carbono que integran el sistema de alcalinidad, es básicamente el mismo para agua dulce y para agua salada. No obstante, se observa una diferencia pequeña, aunque consistente, entre el patrón de curvas para agua dulce y el de agua salada (Figura 7). Observamos que el por ciento de composición de bicarbonato o carbonato, a un pH dado, es mayor en el agua salada que en agua dulce. El grado de disolución de un ión en una solución donde hay iones comunes a éste es menor al que se observa en agua pura (efecto del ión común). En este caso, el grado de disolución de un ión que no es común (bicarbonato) a los presentes en la solución (agua de mar), es mayor al que se observa en agua pura (efecto salino o efecto del ión no-común) (Petrucci, 1989). La explicación para este fenómeno es que según aumenta la concentración iónica total de una solución, las atracciones interiónicas cobran mayor importancia, promoviendo éstas la solubilidad de sales no comunes en la solución.

Figura 7: Perfil típico de pH en cuerpos de agua dulce y agua salada.

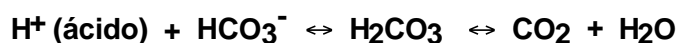


È La solubilidad de CO_2 (gas) es afectada ligeramente por cambios en salinidad y en pH. No obstante, dado que el CO_2 puede reaccionar con agua para formar bicarbonato y dado que el bicarbonato es no-volátil y muy soluble en agua, la cantidad de material potencialmente convertible a CO_2 es afectada significativamente por cambios en pH y en salinidad.

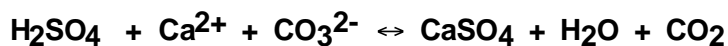
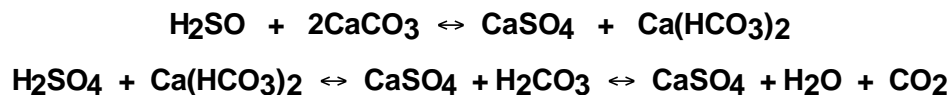
Mecanismo de amortiguación de pH del sistema de alcalinidad:

En los rangos de pH de cuerpos de agua naturales no contaminados (agua dulce pH = 7.0; agua de mar pH = 8.1) el sistema de alcalinidad actúa de la siguiente forma:

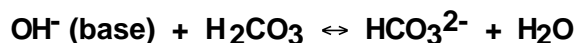
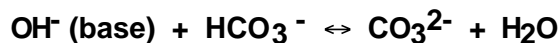
- Si añadimos un ácido, este es neutralizado de acuerdo a las siguientes reacciones:



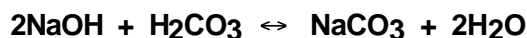
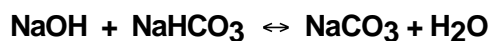
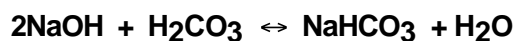
Ejemplo: Si añadimos ácido sulfúrico al agua, este será neutralizado de acuerdo a la siguiente reacción:



- Sí añadimos base, esta será neutralizada de acuerdo a las siguientes reacciones:



Ejemplo: Si añadimos hidróxido de sodio (NaOH) al agua, éste será neutralizado de acuerdo a la siguiente reacción:



Es conveniente recordar que la capacidad amortiguadora del sistema de alcalinidad tiene sus límites. Una vez la entrada de ácido o base sobrepasa las concentraciones de bicarbonato, el sistema de alcalinidad no puede absorber el exceso de ácido o base.

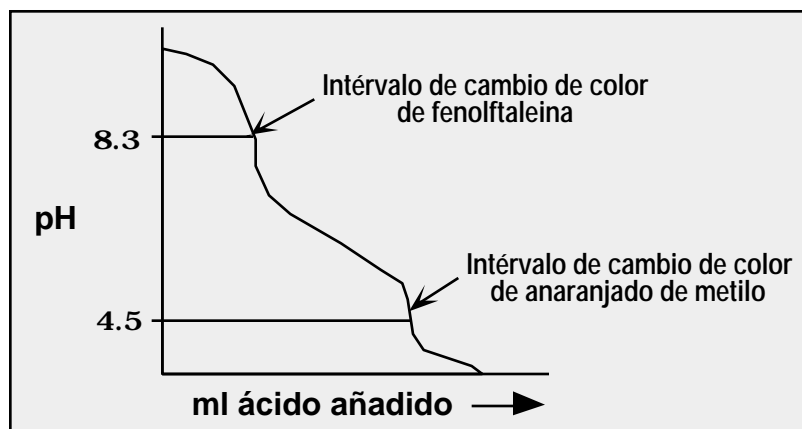
Aplicación:

En adición a servir como un indicador de la productividad de cuerpos de agua naturales, el valor de alcalinidad es utilizado en la interpretación y control del tratamiento de aguas claras y aguas usadas. Aguas usadas crudas de origen doméstico tienen una alcalinidad menor de o ligeramente mayor que el suministro de agua potable. El sobrenadante de digestores anaerobios que funcionan adecuadamente presentan valores de alcalinidad en el rango de 2000 a 4000 mg de carbonato de calcio (CaCO_3)/L. Por otro lado, valores de alcalinidad en exceso sobre las concentraciones de metales alcalino-terreos (Be, Mg, Ca, Sr, Ba y Ra) son importantes para determinar si un abasto o fuente de agua puede ser utilizado para irrigación de suelos.

Conceptos teóricos de la metodología utilizada para medir alcalinidad:

La alcalinidad se expresa como alcalinidad de fenolftaleína o alcalinidad total. Ambas formas se determinan por titulación con ácido sulfúrico. Un cambio de color por un indicador da el punto final. También se puede detectar con un metro de pH. La titulación se hace en dos fases: *alcalinidad de fenolftaleína* (titulamos la muestra hasta un pH de 8.3) y *alcalinidad total* (titulamos la muestra hasta un pH de 4.5 utilizando anaranjado de metilo, bromocresol verde o una mezcla de bromocresol verde y rojo metilo como indicador) (Figura 8).

Figura 8: Titulación de agua para determinar alcalinidad de fenolftaleína y alcalinidad total.



- ✓ Según añadimos ácido, se produce una caída gradual en el pH hasta llegar a 8.5. A partir de ese punto se observa una caída rápida en el pH con una inflexión pobremente definida alrededor del punto de equivalencia de **8.3**. En este punto la mayor parte del CO_3^{2-} se ha convertido a HCO_3^- y el color de la fenolftaleína cambia de rosado a incoloro.
- ✓ Con la adición de más ácido se produce una disminución gradual del pH, hasta que llegamos a otro punto de inflexión alrededor del pH **4.5**. Este punto corresponde a la conversión de la mayor parte del HCO_3^- a H_2CO_3 y CO_2 . Aquí el color del indicador anaranjado de metilo cambia de amarillo a rosa salmón.

Los resultados obtenidos de las determinaciones de alcalinidad de fenolftaleína y alcalinidad total proveen un método para la clasificación estequiométrica de las tres principales formas de alcalinidad presentes en aguas superficiales (bicarbonato, carbonato e hidróxido), asumiendo la ausencia de ácidos débiles inorgánicos u orgánicos (ej. silicio, fosfórico y bórico). Dicha clasificación también presupone la incompatibilidad entre la alcalinidad de hidróxidos y la alcalinidad de bicarbonato. Dado que los cálculos

están basados en una relación estequiométrica, los resultados de alcalinidad no representan concentraciones reales de iones, particularmente cuando el pH es mayor de 10 ($\text{pH} > 10$). El esquema de clasificación establece que:

- i. **La alcalinidad de carbonato (CO_3^{2-})** está presente cuando la alcalinidad de fenolftaleína no es cero, pero es menor que la alcalinidad total [$\text{T} > \text{P} \neq 0$].
- ii. **La alcalinidad de hidróxidos (OH^-)** está presente si la alcalinidad de fenolftaleína es mayor que la mitad de la alcalinidad total [$\text{P} > 1/2 \text{T}$].
- iii. **La alcalinidad de bicarbonato (HCO_3^-)** esta presente si la alcalinidad de fenolftaleína es menor de la mitad de la alcalinidad total [$\text{P} < 1/2 \text{T}$].

Estas relaciones pueden ser calculadas utilizando el siguiente esquema:

Dado que: **P = alcalinidad de fenolftaleína**
T = alcalinidad total

- a. Seleccione el valor más pequeño entre (**P**) y (**T - P**). Entonces la **alcalinidad de carbonato (CO_3^{2-})** será igual a dos veces el valor más pequeño.
- b. Cuando el valor más pequeño es **P**, el balance (**T - 2P**) es **bicarbonato**.
- c. Cuando el valor más pequeño es (**T - P**), el balance (**2P - T**) es **hidróxido**.

Todos los resultados se expresan como CaCO_3 (mg/L). La conversión matemática de los resultados se ilustra en la Tabla 3.

Tabla 3 : Relaciones de alcalinidad.

RESULTADOS DE LA TITULACION	ALCALINIDAD DE HIDROXIDO (CaCO_3)	ALCALINIDAD DE CARBONATO (CaCO_3)	CONCENTRACION DE BICARBONATO (CaCO_3)
$\text{P} = 0$	0	0	T
$\text{P} < 1/2 \text{T}$	0	2P	$\text{T} - 2\text{P}$
$\text{P} = 1/2 \text{T}$	0	2P	0
$\text{P} > 1/2 \text{T}$	$2\text{P} - \text{T}$	$2(\text{T} - \text{P})$	0
$\text{P} = \text{T}$	T	0	0

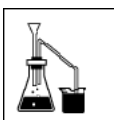
P = alcalinidad de fenolftaleína (mg/L) CaCO_3

T = alcalinidad total (mg/L CaCO_3

* Tomado del APHA (1992).

Los cálculos descritos en la Tabla 2 están basados en las siguientes premisas:

- La fenolftaleína presenta un color rosado sólo si OH^- y/o CO_3^{2-} están presentes.
- El rojo-anaranjado presenta un color amarillo sólo si HCO_3^- está presente.
- Durante la titulación con el ácido, cualquier CO_3^{2-} presente se convierte primero a HCO_3^- .
- La alcalinidad de fenolftaleína mide todo el hidróxido presente y la mitad (1/2) de la alcalinidad producida por carbonato (CO_3^{2-}).
- La alcalinidad de rojo-metilo mide la alcalinidad de bicarbonato inicial y la mitad del carbonato, de estar éste presente.



METODOLOGIA

PROCEDIMIENTO A SEGUIR

ALCALINIDAD:

HACH WATER ANALYSIS HANDBOOK



PREGUNTAS...

1. ¿Si usted fuera daltónico, cómo determinarían los puntos de equivalencia en la prueba de alcalinidad?
2. ¿Cuál debe ser el pH de agua acabada de destilar? ¿Cómo cambiaría el pH del agua una vez se expone al aire?
3. ¿Qué le sucede al pH del agua cuando se está llevando a cabo un proceso de fotosíntesis vigoroso? ¿Por qué?
4. ¿Qué le sucede al pH del agua cuando se está llevando a cabo un proceso de respiración vigoroso? ¿Por qué?
5. ¿Si usted calienta una muestra de agua, cómo se afectará el pH del agua? ¿Por qué?
6. ¿Qué importancia tiene el sistema amortiguador carbonato-bicarbonato para cuerpos de agua naturales?

SEGUNDA PARTE

PARAMETROS FISICO-QUIMICOS: CONDUCTIVIDAD

LA CONDUCTIVIDAD, **k**, es una medida de la capacidad de una solución acuosa para transmitir una corriente eléctrica y es igual al recíproco de la resistividad de la solución. Dicha capacidad depende de la presencia de iones; de su concentración, movilidad y valencia, y de la temperatura ambiental. Las soluciones de la mayoría de los compuestos inorgánicos (ej. aniones de cloruro, nitrato, sulfato y fosfato) son relativamente buenos conductores. Por el contrario, moléculas de compuestos orgánicos que no se disocian en soluciones acuosas (ej. aceites, fenoles, alcoholes y azúcares) son pobres conductores de una corriente eléctrica. La conductancia (**G**, recíproco de resistencia **R**) de una solución se mide utilizando dos electrodos químicamente inertes y fijos espacialmente. La conductancia de una solución es directamente proporcional al área superficial del electrodo **A**, (cm^2), e inversamente proporcional a distancia entre los electrodos **L**, (cm). La constante de proporcionalidad, **k** (conductividad) es una propiedad característica de la solución localizada entre dos electrodos.

$$G = k \frac{A}{L}$$

Las unidades de **k** son 1/ohm-cm ó mho/cm. La conductividad se reporta generalmente en micromhos/cm (**µmho/cm**). En el Sistema Internacional de Unidades (SI), el recíproco del ohm es el **siemens (S)** y la conductividad se reporta en milisiemens/metro (**mS/m**).

Utilice las siguientes expresiones de conversión, para cambiar de un sistema de medidas al otro:

$$1 \text{ mS/m} = 10 \text{ µmhos/cm}$$

$$1 \text{ µS/cm} = 1 \text{ µmhos/cm}$$

$$0.1 \text{ mS/m} = 1 \text{ µmhos/cm}$$

- Para convertir **µmhos/cm** a **mS/m** divida por 10.

El **agua destilada** en el laboratorio tiene una conductividad en el rango de: **0.5 a 3 µmhos/cm**. Cuando medimos la conductividad de una muestra de agua, ésta aumenta poco después de exponerse al aire y luego de entrar en contacto con el envase utilizado para tomar la muestra. La conductividad puede relacionarse a:

- la pureza química del agua (mientras más pura es el agua, menor es la concentración de electrolitos en el agua y por ende, mayor es la resistencia del medio a la transmisión de una corriente eléctrica).
- la cantidad de sólidos disueltos en una solución y a la eficiencia de procesos de tratamiento de agua.
- la concentración de sales en una salmuera o salar.
- la concentración de sólidos disueltos (mg/L), multiplicando la conductividad (µhoms/cm) por un factor empírico.

La conductividad del **agua potable** en los Estados Unidos oscila entre **50 y 1500 µmhos/cm**. La conductividad de aguas usadas de origen doméstico puede tener valores muy cerca de los valores que presentan las fuentes de aguas locales. No obstante, algunas descargas industriales tienen valores de conductividad de alrededor de 10,000 µmhos.

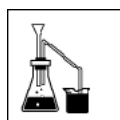
La determinación de la conductividad se realiza midiendo la resistencia eléctrica en un área de la solución definida por el diseño de la sonda ("probe"). Se aplica un voltaje entre los dos electrodos que integran la sonda y que están inmersos en la solución. La caída en voltaje causada por la resistencia de la solución es utilizada para calcular la conductividad por centímetro. El flujo de electrones entre los electrodos en una solución de electrolitos varía con la temperatura de la solución. A mayor temperatura mayor es el

flujo entre los electrodos y viceversa. Se ha sugerido el uso de un factor de compensación de 0.2 (2%) por cada aumento en temperatura de un 1°C. Cuando medimos conductividad en el campo es importante compensar por las diferencias en temperatura entre las diferentes estaciones de muestreo (Tabla 1). Algunos metros de conductividad realizan un ajuste automático por la temperatura que presenta el medio acuoso (ej. metro de Conductividad y Sólidos Disueltos-Hach), mientras otros requieren que se determine primero la temperatura del medio acuoso para luego realizar un ajuste manual compensatorio por la diferencia en temperatura (ej. metro de Salinidad y Conductividad-YSI).

Tabla 1: Factores para convertir conductividad específica del agua a valores relativos a 25°C.

°C	FACTOR DE CONVERSION	°C	FACTOR DE CONVERSION	°C	FACTOR DE CONVERSION
3	1.62	13	1.27	23	1.04
4	1.58	14	1.24	24	1.02
5	1.54	15	1.21	25	1.00
6	1.50	16	1.19	26	0.98
7	1.46	17	1.16	27	0.97
8	1.42	18	1.14	28	0.95
9	1.39	19	1.12	29	0.93
10	1.36	20	1.10	30	0.92
11	1.33	21	1.08	31	0.90
12	1.30	22	1.06	32	0.89

* Datos tomados de Wetzel y Likens, 1990.



METODOLOGIA

PROCEDIMIENTO A SEGUIR

CONDUCTIVIDAD:

METRO DE CONDUCTIVIDAD Y TDS - HACH
Hach Water Analysis Handbook

METRO DE CONDUCTIVIDAD

SEGUNDA PARTE

PARAMETROS FISICO-QUIMICOS: LUZ

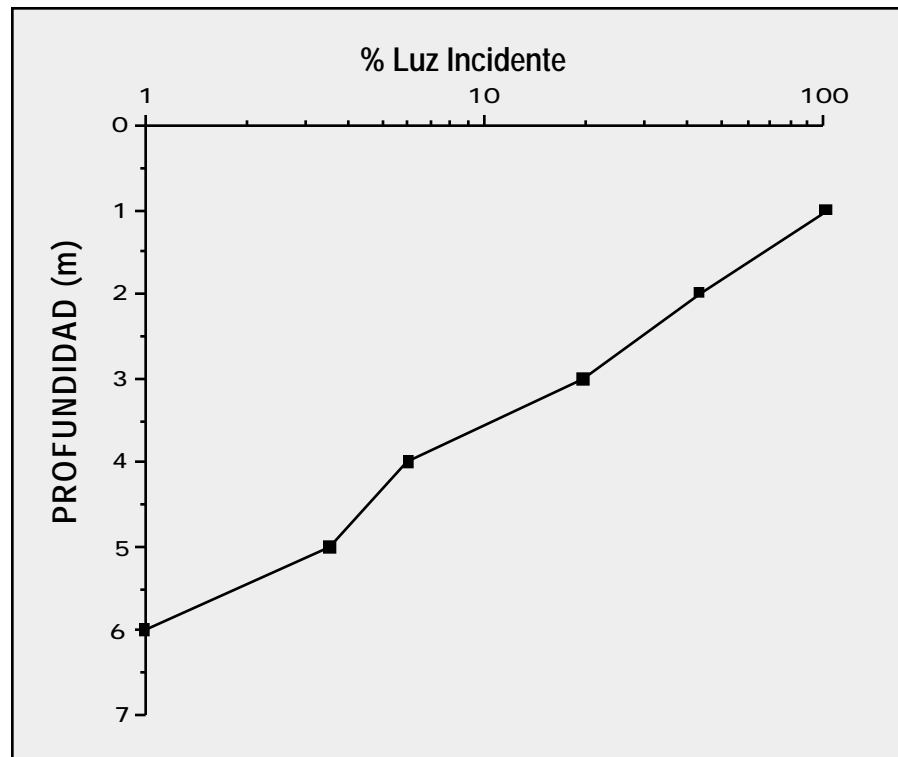
LA RADIACION SOLAR provee la energía necesaria para el proceso de fotosíntesis, es la principal fuente de calor en cuerpos de agua naturales y genera el calor que controla los patrones de viento en el planeta. El componente de calor asociado a la radiación solar es discutido en la unidad de: Temperatura. Discutiremos aquí el componente de iluminación.

Es de interés para el ecólogo determinar cuánta radiación incide sobre un cuerpo acuático, cuánto penetra esa radiación en el agua y por último cómo es utilizada esa radiación o cómo afecta los organismos acuáticos. La cantidad de luz que incide sobre la atmósfera de nuestro planeta, un valor conocido como la constante solar, se ha establecido en **1.94 calorías/ cm²/minuto** (Cole, 1983). Asumiendo que toda esa energía estuviera disponible para los fototrofos en nuestro planeta y que el proceso de fotosíntesis fuera 100% eficiente, se producirían alrededor de 325 toneladas de materia vegetal por km² de superficie terrestre cada hora (Cole, 1983). Obviamente las bases que sostienen esta premisa no se cumplen. La eficiencia del proceso de conversión de energía radiante a energía atrapada en enlaces químicos mediante fotosíntesis es de 1%. Por otro lado, la energía asociada a los rayos solares se reduce considerablemente según estos penetran la atmósfera. La luz solar es dispersada, reflejada y absorbida por moléculas de bióxido de carbono, ozono y agua. En adición, la porción de luz que incide sobre un cuerpo de agua no logra penetrar completamente la superficie del agua, ya que una parte de la luz incidente es reflejada inmediatamente. La cantidad de luz

reflejada en la superficie depende del ángulo de incidencia de la radiación solar, la magnitud de los vientos que barren la superficie del agua (una superficie con ondulaciones suaves permite una mayor entrada de luz que una superficie con ondulaciones frecuentes y grandes) y del por ciento de cobertura de nubes.

El grado de penetración de la luz en agua está determinado por el tipo y cantidad de materia suspendida y materia disuelta en el agua. Las medidas de la cantidad de luz disponible a través de la columna de agua son importantes para identificar las zonas capaces de sostener actividad fotosintética. De igual forma dichas medidas son importantes para poder simular las condiciones de iluminación natural en el laboratorio.

Figura 1: Perfil de penetración de luz a través de la columna de agua. Las profundidades descritas en la gráfica son usadas como ejemplo. El perfil de penetración vertical de la luz incidente siempre refleja una reducción exponencial. No obstante, la profundidad máxima a la que se puede registrar el 1% de la luz incidente varía de un cuerpo de agua a otro.



La región en la columna de agua donde desaparece el 99% de la luz que incide sobre la superficie se llama la zona eufótica (zona fótica). La profundidad de la zona eufótica cambia a través del día y es diferente de un cuerpo de agua a otro. La intensidad mínima

de luz que permite que proceda el proceso de fotosíntesis ha sido establecida en cerca de 1% de la luz que incide sobre la superficie. La profundidad a la que se alcanza ese 1% de la luz incidente se conoce con el nombre de **profundidad de compensación**. A esa profundidad, la actividad fotosintética y la actividad respiratoria se encuentra en equilibrio. Debajo de esa profundidad la productividad primaria se considera nula, ya que la razón de actividad fotosintética a consumo de materia orgánica por heterotrofos es significativamente menor de uno ($F/R \ll 1$). Sin embargo, se han observado excepciones en comunidades de algas adaptadas a la sombra y que llevan a cabo fotosíntesis debajo de la nieve y hielo en Alaska y Suecia, lagos donde la intensidad lumínica está por debajo de 1% de la luz ambiental (Cole, 1983; Hobbie 1964).

El perfil de penetración de la luz en un cuerpo acuático está ilustrado en la Figura 1. Dicho perfil nos revela que según la radiación solar penetra la columna de agua, ésta desaparece exponencialmente. La pendiente de esta curva variará para cada cuerpo de agua dependiendo de la cantidad de materia particulada en suspensión y de la materia disuelta.

Si analizamos el patrón de absorción de la luz incidente observamos un espectro de absorción diferencial de los diferentes largos de onda que componen el espectro de la luz visible (Figuras 2a y 2b). Para aguas transparentes generalmente encontramos que la radiación con mayor poder de penetración presenta largos dentro de la región azul, mientras que la radiación con mayor largo de onda (rojo) se absorbe rápidamente en los primeros 5 metros de profundidad. Este patrón de absorción diferencial puede variar con la presencia de sustancias que le imparten color al agua (ej. "Gelbstoff") y por los sólidos suspendidos. El "Gelbstoff" es una sustancia húmica, soluble, de color amarillo, derivada de carbohidratos. Esta sustancia absorbe luz visible en la región que cubre los largos de onda cortos (violeta, azul) al igual que los sólidos suspendidos. Por consiguiente, la presencia de estos componentes en el agua afecta no solo el color de agua, sino también la intensidad y el tipo de radiación disponible para la fotosíntesis. En aguas donde se observan cantidades apreciables de materia particulada y materia orgánica disuelta, se registra una disminución significativa en la transmitancia de la luz a lo largo de la columna y una reducción mayor en la penetración de los largos de onda **cortos** que en los largos de onda **largos**.

ESPECTRO ELECTROMAGNETICO: Relación entre color y largo de onda.

REGION (nm)	COLOR TRANSMITIDO
< 380	ultravioleta
380 - 435	violeta
435 - 480	azul
480 - 490	verde - azul
490 - 500	azul - verde
500 - 560	verde
560 - 580	amarillo - verde
580 - 595	amarillo
595 - 650	anaranjado
650 - 780	rojo
780 - 2500	infrarrojo

Figura 2a: Perfil vertical de absorción diferencial de los componentes de la luz visible en agua.

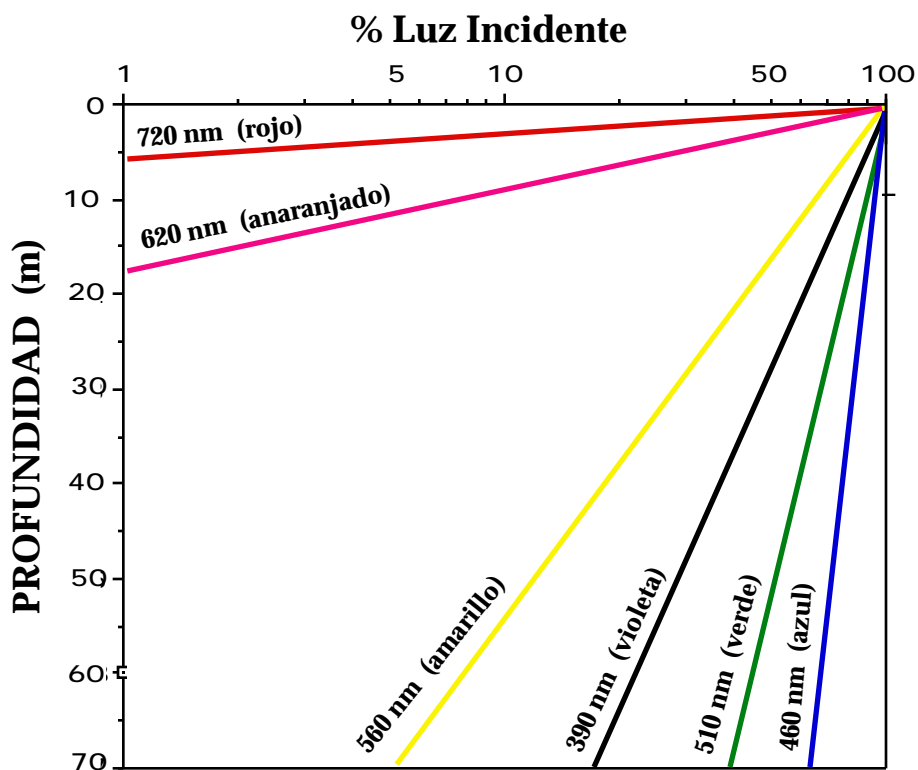
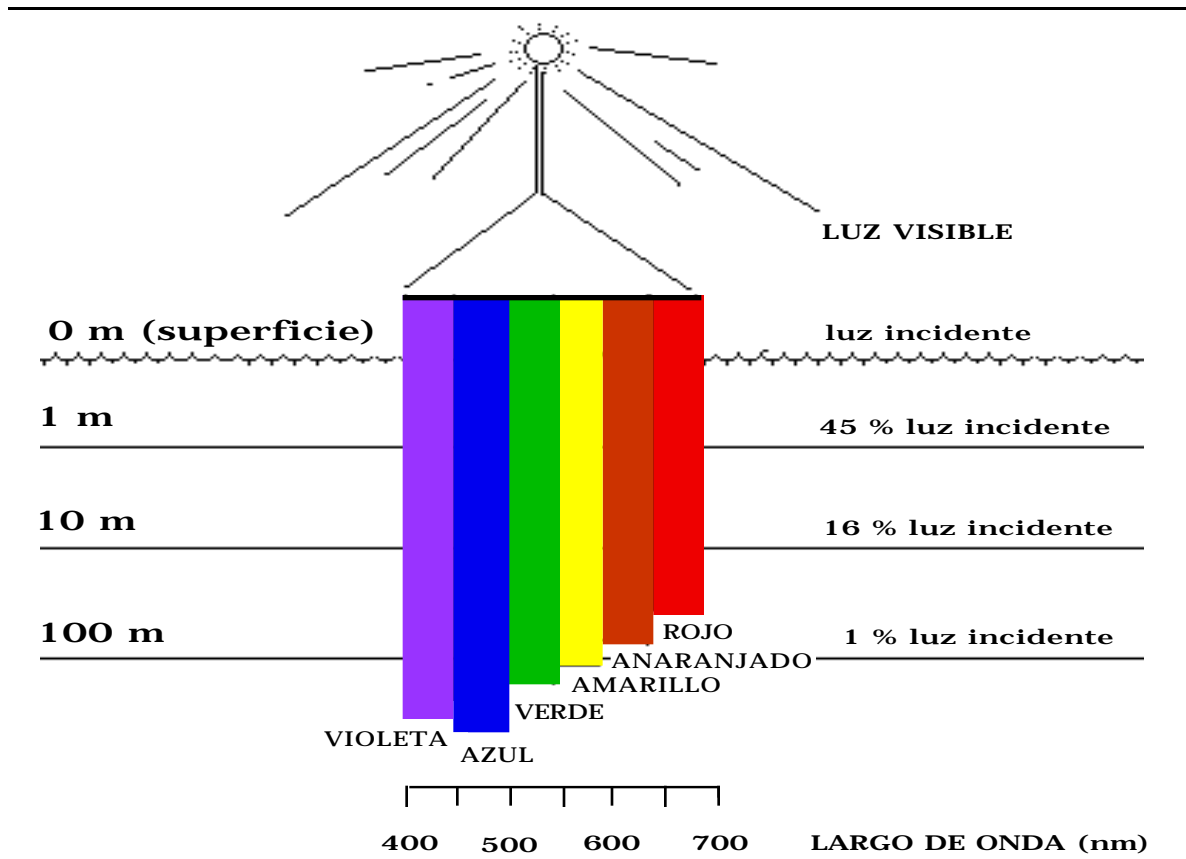


Figura 2b: Transmisión de luz visible a través de agua de mar.



En agua pura, aproximadamente el 55% del total de luz incidente se disipa como calor y pierde intensidad en el primer metro de profundidad. Un 50% de la luz incidente es absorbida con cada metro adicional de profundidad. Tanto los largos de onda largos (rojo, anaranjado) como los largos de onda cortos (ultravioleta) pierden intensidad más rápido que los largos de onda intermedios (azul, verde amarillo). La luz azul es la radiación que predomina después de los 100 metros de profundidad

Actividad fotosintética y la penetración de la luz:

La intensidad y la composición espectral de la luz que penetra la columna de agua tiene un efecto marcado sobre la actividad metabólica que se desarrolla en todo el cuerpo de agua, ya que la calidad y la intensidad lumínica regulan la productividad primaria. En términos generales, la actividad fotosintética aumenta en función de la intensidad lumínica, hasta el punto donde el aparato fotosintético se satura de luz. La razón a la

cual aumenta la actividad fotosintética en función de la intensidad lumínica y el punto donde se produce la saturación de luz, son parámetros que varían de un grupo fototrófico a otro. Dichas variaciones obedecen a diferencias en la configuración bioquímica y en última instancia, a diferencias en la configuración genética. La ubicación de los organismos fotosintéticos en la columna de agua está determinada por los dos parámetros arriba señalados. La respuesta que presenta un organismo a cambios en la intensidad de luz dependerá de la intensidad de luz a la cual éste se ha adaptado y obviamente a su composición de pigmentos. Los fototrofos podrán adaptarse a cambios graduales en la intensidad de luz, dentro de las limitaciones que le impone su particular configuración de pigmentos fotosintéticos (clorofilas/bacterioclorofilas y pigmentos accesorios). Un caso interesante es el de algunas cianobacterias que llevan a cabo fotosíntesis oxigénica a altas intensidades de luz y cambian a un proceso de fotosíntesis anoxigénica a bajas intensidades de luz, utilizando entonces H_2S como donante de electrones (Cohen et al., 1975).

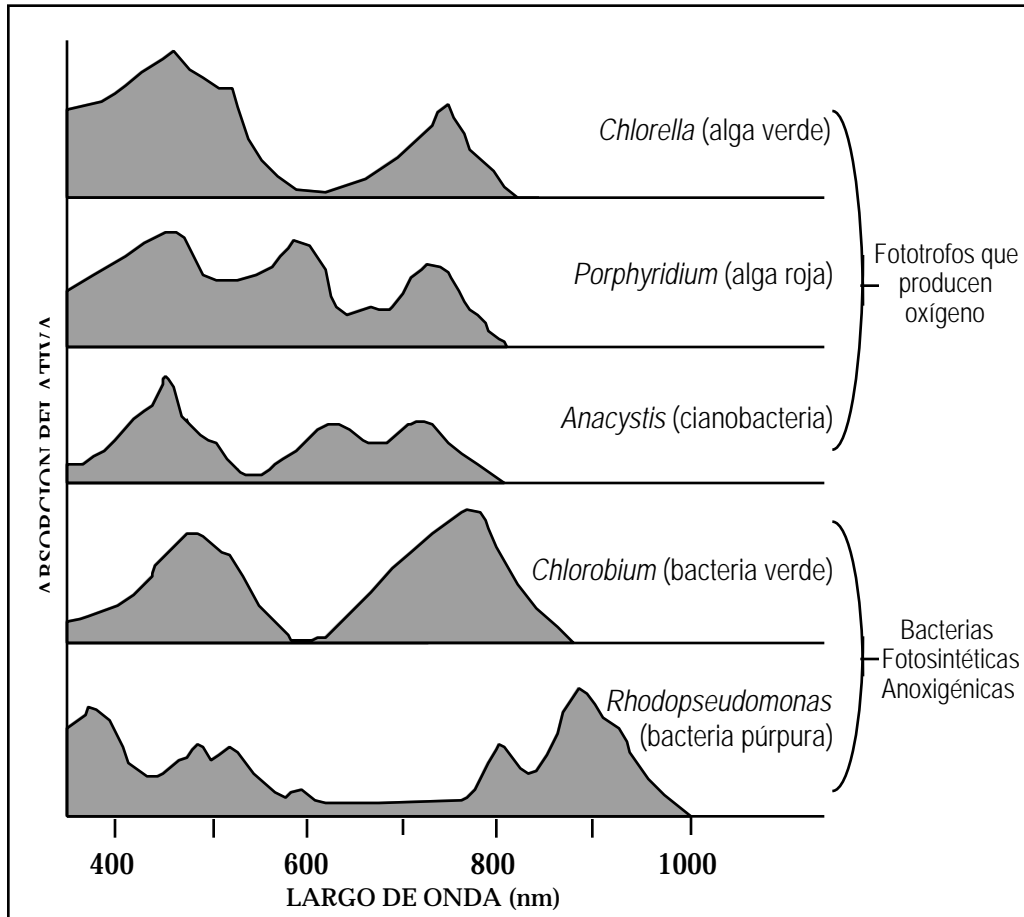
La composición espectral de la luz disponible en la columna de agua es otro factor importante que regula la actividad fotosintética. La habilidad de los fototrofos para utilizar la energía lumínica disponible depende principalmente de su habilidad para absorber los largos de onda disponibles lo cual está a su vez determinado por su contenido de pigmentos fotosintéticos (clorofilas/ bacterioclorofilas, ficobilinas, carotenoides). Los microorganismos fototróficos (algas, cianobacterias y bacterias fotosintéticas) difieren unos de otros en la composición de pigmentos y por consiguiente difieren en su habilidad para absorber diferentes largos de onda (Tabla 1 y Figura 3).

Tabla 1: Composición de pigmentos y largos de ondas utilizados por microorganismos fototrofos¹.

Organismo	Donante electrones	Pigmento(s) principal(es)	Pigmentos accesorios	Regiones de absorción máxima
ALGAS: ✓ <i>Chlorophyta</i> ✓ <i>Euglenophyta</i> ✓ <i>Chrysophyta</i> ✓ <i>Charophyta</i> ✓ <i>Phaeophyta</i> ✓ <i>Pyrrophyta</i> ✓ <i>Rhodophyta</i>	H ₂ O	clorofila a y b clorofila a y b clorofila a y c (d) clorofila a y b clorofila a y c clorofila a y c clorofila a y c clorofila a y ficobilinas	carotenoides carotenoides carotenoides carotenoides carotenoides carotenoides carotenoides	<i>clorofila-a:</i> 680-685 nm (rojo) 430 nm (azul) <i>clorofila-b:</i> 660 nm (rojo) 450 nm (azul) <i>ficobilinas:</i> 625-675 nm (rojo)
CIANOBACTERIAS	H ₂ O	clorofila a y ficobilinas	carotenoides	680-685 nm (rojo) 625-675 nm (rojo)
BACTERIAS FOTOSINTETICAS: ✓ Bacterias púrpuras ✓ Bacterias verdes ✓ <i>Heliobacteria</i>	H ₂ S compuesto orgánico H ₂ S & compuesto orgánico H ₂ S & compuesto orgánico	bacterioclorofilas a y b bacterioclorofilas c, d, e y trazas de a bacterioclorofila g	carotenoides carotenoides carotenoides	<i>bacterioclorofila a:</i> 805 nm 830-890 nm <i>bacterioclorofila b:</i> 835-859 nm 1020-1040 nm <i>bacterioclorofila c:</i> 745-755 nm <i>bacterioclorofila d:</i> 705-740 nm <i>bacterioclorofila e:</i> 719-726 nm <i>bacterioclorofila g:</i> 788 nm 670 nm

¹ Datos tomados de Brock y Madigan (1991), Stanier, Adelberg e Ingram (1986) & Prescott, Harley y Klein (1990).

Figura 3: Espectro absorción *in vivo* de varios microorganismos fototróficos.



* Modificado de Stanier, Doudoroff y Adelberg (1986).

Las bacterioclorofilas difieren de las clorofilas de algas y cianobacterias tanto en estructura química como en su capacidad de absorber diferentes largos de onda de energía radiante. Dichas diferencias le permiten a las bacterias fotosintéticas vivir en ambientes acuáticos por debajo de capas densas de algas y cianobacterias, en zonas donde pueden utilizar la luz que no absorben las algas (rojo lejano e infrarrojo). La energía lumínica con largos de onda entre 600 y 685 nm es absorbida por la clorofila. La energía asociada a largos de onda menores de 600 es absorbida preferentemente por la clorofila y los pigmentos accesorios. Estos últimos pasan la energía a la clorofila. Ya que la luz roja (largo de onda 600 - 685) es atenuada significativamente en los primeros 5 a 10 metros de profundidad, los pigmentos accesorios son muy importantes absorbiendo luz en aguas más profundas. Resulta evidente que el crecimiento y la distribución vertical de los fototrofos en cuerpos de agua naturales está determinada en gran medida por su particular composición de pigmentos.

La absorción selectiva de los diferentes componentes del espectro visible, a lo largo de la columna de agua, tiene un efecto sobre la diversidad, densidad y distribución de las comunidades de fototrofos que habitan en un cuerpo de agua natural. Muchas especies de eubacterias fototróficas, logran convivir con fototrofos eucariotas y con cianobacterias ubicándose en el hipolimnio de cuerpos de agua poco profundos, donde la radiación roja lejana ("far red") y la infrarroja pueden penetrar hasta el fondo. Las bacterias fotosintéticas verdes y las azufre/púrpura pueden colonizar los sedimentos, la interfase agua/sedimentos y la región anóxica de la columna de agua, mientras las algas y cianobacterias dominan las estratas superiores. Las algas y las cianobacterias absorben preferentemente la radiación con largos de onda corto (azul) mientras que las bacterias fotosintéticas utilizan la luz con largos de onda largos: rojo, rojo lejano. La luz con dichos largos de onda (rojo lejano e infrarrojo) no es absorbida por el fitoplancton ubicado en la parte superior de la columna. La explicación a este patrón de distribución espacial de los fototrofos, la encontramos en el hecho de que todos los organismos fotosintéticos requieren de una fuente de electrones para reducir los pigmentos fotooxidados. Las bacterias verdes y las azufre-púrpuras obtienen los electrones de la oxidación de H_2S , mientras que algas, cianobacterias y plantas acuáticas derivan los electrones de la fotólisis de la molécula de H_2O . Siendo la energía de activación para la oxidación del H_2S menor que la energía de activación para la fotólisis de agua, las bacterias fotosintéticas requieren intensidades de luz más bajas para llevar a cabo fotosíntesis. En cuerpos de agua donde la columna presenta un perfil de oxígeno bastante uniforme y las aguas son claras (concentraciones bajas de sólidos suspendidos y materia orgánica disuelta), la actividad fotosintética a lo largo de la columna es dominada por eucariotas fototróficos. En dichos ambientes, son los largos de onda cortos (azul, violeta) los de mayor penetración en la columna de agua.

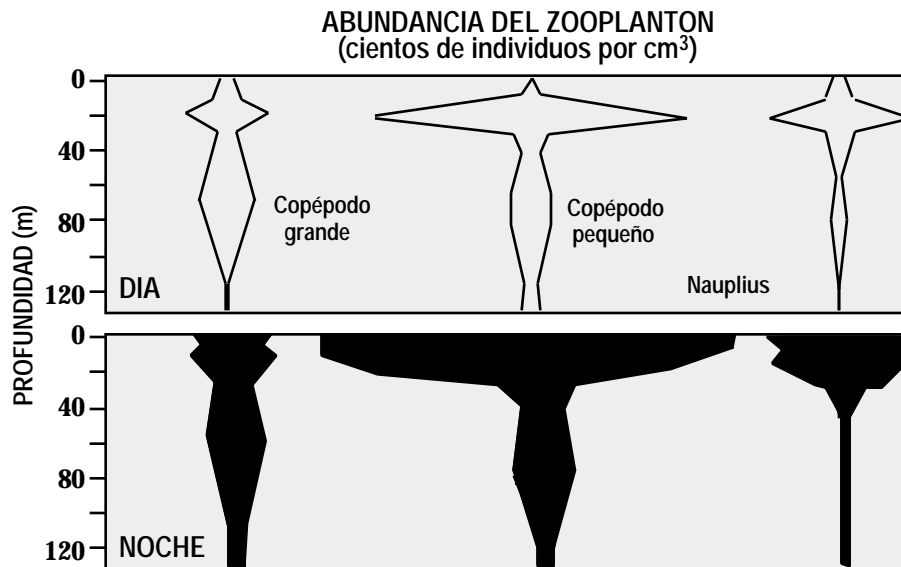
Visto de otro ángulo, la radiación solar puede convertirse en un factor que genera tensión ambiental. Para los organismos que ocupan o transitan por la superficie del agua la exposición a la luz ultravioleta puede ocasionarle la muerte o mutaciones con efectos subletales. Inclusive, la exposición a intensidades altas de luz visible puede ser detrimental para los organismos, en la medida que se producen reacciones de fotooxidación que destruyen o afectan la actividad de pigmentos fotosintéticos, enzimas y otras macromoléculas importantes. En el caso particular del fitoplancton que se expone a intensidades de luz mayores a los niveles óptimos para llevar a cabo fotosíntesis se producen con frecuencia dos efectos. Uno de ellos es la reducción o total inhibición de la actividad fotosintética y el segundo es un aumento no controlado en la excreción de fotosintetatos (productos generados de la actividad fotosintética). Se ha reportado para algunas especies de fitoplancton, una pérdida de hasta un 24% de fotosintetatos, manitol y varios polisacáridos (Webber y Thurman, 1991). Dichos exudados son utilizados por bacterias como fuente de alimento. Muchos de los microorganismos que habitan en zonas sujetas a una alta irradiación solar han desarrollado mecanismos de adaptación como son la producción de pigmentos que

actúan como "sombrillas" o escudos de producción y el desarrollo de mecanismos eficientes de reparación del ADN (Atlas y Bartha, 1993).

Efecto de la luz sobre el movimiento de organismos fototróficos:

Algunos microorganismos fototróficos exhiben la capacidad de responder a estímulos de luz alejándose o acercándose a una fuente de iluminación (comportamiento fototáctico). Dicho comportamiento conduce a migraciones verticales, orientadas por gradientes de intensidad lumínica. De esta forma, microorganismos móviles y microorganismos que pueden controlar su posición en la columna de agua utilizando vesículas de gas, como es el caso de algunas cianobacterias, se localizan a lo largo del perfil de profundidad en aquellas zonas donde la intensidad lumínica y la concentración de nutrientes limitantes son óptimos para su proceso fotosintético.

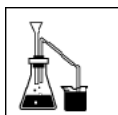
Figura 4: Distribución vertical diurna y nocturna de tres etapas del copépodo *Episcura copepodites* en el Lago Tahoe.



◀Migración nocturna de *Episcura copepodites* de su localización habitual, a 20 metros de profundidad durante el día, a la superficie durante la noche (Lago Tahoe, California-Nevada). Modificada de Roth y Goldman, publicada en Limnology, Horne y Goldman (1994).

Efecto de la luz sobre la migración y comportamiento de organismos heterotróficos:

La migración horizontal de muchos animales acuáticos está dirigida también por gradientes de intensidad lumínica. Tal es el caso de la migración del salmón, donde éste se desplaza del océano a las áreas de desove en corrientes de agua dulce dirigido mayormente por la dirección de la luz. Por otro lado, la distribución de fototrofos y la evasión de depredadores dirigen la migración vertical de muchas especies de zooplancton y de fauna mayor (Horne y Goldman, 1994). En ambientes de agua dulce, estratificados termalmente, se ha observado que organismos zooplanctónicos grandes responden a cambios en intensidad lumínica migrando a aguas superficiales al atardecer y desplazándose en dirección contraria al amanecer. Estos organismos se alimentan de zooplancton más pequeño (mesozooplancton) durante su migración vertical. El mesozooplancton, integrado mayormente por herbívoros (ej. copépodos y cladóceros), migra al epilimnio para pastorear durante las horas de mayor obscuridad. Durante el día, estos migran a la zona hipolimnética (Figura 4). En el microzooplancton, integrado básicamente por rotíferos, protozoarios y etapas larvales pequeñas, la migración vertical es mínima. Una parte substancial de la industria pesquera en el océano está asociada a la migración nocturna de muchos miembros de la fauna marina. Finalmente, resulta obvio que la luz no solamente regula la actividad fotosintética en fototrofos, sino que también afecta la sobrevivencia y el comportamiento de los organismos que habitan en un cuerpo de agua. Los cambios en intensidad lumínica afectan la disponibilidad de alimento y la vulnerabilidad a la depredación de muchos animales marinos incluyendo al zooplancton .



METODOLOGIA

I - PENETRACION DE LA LUZ

La penetración de luz en un cuerpo acuático se mide generalmente determinando el límite de visibilidad en la columna de agua. Con dicha finalidad se utiliza el **disco Secchi** o preferiblemente un **fotómetro sumergible**, cuando este equipo está disponible.

El fotómetro sumergible nos permite establecer la cantidad de luz que incide sobre la superficie del agua. Una vez se obtiene ese valor, podemos calcular el por ciento de luz que va penetrando a través de la columna de agua. El fotómetro sumergible es un instrumento muy útil, pero desafortunadamente es costoso, factor que limita su disponibilidad. Cuando no contamos con un fotómetro podemos recurrir a un disco Secchi para estimar la penetración de luz en la columna de agua.

El disco Secchi fue inventado por un oceanógrafo italiano en el siglo 19. Este consiste en un disco circular de aproximadamente 20 cm de diámetro dividido en cuatro (4) cuadrantes pintados de forma alterna en blanco y negro. Una línea o cable graduado es fijado al centro del disco. Para utilizar el disco Secchi podemos emplear los siguientes pasos:

- ✓ Generalmente el disco se introduce al agua del lado sombreado del bote o de la embarcación utilizada (**Figuras 5 - 6**).
- ✓ Primero se determina la profundidad a la que el disco desaparece de nuestra vista (**Figura 7**).
- ✓ Luego de alcanzar el punto de desaparición, se permite que el disco siga bajando en la columna (**Figura 8**).
- ✓ Se retrae el cable lentamente, registrando la profundidad a la que reaparece el disco Secchi (**Figuras 6 - 8**).
- ✓ Se calcula el promedio aritmético de las dos lecturas tomadas, tomándose dicho promedio como el límite de visibilidad en la columna de agua.

La profundidad que alcanza la zona fótica (aquella donde se recibe el 1% de la luz incidente) se estima con frecuencia como el doble de la lectura de profundidad obtenida con el disco Secchi. Dicho factor de conversión puede variar dependiendo del cuerpo de agua estudiado, las condiciones del agua y de quién es el observador. Es importante que las lecturas con el disco Secchi se realicen lo más cerca posible de la superficie del agua. Las determinaciones de penetración de luz con el disco Secchi son afectadas por los siguientes factores :

- Turbulencia en la superficie del agua
- Reflejo de luz en la superficie del agua
- Momento durante el día cuando se realiza las lecturas
(Aunque la transparencia del agua es relativamente independiente de la intensidad de luz en la superficie, las determinaciones con el disco Secchi se tornan erráticas del anochecer al amanecer. Resulta más confiable realizar las determinaciones cercano al mediodía - 10:00 a.m. a 2:00 p.m.)

- Por ciento de cobertura de nubes
- Capacidad de visión del observador

Se recomienda que, al momento de realizar medidas con el disco Secchi, se tome nota de las condiciones climatológicas imperantes y que una sola persona realice todas las medidas.

II- TURBIDEZ

La prueba de turbidez describe una propiedad óptica del agua que se deriva de la dispersión y absorción de luz causada por la materia particulada presente. Dicha propiedad describe el grado de opacidad del agua, producida por material disuelto y material particulado en suspensión. La turbidez registrada para una muestra de agua depende de factores tales como: tamaño, forma y propiedades refractivas del material particulado. No existe una relación directa entre la turbidez y la concentración de materia particulada presente en el agua.

La turbidez del agua es causada específicamente por: materiales suspendidos abióticos, tales como arcilla, cieno (aluvión), fragmentos finos de materia orgánica e inorgánica, compuestos orgánicos solubles con color (ej. taninas, ácidos y sales) y material suspendido biótico como lo es el plancton y otras entidades microscópicas (ej. polen, debris vegetal).

Aplicación:

La transparencia del agua es generalmente un índice importante de la condición y productividad de ecosistemas acuáticos, excepto para los llamados ríos grandes. Estos últimos presentan una turbidez alta la mayor parte del tiempo, producida por nubes de sedimentos, que están en continua resuspensión por las fuertes corrientes que predominan en dichos ríos. En estos casos, la turbidez puede ser un factor limitante de la productividad, si limita la cantidad de luz disponible para fotosíntesis.

Métodos:

Para medir turbidez se pueden utilizar varios instrumentos, a saber:

- Turbidómetro "Jackson Candle"
- Alambre de Platino
- Nefelómetro
- Espectrofotómetro

En nuestro laboratorio utilizaremos el método del espectrofotómetro. Para una descripción del principio de operación de los otros instrumentos puede referirse a: "APHA-Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", 1992 y "N. R. Kevern, A Manual of Limnological Methods", 1989. El espectrofotómetro nos permite medir la turbidez de una muestra de agua en unidades ópticas, partiendo de la premisa que la opacidad es proporcional a la turbidez.

Utilización del disco Secchi para estimar transparencia del agua

Figura 5

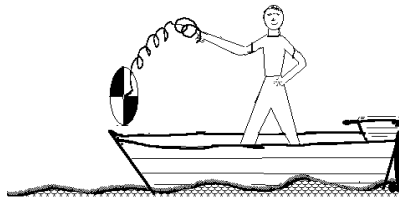


Figura 6

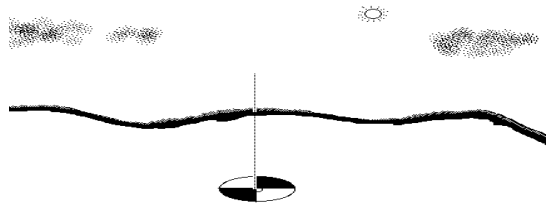


Figura 7

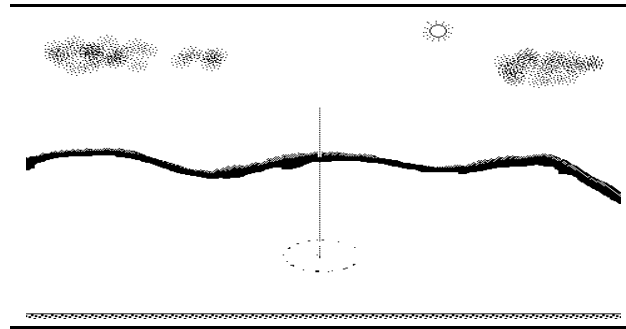
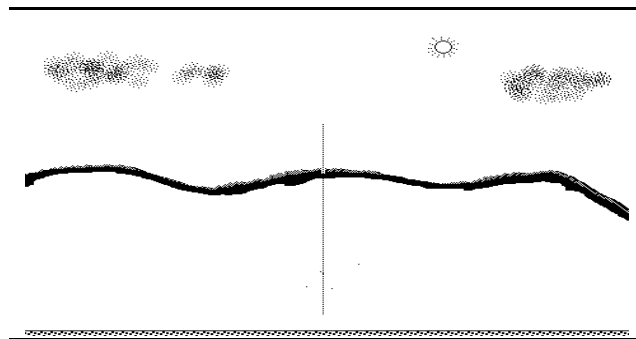


Figura 8

**PROCEDIMIENTO A SEGUIR**

PENETRACION DE LUZ: DISCO SECCHI (Procedimiento descrito en sección de Metodología (ver Figuras 5 - 8))

TURBIDEZ (fotómetro): HACH WATER ANALYSIS HANDBOOK

SISTEMA BAUSH & LOMB - TURBIDITY

**PREGUNTAS...**

1. ¿En qué forma la turbidez puede constituir un factor limitante para la productividad primaria de un cuerpo de agua natural?

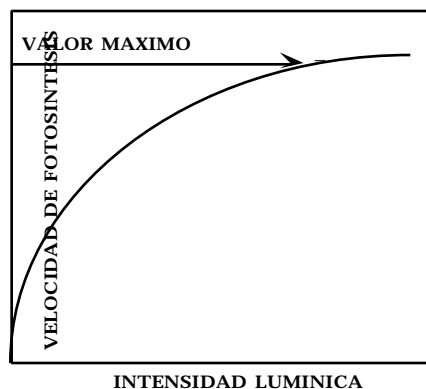
2. ¿De dónde proviene la materia particulada suspendida (orgánica e inorgánica) que origina la turbidez del agua?

3. ¿Cómo puede usted calcular la profundidad de compensación utilizando el disco Secchi?

4. ¿En qué forma la penetración diferencial de los componentes del espectro de luz visible permite la división del nicho ecológico a las distintas especies de organismos fototróficos en lagos estratificados de poca profundidad?

5. ¿A qué se debe el color azulado de aguas oceánicas profundas, mientras que aguas cercanas a la costa presentan por lo general un color verdoso?

6. ¿Qué información provee la siguiente gráfica?



SEGUNDA PARTE

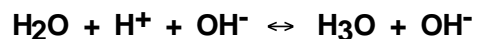
PARAMETROS FISICO-QUIMICOS: pH

EL pH ES ACRONIMO para *potencial de hidrógeno*, e indica la concentración del ión hidronio en una solución.

$$pH = \log \frac{1}{[H_3O^+]}$$

...dónde, **[H₃O⁺]** = concentración del ión hidronio en moles/L

El término pH expresa la intensidad de un ácido, dependiendo de su capacidad de disociación, así como de su concentración. El agua es un electrolito débil, en consecuencia sólo una pequeña fracción de ésta se disocia en los iones que componen la molécula: H₃O⁺ (ión ácido) y OH⁻ (ión básico). La siguiente ecuación describe el equilibrio de disociación del agua.



La constante de disociación de agua pura a una temperatura dada está definida por la siguiente expresión:

$$K_w = \frac{[H_3O^+][OH^-]}{[H_2O]}$$

Tabla 1: Concentración de los iones hidronio e hidroxilo en función del pH.

pH	[H ₃ O ⁺]	[OH ⁻]
0	1.0	0.00000000000001
1	0.1	0.0000000000001
2	0.01	0.000000000001
3	0.001	0.00000000001
4	0.0001	0.0000000001
5	0.00001	0.000000001
6	0.000001	0.00000001
7	0.0000001	0.0000001
8	0.00000001	0.000001
9	0.000000001	0.00001
10	0.0000000001	0.0001
11	0.00000000001	0.001
12	0.000000000001	0.01
13	0.0000000000001	0.1
14	0.00000000000001	1.0

* El producto [H₃O⁺][OH⁻] siempre será igual a 10⁻¹⁴ moles/L.

La fracción del agua que se ioniza es tan pequeña que la concentración de agua **no disociada** se aproxima a 1.0. Esa razón se hace evidente si consideramos una solución neutra, donde por cada tonelada métrica de moléculas de agua habría aproximadamente 0.1 mg de H⁺ y 1.7 mg de OH⁻. En agua pura (pH 7.0), la razón de iones de hidronio a iones hidroxilo es igual a 1.0. Esto nos conduce a que la constante de disociación del agua (K_w) se puede expresar como el producto de la concentración del ión hidronio por la concentración del ión hidroxilo:

$$K_w = [H_3O^+][OH^-]$$

El producto de dicha expresión es de 10⁻¹⁴ moles/L. La **tabla 1** nos presenta las variaciones que se producen en las concentraciones de los iones H₃O⁺ y OH⁻ según varía el pH de una solución.

La temperatura afecta la constante de disociación del agua y por ende, cambios en temperatura redundan en cambios en las concentraciones relativas de los iones hidronio e hidroxilo (**Tabla 2**).

Tabla 2: Efecto de la temperatura sobre K_W y pH.

Temperatura (°C)	$K_W \times 10^{14}$	pH
0	0.115	7.47
5	0.185	7.37
10	0.292	7.27
15	0.450	7.17
20	0.681	7.08
24	1.000	7.00
25	1.008	6.99
30	1.469	6.92
35	2.089	6.84
40	2.919	6.77

* Datos tomados de Cole (1983).

Importancia ecológica:

El pH de un cuerpo de agua es un parámetro a considerar cuando queremos determinar la especiación química y solubilidad de varias sustancias orgánicas e inorgánicas en agua. Es un factor abiótico que regula procesos biológicos mediados por enzimas (ej. fotosíntesis, respiración); la disponibilidad de nutrientes esenciales que limitan el crecimiento microbiano en muchos ecosistemas (ej. NH_4^+ , PO_4^{-3} y Mg^{2+}); la movilidad de metales pesados tales como cobre, que es tóxico para muchos microorganismos; así como también afecta o regula la estructura y función de macromoléculas y organelos tales como ácidos nucleicos, proteínas estructurales y sistemas de pared celular y membranas. Variaciones en pH pueden tener entonces efectos marcados sobre cada uno de los niveles de organización de la materia viva, desde el nivel celular hasta el nivel de ecosistemas. Para una descripción del efecto de pH sobre microorganismos vea Atlas & Bartha, 1992.

Factores que afectan el pH de un cuerpo de agua natural:

En el caso de aguas oceánicas, donde el sistema de amortiguación de carbonato-bicarbonato opera efectivamente, el pH varía dentro de unos límites estrechos (8.1 ~ 8.3). En aguas cercanas a la costa, el pH de agua de mar se puede alejar del valor promedio indicado por efecto de la actividad fotosintética, la respiración celular y el efecto de descargas de origen antropogénico. En aguas interiores las variaciones en pH son grandes. El pH de lagos alcalinos puede tener valores mayores a 10 ó 11 unidades, mientras que el pH en algunas ciénagas o pantanos puede ser menores de 4.0. En

términos generales, el pH de un cuerpo de agua puede variar a lo largo de un amplio rango de valores, dependiendo de factores intrínsecos y extrínsecos al ambiente acuático:

Factores intrínsecos

- ✓ Capacidad amortiguadora del sistema de alcalinidad carbonato-bicarbonato
- ✓ Estratificación y mezcla del sistema acuático
- ✓ Evaporación
- ✓ La intensidad de procesos biológicos tales como fotosíntesis, respiración y actividades de descomposición de materia orgánica
- ✓ La interacción de los factores arriba mencionados con el sistema de alcalinidad

Factores extrínsecos

- ✓ Composición de: suelos adyacentes, depósitos superficiales y lecho rocoso
- ✓ Fuentes de contaminación: drenaje ácido de minas, precipitación ácida
- ✓ Presión parcial de CO₂ en la atmósfera
- ✓ Temperatura

Fuentes de procedencia del ión hidronio:

La principal fuente del ión hidronio en cuerpos de agua naturales es el ácido carbónico (H₂CO₃) y sus varias formas disociadas. Esta fuente del ión hidronio es responsable por sí solo de producir valores de pH menores a 6.0, cercanos a 5.0 en aguas no contaminadas. No obstante, el rango de pH en la mayoría de los cuerpos de agua interiores se extiende de 6.0 a 9.0, siendo controlado por el sistema de ácido carbónico. Podemos generalizar entonces que las fuentes de CO₂ en aguas naturales (difusión de CO₂ atmosférico, procesos catabólicos, mineralización de CaCO₃) tienen un impacto sobre el pH de aguas naturales.

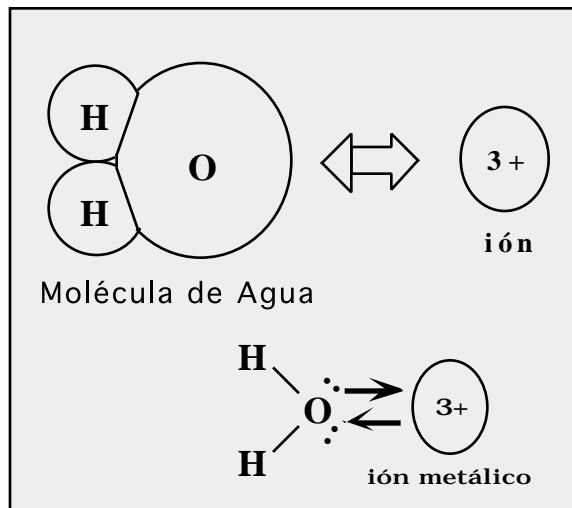
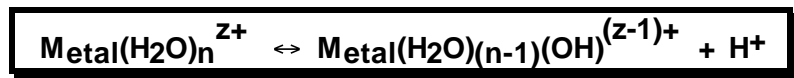
Podemos subdividir las fuentes del ión hidronio en agua en dos categorías: fuentes atmosféricas y fuentes asociadas a factores edáficos:

Fuentes atmosféricas:

El agua de lluvia en equilibrio con el CO₂ atmosférico debería tener un pH alrededor de 5.6, si consideramos al ácido carbónico como única fuente del ión hidronio. No obstante, en algunas áreas de nuestro planeta el pH de la lluvia presenta valores muy por debajo del valor esperado de 5.6. Este fenómeno se conoce con el nombre de lluvia ácida. Aunque este problema de contaminación atmosférica se origina mayormente como consecuencia de actividades antropogénicas, existen algunas fuentes naturales de ácidos fuertes. Las emisiones volcánicas contaminan la atmósfera con el dióxido de azufre (SO₂), el cual es responsable en parte de la lluvia ácida. El SO₂ es un gas muy soluble, que reacciona rápidamente con agua para formar ácido sulfuroso. Este último se

oxida rápidamente a ácido sulfúrico. De igual forma el gas H₂S, al entrar en contacto con agua causa un leve aumento en acidez. Oxidaciones subsiguientes pueden conducir a la formación de H₂SO₄. En adición al ácido sulfúrico, se ha encontrado HCl en agua de lluvia cercana al volcán del Monte Vesuvio.

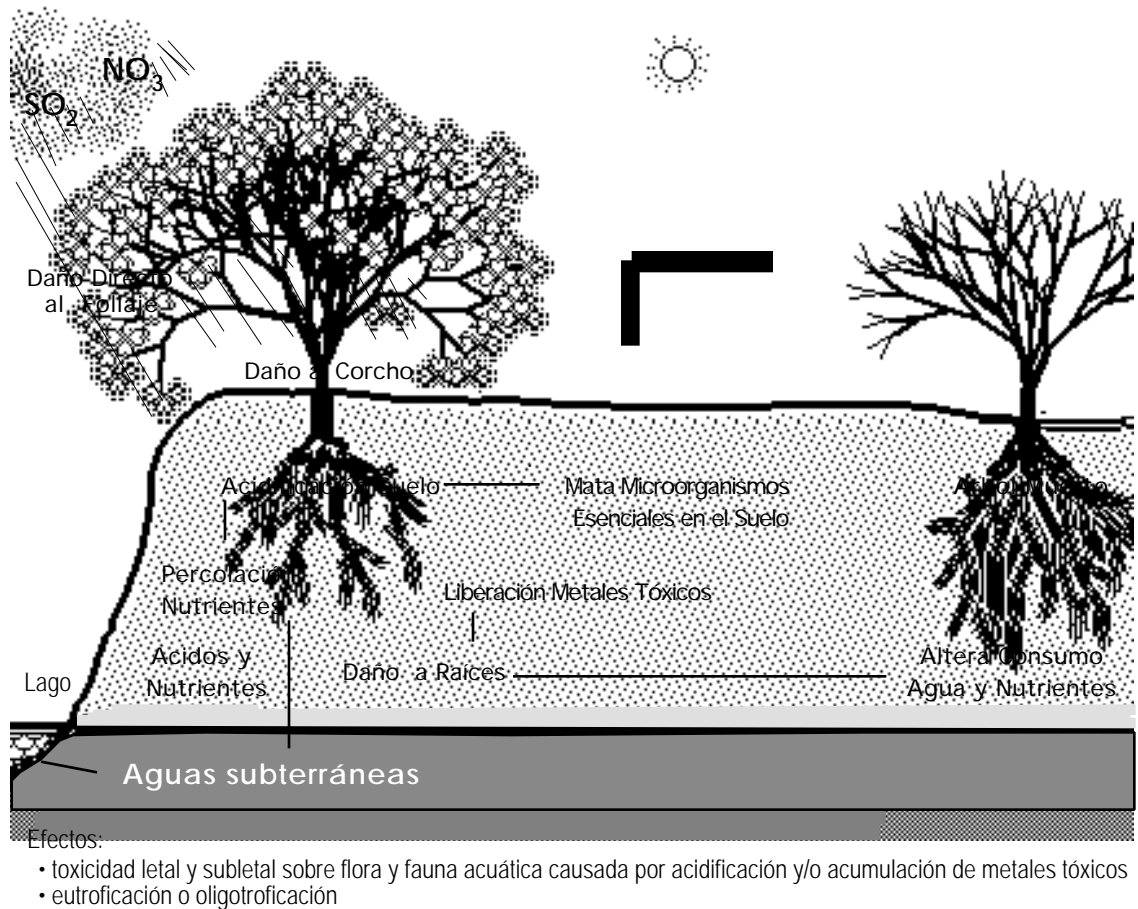
El ácido nítrico (HNO₃), otra fuente de acidez en agua de lluvia, se ha relacionado a emanaciones industriales. De igual forma se han identificado varios ácidos orgánicos débiles y algunos metales (Al, Fe, Mn) provenientes de actividades industriales, como especies químicas responsables de la acidez de cuerpos de agua naturales (Miller, 1994). *Los metales como el aluminio, hierro y manganeso, no contribuyen directamente a la acidez del agua, pero de forma indirecta estos consumen el hidroxilo (OH⁻) presente en el agua, formando hidróxidos insolubles.* De hecho, las soluciones de cualquier ión metálico muestran propiedades acídicas. Esto se debe a que los iones metálicos están cargados positivamente, atrayendo así ellos los pares de electrones no compartidos de las moléculas de agua. Dicha fuerza de atracción aumenta con la carga del ión y es más fuerte para los iones con un radio iónico más pequeño. En la interacción de la molécula de agua con el ión metálico, la densidad electrónica fluye del átomo de oxígeno hacia el metal. Esto ocasiona que el enlace **O-H** se torne más polar y como consecuencia, las moléculas de agua que se unen al ión metálico resultan ser más ácidas que las del resto de las moléculas de agua en la solución. De esta forma, el ión metálico actúa como una fuente de protones que compromete los iones de hidroxilo en la solución (Brown y LeMay, 1987):



Varios factores edáficos regulan los efectos de la precipitación ácida sobre un cuerpo de agua. En suelos calcáreos y en afloramientos de piedra caliza, donde el desgaste

químico, la mineralización, y el intercambio de iones es significativo, la mayor parte de la acidez que trae consigo la lluvia ácida es neutralizada por el sistema amortiguador de ácido carbónico. Por el contrario, en suelos poco profundos que cubren rocas graníticas, la capacidad amortiguadora del sistema de ácido carbónico es muy débil. Esto provoca que las aguas de escorrentías se mantengan acídicas.

Figura 1: Efectos nocivos de la precipitación ácida sobre la vegetación terrestre y sobre la fauna y flora asociada a la cuenca hidrológica.



La interacción de la precipitación ácida con la vegetación a lo largo de una cuenca hidrográfica es otro factor que afecta la acidez del cuerpo de agua. El follaje intercepta la precipitación ácida, para luego ser arrastrada del suelo durante lluvias subsiguientes. El suelo inmediato a la franja de vegetación se torna ácido, promoviendo la movilidad (percolación) de metales (Figura 1). Este fenómeno es ilustrado por el hecho de que se ha encontrado una mayor concentración de aluminio en lagos acídicos que en aguas no contaminadas. Robinson y Deano (1986) han reportado que la precipitación ácida puede causar la liberación de metales tales como mercurio, manganeso, zinc, níquel, plomo, compuestos de cadmio y el ión de aluminio de suelos y sedimentos expuestos a los

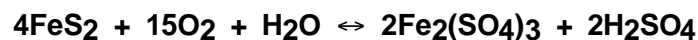
efectos de la precipitación ácida. La solubilización de estos metales ha sido señalada como una de las causas de altas mortandades de peces. Las muertes de peces se adjudican muchas veces a la falta de oxígeno en el agua, provocando así que los peces mueran por sofocación. La lluvia ácida podría aumentar dicho insulto ambiental al disminuir el pH y provocar un aumento en la concentración de metales disueltos en el agua. Ambos insultos, la ausencia de oxígeno y la disolución de metales, pueden ser individualmente letales, pero el efecto combinado podría ser de naturaleza sinérgica, causando una mortandad de peces todavía mayor.

Los efectos nocivos de la lluvia ácida podrían ser modificados por las hojas en descomposición que caen en un cuerpo de agua. Robinson y Deano (1986) realizaron estudios a tal respecto que demostraron que la presencia de hojas de pino en descomposición en aguas con un pH ácido (4.5) aumentaron el efecto tóxico de aluminio sobre peces. Por el contrario, hojas en descomposición de ciprés y roble disminuyeron el efecto tóxico del aluminio sobre peces. Es posible, entonces, que la vegetación que bordea cuerpos de agua naturales pueda agravar o mitigar el efecto tóxico de metales sobre la fauna y el plancton, en cuerpos de agua afectados por la lluvia ácida.

Por otro lado, partículas de suelo cargadas por el viento pueden neutralizar la lluvia ácida. Las partículas calcáreas y el polvo compuesto de aluminio-silicatos y óxidos de hierro se combinan también con el hidronio para neutralizarlo. A tales efectos, se ha encontrado que los cuerpos de agua naturales en regiones de pradera (regiones donde encontramos una mayor densidad de partículas de polvo en la columna de aire) presentan menos problemas de acidificación que los cuerpos de agua localizados en zonas boscosas.

Fuentes edáficas:

La explotación de depósitos minerales por el hombre genera aportes significativos a la acidificación de cuerpos de agua naturales. En el caso de la explotación del carbón, encontramos que los yacimientos de este mineral fósil están asociados generalmente a depósitos de pirita (FeS_2 ; el llamado oro de los tontos). Al exponerse la pirita al aire, es oxidada por acción de bacterias quimioautotróficas ("Iron bacteria" o "Sulfur bacteria"), generándose ácido sulfúrico.



En los casos en donde el sistema de explotación es de minas abiertas, los residuos de pirita quedan al descubierto, luego de la extracción del mineral deseado. Por esta razón, la formación de H_2SO_4 continúa a lo largo de muchos años (en algunos casos por periodos que abarcan centurias). El agua ácida que fluye de los centros mineros causa estragos en la fauna y flora de los cuerpos de agua impactados.

Otras fuentes de acidez de origen edáfico son los lagos volcánicos con fumarolas sulfurosas activas. Contrario a dichos lagos ácidos, otros lagos volcánicos localizados en áreas áridas, se caracterizan por presentar un pH alcalino. Estos últimos, conocidos como lagos de soda, presentan concentraciones altas de Na_2CO_3 y NaHCO_3 (el sodio proviene de la lava volcánica).

En ambientes acuáticos anóxicos, se produce en muchas ocasiones H_2S , particularmente en los sedimentos. La presencia de este gas se reconoce fácilmente por su característico olor fétido a huevo podrido. Bacterias fototrofas y quimioautotrofas pueden oxidar el H_2S a S^0 y luego a H_2SO_4 , acidificando así el agua.

El sulfato calcio (CaSO_4) es común en aguas de escorrentías y puede estar presente bajo ciertas condiciones en agua de lluvia. Cualquier intercambio entre el calcio e iones de hidronio resulta en la formación de H_2SO_4 . Esta reacción se observa comúnmente en el musgo de pantano. Cuando el agua conteniendo CaSO_4 percola a través del musgo, este absorbe el calcio, liberando al mismo tiempo hidronio. A través de dicho intercambio iónico se produce H_2SO_4 . Por esta razón, los pantanos o ciénagas de musgos ("Sphagnum bogs") presentan niveles altos de acidez.

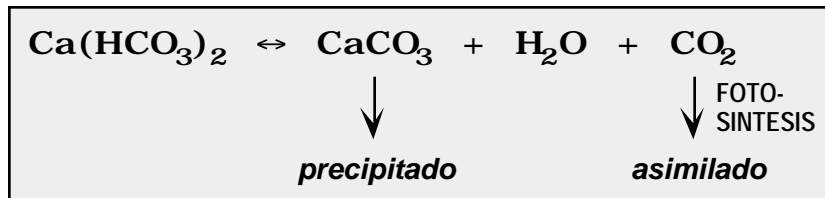
En adición al ácido sulfúrico y al ácido nítrico, los ácidos húmicos (ácidos orgánicos de color amarillo pardo de origen vegetal) son responsables de la acidez registrada en algunos cuerpos de agua. Los ácidos húmicos se producen a partir de procesos de descomposición de materia vegetal, mediados por enzimas bacterianas. Dichos procesos ocurren en dos etapas. La primera etapa envuelve la descomposición de materia vegetal a sustancias más simples, seguido de la síntesis de moléculas complejas de color amarillo pardo. La segunda etapa consiste en la transformación de cadenas alifáticas a compuestos aromáticos, que luego se polimerizan, generando fenoles, quinonas y compuestos aromáticos aminados. Los ácidos húmicos así generados presentan un carácter ácido más fuerte que el ácido carbónico.

Finalmente, es propio recalcar los siguientes datos:

- El rango de pH en la mayor parte de los cuerpos de agua dulce no contaminados oscila entre 6.0 y 9.0, mientras que el valor promedio para agua de mar es de 8.1. El pH del agua es generalmente controlado por el sistema amortiguador de ácido carbónico.
- El fenómeno de la precipitación ácida es un problema regional que se origina mayormente de actividades antropogénicas (para más información sobre este tema refiérase a Miller, 1994).
- La disolución de iones metálicos en agua puede tener efectos marcados sobre el pH de un cuerpo de agua (para más información sobre este tema refiérase a Brown y LeMay, 1987).

pH y fotosíntesis:

El proceso de fotosíntesis puede tener un efecto marcado sobre el pH del agua. En aguas conteniendo cantidades relativamente altas de bicarbonato de calcio $[\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2]$, la remoción de CO_2 del sistema por actividad fotosintética ocasiona un aumento en el pH del agua. Esta situación es ilustrada por la siguiente ecuación:

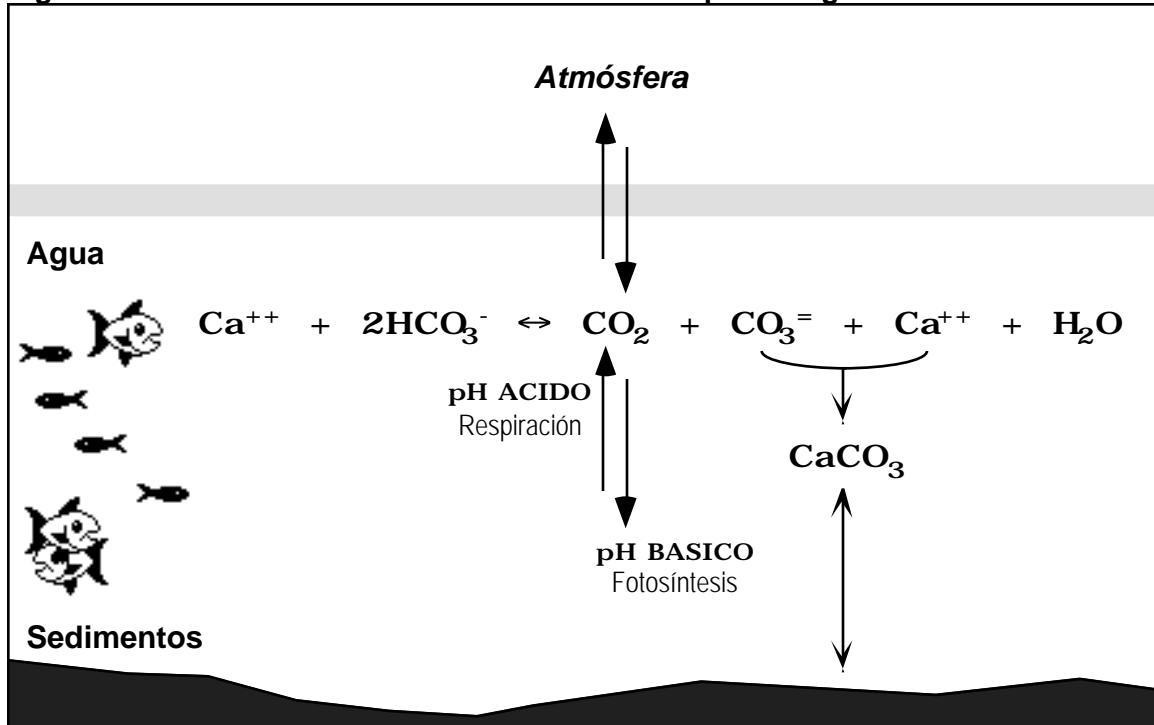


La remoción de CO_2 como consecuencia de la actividad fotosintética provoca que el equilibrio se desplace hacia la derecha, generándose así un aumento en pH. Esta situación se hace evidente por la presencia de incrustaciones calcáreas en la superficie de plantas acuáticas y en otros objetos sumergidos (refiérase a la unidad de **Alcalinidad** para una descripción más detallada de esta interacción).

Cambios en pH como índices de productividad primaria:

La identificación de las interacciones que hemos descrito entre el ión hidronio y la molécula de CO_2 ha permitido el diseño de métodos para estimar la productividad primaria monitoreando los cambios en pH que se registran en un ambiente acuático a lo largo del tiempo. De acuerdo con los conceptos presentados en esta unidad y en la unidad de Alcalinidad, resulta lógico esperar que al medir el pH de un cuerpo acuático natural durante un periodo de 24 horas, el pH más bajo se registre al comienzo del amanecer. Durante el periodo de obscuridad que antecede al amanecer se van acumulando el CO_2 y los productos de la oxidación total y parcial de la materia orgánica asimilada por heterotrofos y autotrofos. Con el amanecer se inicia un nuevo periodo de iluminación, reiniciándose, a su vez, la actividad fotosintética. En consecuencia, el CO_2 es incorporado por los organismos fototróficos que integran la comunidad acuática. Según se fija el CO_2 , mediante la actividad fotosintética, el pH aumenta a una razón similar a la razón de fijación de CO_2 por los productores primarios.

Figura 2: Efecto actividad fotosintética en el pH del agua.



Utilizando el sistema de botellas claras y oscuras se han desarrollado métodos para estimar productividad primaria, basados en la titulación de la muestras de agua con ácido o con una base. Uno de los métodos empleados en el estudio de la razón fotosintética del plancton en cuerpos de agua naturales, emplea la titulación de la botellas claras y oscuras con hidróxido de sodio (NaOH). El método está basado en la premisa de que cada mililitro (ml) de NaOH 0.01N que se añade a la muestra absorbe 10 μmoles de H_2CO_3 convirtiéndolo a NaCO_3 , ó a un pH más alto absorbe 10 μmoles de HCO_3^- convirtiéndolo a Na_2CO_3 . Estas reacciones son silmiliares a las transformaciones químicas que se producen al consumirse el CO_2 por la actividad fotosintética (Figura 2). Este método requiere de la preparación de una curva estándar de cambios en pH versus volumen de NaOH 0.01N añadido (se utilizan muestras de agua del ambiente acuático a ser analizado para preparar la curva estándar). Las botellas claras y oscuras se titulan con NaOH (0.01N), registrándose el cambio en pH que se produce luego de la adición de 0.1 a 0.5 ml del titulante (NaOH). Para obtener más detalles de este método refiérase a Cole, 1983.

Tabla 3: Efecto del pH en la precipitación de hidróxidos.

pH (al que se produce la precipitación)	Hidróxido Precipitado	Ejemplo de ambiente natural
11	Mg	Suelos alcalinos
10		
9	Mn ⁺²	Agua de mar
8		Agua de río
7	Zn	Agua de lluvia
6	Cu	
5	Fe ⁺²	
4	Al	Aguas pantanosas
3		
2	Fe ⁺³	
1		Manantiales termales ácidos

* Datos tomados de Mason (1958); tabla modificada de Brock (1966).

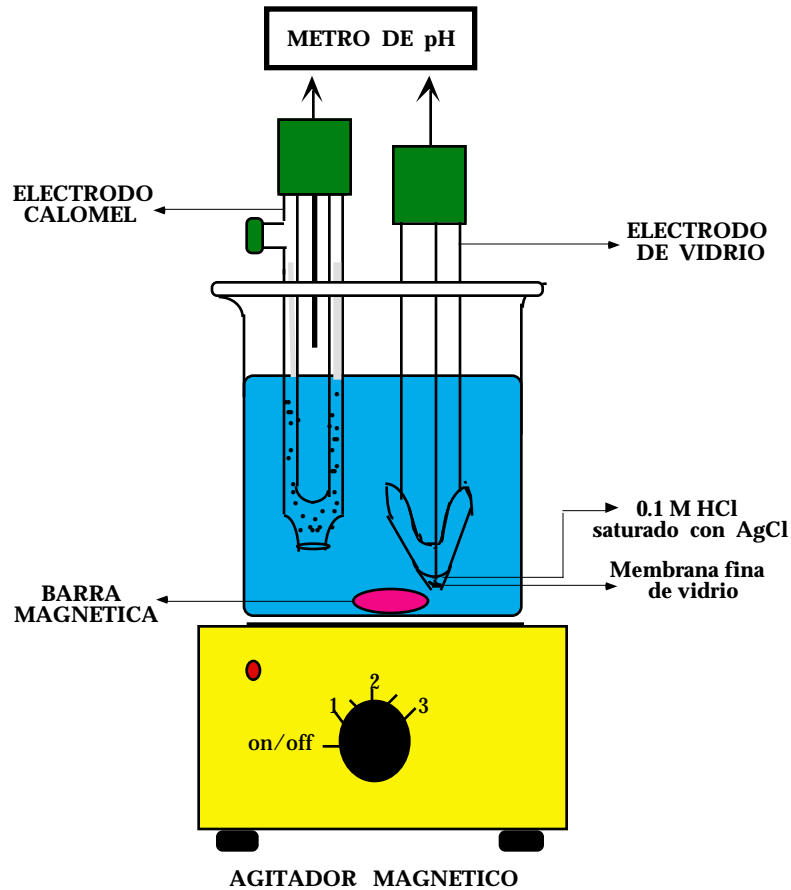
È **Según aumenta el pH (pH > 1) los hidróxidos de metales comienzan a precipitarse a los valores señalados. Visto en sentido contrario, la solubilización de los hidróxidos aumenta con la disminución en pH. A un pH neutral, hierro, aluminio y cobre se encontrarían como hidróxidos insolubles.**

pH y la solubilidad de nutrientes ionizables:

La solubilidad de cualquier sustancia ionizable, cuyo anión sea básico se verá afectada hasta cierto grado por el pH de la solución. Existe una regla general que señala que la solubilidad de sales poco solubles que contienen aniones básicos (ej. OH⁻) aumenta conforme disminuye el pH (es decir, según aumenta la concentración del ión hidronio). Dentro del grupo de los metales de transición encontramos micronutrientes esenciales para los organismos vivos. La disponibilidad de estos nutrientes está regulada por su abundancia relativa y por solubilidad en agua. Los hidróxidos y óxidos de metales de transición (ej. Fe, Zn, Cu, Mn) y los de aluminio y magnesio son en muchas ocasiones insolubles en agua. La disolución de dichos hidróxidos y óxidos es afectada por el estado de oxidación que presente el metal y por el pH del medio acuoso (Tabla 3). El efecto del estado de oxidación sobre la solubilidad de nutrientes es discutido en la unidad de Potencial Redox y en las correspondientes unidades de nutrientes de este manual. En términos generales, la acidificación del medio y la prevalencia de un ambiente reductor promueven la disolución de los hidróxidos insolubles. Estas condiciones las encontramos

generalmente en el hipolimnio de cuerpos lénticos estratificados. La disponibilidad de muchos metales esenciales en la columna de agua depende de procesos que promueven la resuspensión de los sedimentos, zona donde se encuentran concentrados.

Figura 4: Diagrama típico de un sistema de electrodos para medir pH.

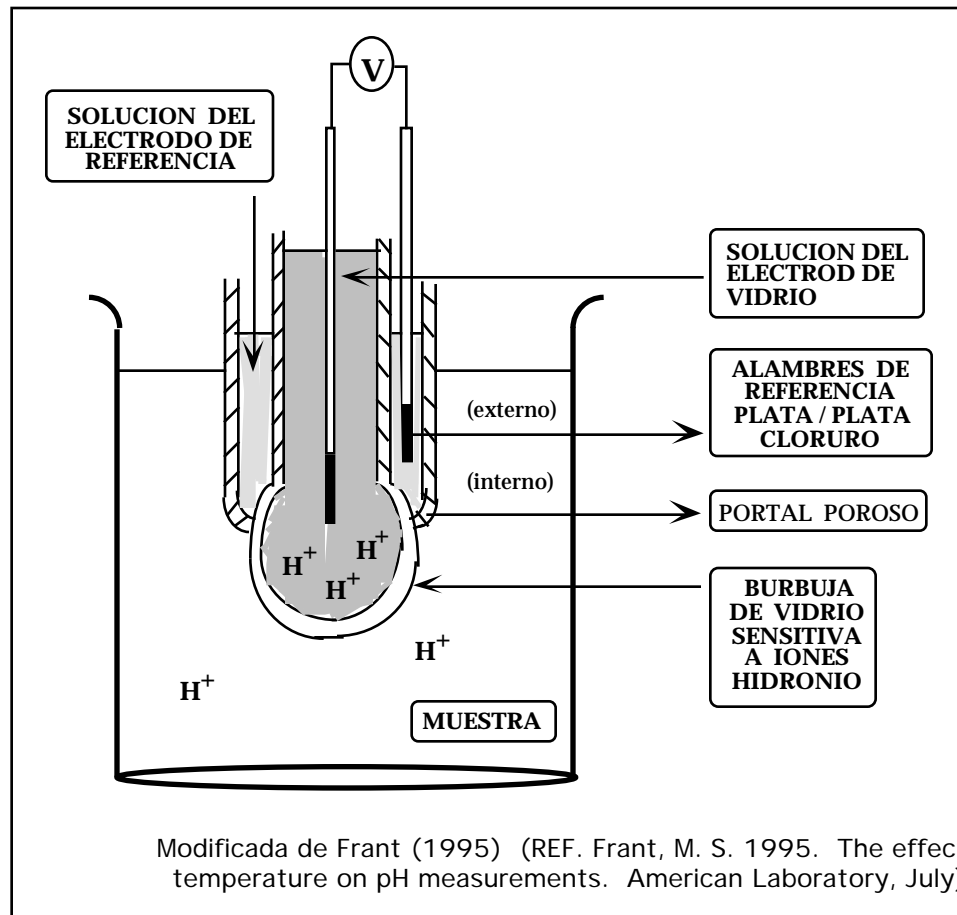


METODOLOGIA

Para medir el pH de un cuerpo de agua podemos utilizar: papel de pH (ej. papel litmus), comparadores de bolsillo o metros de pH. Los primeros dos métodos emplean indicadores de pH para estimar la concentración del ión hidronio. Los indicadores de pH tienen un alcance limitado y exhiben una pobre precisión cuando se comparan con un metro de pH. El metro de pH emplea un método electroquímico para medir la concentración del hidronio $[H^+]$ en una solución. El instrumento consiste de dos electrodos (conocidos como **electrodo de referencia [Calomel]** y un **electrodo de vidrio**), un amplificador y un metro de lectura (Figura 4). Los dos electrodos

mencionados pueden combinarse en una sola unidad conocida como **electrodo de combinación** (Figura 5). El electrodo de vidrio es el componente sensible a cambios en la concentración de $[H^+]$. Cuando los dos electrodos (o el electrodo de combinación se colocan en una solución, se forma una celda electroquímica (análoga a una batería) y se genera un voltaje. Dicho voltaje varía en proporción a la concentración del ión hidronio $[H^+]$. Si calibramos el instrumento con soluciones estándar de voltaje conocido (ej. soluciones estándar de pH 4.0, 7.0 y 10.0) podemos establecer un voltaje de referencia contra el cual compararemos el voltaje de nuestra solución desconocida. Dado que los cambios en voltaje varían proporcionalmente con la $[H^+]$, los cambios en voltaje se traducen en valores de pH.

Figura 5: Configuración de un electrodo de combinación.



Cuando nos interesa medir el pH de cuerpos de agua naturales podemos utilizar metros de pH que podemos sumergir en el agua. **En aquellos casos donde tenemos que tomar una muestra de agua para luego medir el pH, es necesario tomar algunas precauciones. Durante la toma de las muestras y mientras se realizan**

la medidas de pH, se deben minimizar los cambios en temperatura, el intercambio de gases disueltos con la atmósfera y los cambios en pH ocasionados por la actividad metabólica de los microorganismos atrapados en la muestras de agua. Por tal razón, las medidas de pH se deben realizar en el campo, tan pronto como sea posible luego de la toma de las muestras. Es importante calibrar el metro de pH momentos antes de comenzar a medir la concentración de $[H^+]$ en las muestras de agua.

PROCEDIMIENTO A SEGUIR

pH : METRO DE pH



PREGUNTAS...

1. Calcule el pH de una solución que presenta una concentración del ión hidronio de 4×10^{-5} .
2. Describa en qué forma los procesos de fotosíntesis y respiración pueden afectar el pH de un cuerpo de agua.
3. ¿Cómo afecta la temperatura el pH de una solución?
4. Complete la siguiente tabla:

$[H^+]$ moles/L	$[OH^-]$ moles/L	pH
1×10^{-4}	?	4
1×10^{-6}	1×10^{-8}	?
?	1×10^{-5}	9
3×10^{-8}	?	?

5. ¿Qué efecto, si alguno, puede tener la acumulación de metales alcalinos (ej. Al, Mn, Fe) sobre el pH de un cuerpo de agua?

-
6. Mencione las fuentes atmosféricas y edáficas que pueden afectar el pH de un cuerpo de agua.

 7. Se le pide que mida la productividad primaria de un ambiente acuático por medio de cambios en el pH, utilizando el sistema de botellas claras y oscuras. El método a utilizar se basará en la titulación de las muestras de agua con HCl (0.01N). Asuma que 1.0 ml de HCl (0.01N) es equivalente a 10 μ moles de CO₂. ¿Qué está usted midiendo al titular las muestras de agua con HCl?

 8. ¿En qué difiere el procedimiento señalado en la premisa anterior del método que emplea NaOH (0.01N) como titulante?

 9. Explique como cambios en la presión parcial de CO₂ en la atmósfera puede afectar el pH de un cuerpo de agua.

 10. Explique como la entrada de metales catiónicos a un cuerpo de agua puede afectar el pH de ese ambiente.

SEGUNDA PARTE

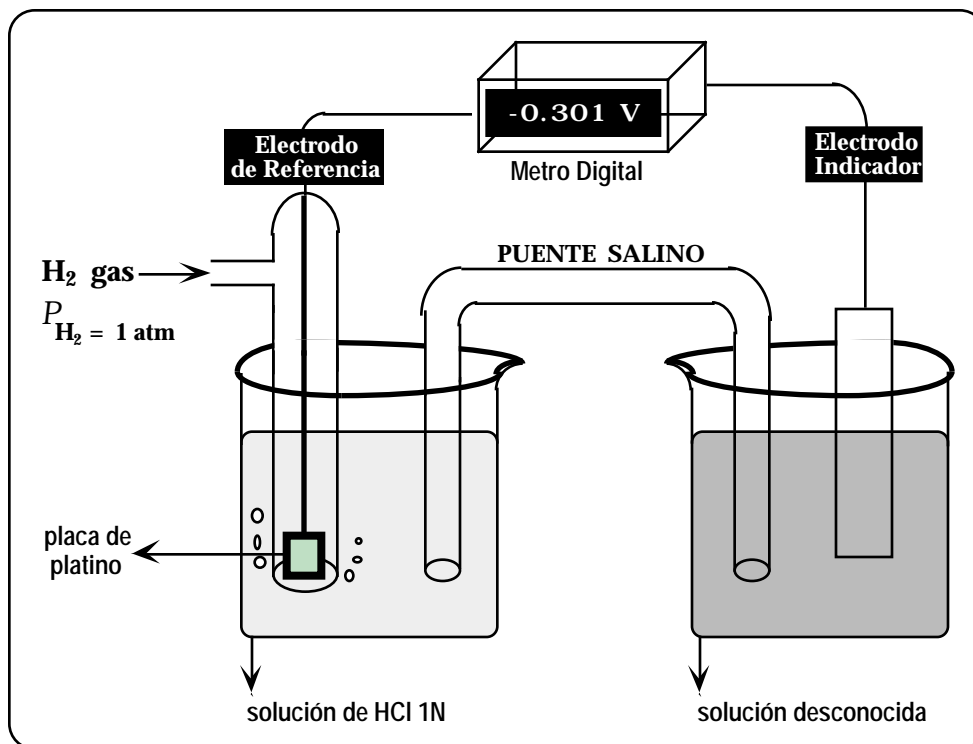
PARAMETROS FISICO-QUIMICOS: POTENCIAL OXI-REDUCCION

EL POTENCIAL REDOX (**Eh**) es un valor relativo medido contra el punto 0 del electrodo normal de hidrógeno (Figura 1) u otro electrodo secundario de referencia (ej. electrodo calomel de HgCl ó Hg₂Cl₂ ó el electrodo plata/plata cloruro: Ag/AgCl[sat], KCl[sat]). Cualquier sistema o ambiente que **accepte** electrones de un electrodo normal de hidrógeno es una media celda con un potencial redox positivo. En contraposición, cualquier ambiente o sistema que **done** electrones al electrodo normal de hidrógeno se define como una media celda con un potencial redox negativo. El potencial redox se mide en milivoltios o voltios. Un valor **Eh** positivo y de alta magnitud es indicativo de un ambiente que favorece las reacciones de oxidación. Del otro lado, un valor **Eh** negativo y de baja magnitud es indicativo de un ambiente altamente reductor.

Importancia ecológica:

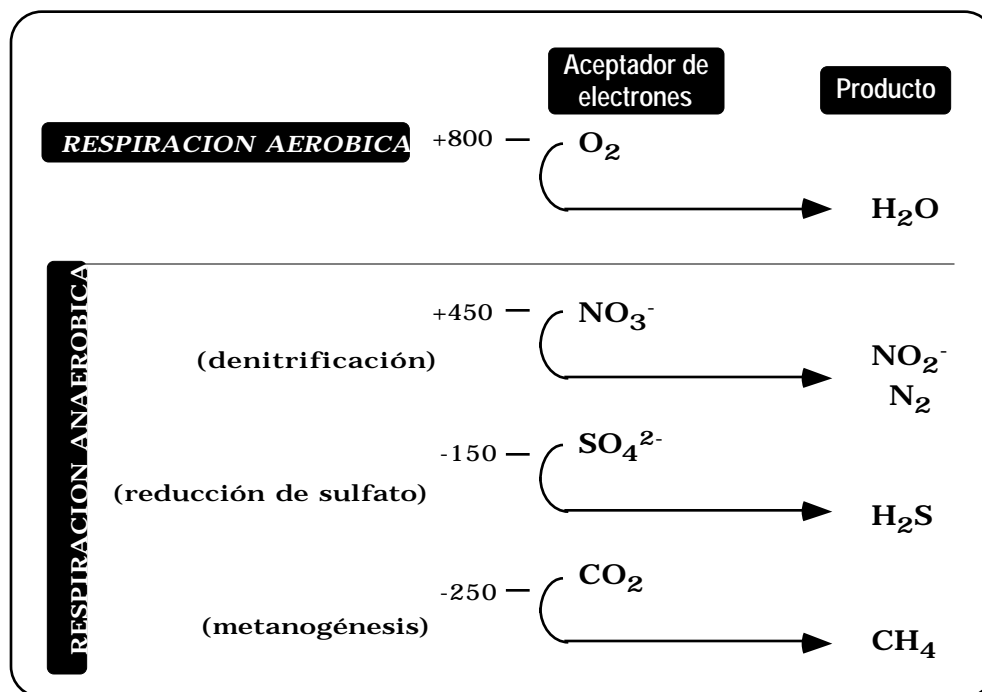
Las reacciones de oxidación y reducción regulan el comportamiento de muchos compuestos químicos presentes en cuerpos de agua naturales. La reactividad, solubilidad y movilidad cíclica de elementos esenciales para los sistemas biológicos (ej. Fe, S, N, C, P, y varios elementos metálicos) son afectados por cambios en el potencial redox. Al mismo tiempo, el potencial redox afecta la distribución y la actividad metabólica de microorganismos.

Figura 1: Electrodo normal de hidrógeno.



⚡ Por convención, se le ha asignado un valor de cero (0) al potencial del electrodo normal de hidrógeno, independientemente de la temperatura del sistema. En consecuencia, al medirse el potencial desarrollado en una celda galvánica formada por el electrodo normal de hidrógeno y un electrodo indicador, el potencial registrado será atribuido únicamente al electrodo indicador. La pareja redox en esta celda está integrada por hidrógeno molecular (H_2) (el agente reductor) y el ión hidronio (el agente oxidante). El flujo de electrones puede ser hacia el electrodo indicador (potencial con valores positivos) o hacia el electrodo de hidrógeno (potencial con valores negativos). La necesidad de una corriente de hidrógeno gaseoso para operar el electrodo normal de hidrógeno constituye un elemento de riesgo. Al mismo tiempo, la preparación y el mantenimiento de la placa de platino son procesos problemáticos. Por dichas razones, el electrodo normal de hidrógeno es substituido frecuentemente por electrodos de referencia secundarios más convenientes como: el electrodo calomel o electrodo de plata inmerso en una solución saturada de AgCl y KCl . El electrodo calomel y el electrodo de plata tienen un potencial de $+0.242\text{ V}$ y $+0.799\text{ V}$ respectivamente, comparados contra el electrodo de hidrógeno, a un pH 0. El electrodo indicador es un electrodo metálico inerte hecho de platino, oro, paladio o carbón. Refiérase a Skoog et al., 1992 y a Cole, 1993 para más detalles sobre este tópico.

Figura 2: Perfil vertical del potencial redox (mV) en sedimentos.



* Modificada de Lynch y Poole (1979).

◀El potencial redox en un perfil de sedimento puede indicarnos cuál aceptador inorgánico de electrones está siendo utilizado por miembros de la comunidad microbiana residente que llevan a cabo respiración anaerobia. Potencial redox: efecto en la distribución espacial y fisiología de microorganismos.

La distribución espacial de microorganismos aerobios y anaerobios está determinada principalmente por el potencial redox del ambiente. Los microorganismos **aerobios estrictos** son metabólicamente activos a potenciales redox positivos, mientras que los **anaerobios estrictos** (ej. metanobacterias) demuestran actividad metabólica, solo a potenciales redox negativos. Los microorganismos anaerobios facultativos demuestran actividad metabólica sobre un rango amplio de valores **Eh**. Estos utilizan oxígeno como aceptador final de los electrones a valores **Eh** altos. Cuando el potencial redox es bajo, algunos de estos microorganismos llevan a cabo reacciones de fermentación mientras otros obtienen energía a través de la respiración anaerobia.

Variaciones pequeñas en el potencial redox pueden ocasionar cambios en la nutrición y fisiología de determinados microorganismos. Una reducción en el potencial redox de la columna de agua puede causar que diatomeas bénticas cambien su patrón metabólico típico de autotrofia a uno de heterotrofia y que bacterias anaerobias facultativas cambien su patrón metabólico de una respiración aerobia a una respiración anaerobia o a reacciones de fermentación (Lynch y Poole, 1979).

Potencial redox: efecto en la solubilidad de micronutrientes esenciales:

Cambios en el potencial redox generan, a su vez, cambios en el estado redox de varios nutrientes esenciales (Figura 2). La solubilidad de muchos micronutrientes esenciales como el hierro (Fe) y el manganeso (Mn) es afectada por el estado redox de la molécula. Cuando el potencial redox es alto, hierro y manganeso existen en forma trivalente y tetravalente respectivamente (Fe^{3+} ; Mn^{4+}). Estas formas ionizadas son insolubles y no accesibles para el consumo microbiano. Las formas bivalentes de estos metales (Fe^{2+} y Mn^{2+}) se generan a potenciales bajos, son solubles en agua y fáciles de incorporar por los microorganismos. Las reacciones redox favorecen la disolución de algunas especies químicas (ej. $\text{Fe}(\text{OH})_3$ \rightarrow Fe^{2+}) y la inmovilización o escape de otras (ej. Fe^{2+} \rightarrow FeS ; CO_2 \rightarrow CH_4). El efecto de cambios en el potencial redox sobre la solubilidad y disponibilidad de otros nutrientes esenciales para los microorganismos, es discutido en la sección de **Nutrientes** de este manual.

Potencial redox: efecto en estado redox de nutrientes esenciales:

Generalmente, el potencial redox es afectado por la concentración de oxígeno disuelto. Según baja el potencial redox en aguas y sedimentos, se observa una disminución en la concentración de oxígeno disuelto y la reducción de iones y moléculas importantes para la nutrición de microorganismos y formas de vida superior (Tabla 1). Dicha relación es particularmente observada en ambientes acuáticos eutróficos, en cuerpos de agua con una estratificación termal marcada y en cuerpos de agua contaminados con altas concentraciones de materia orgánica oxidable. Ambientes de agua dulce en equilibrio con el oxígeno atmosférico, tienen valores E_h alrededor de +800 mV (0.8V), mientras que el potencial redox para aguas oceánicas superficiales generalmente oscila entre +400 y +435 mV (a un pH entre 7.6 y 8.3). Cuando la tensión de oxígeno en dichos ambientes disminuye, el potencial redox también baja.

Tabla 1:

Parejas Redox	E_h (milivoltios)*	Oxígeno Disuelto (mg/L)
NO_3^- - NO_2^-	+450 a +400	4.0
NO_2^- - NH_3	+400 a +350	0.4
Fe^{3+} - Fe^{2+}	+300 a +200	0.1
SO_4^{2-} - S^{2-}	-150 a -200	0.0
CO_2 - CH_4	-250 a -300	0.0

* E_h = potencial redox a pH 7

Datos tomados de Atlas y Bartha (1993); Lynch y Poole (1979).

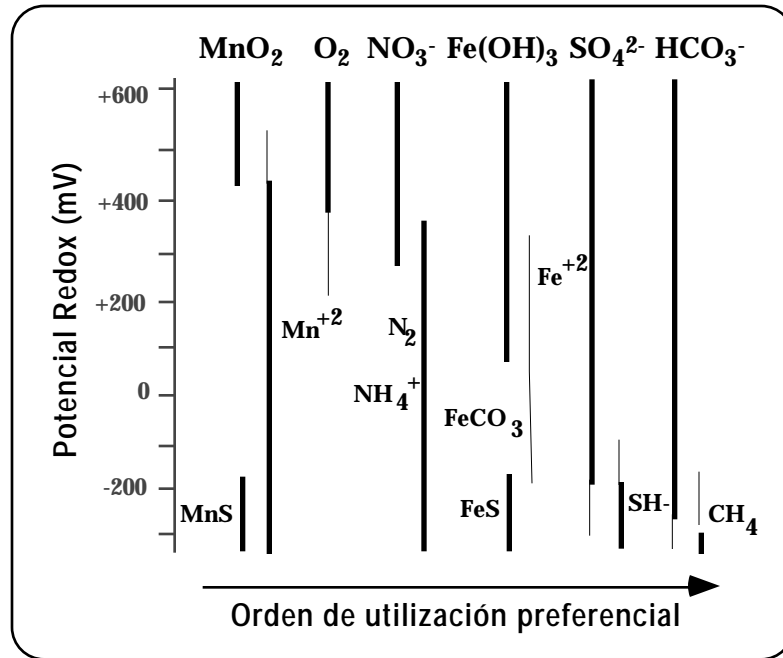
La actividad metabólica microbiana puede alterar el potencial redox como resultado de una respiración aeróbica intensa y de la secreción de sustancias reductoras. La descarga masiva de materia orgánica oxidable (ej. descargas de alcantarillado sanitario) en un cuerpo de agua tiene como consecuencia inmediata, un aumento dramático en la densidad de bacterias heterotróficas aerobias y anaerobias facultativas. Esto, a su vez, ocasiona un aumento en la actividad respiratoria y una disminución concomitante del oxígeno disuelto. Según disminuye la concentración del oxígeno disuelto y ante la ausencia de un agente oxidante fuerte alternativo, se favorece la reducción de aceptadores de electrones alternos, con un potencial redox menor al de oxígeno.

Potencial redox: efecto en la utilización preferencial de aceptadores de electrones:

Las poblaciones que integran una comunidad microbiana transferirán los electrones provenientes de la oxidación de materia orgánica al aceptador de electrones con el carácter más oxidante (Atlas y Bartha, 1993). En otras palabras, los microorganismos seleccionarán de los aceptadores de electrones disponibles, aquél que les permita obtener el mayor margen de ganancia energética de la oxidación del substrato orgánico que utilicen como fuente de carbono y energía (Figura 3). El mismo comportamiento lo observamos en organismos quimiolitotrofos, los cuales obtienen energía de la oxidación de materia inorgánica. Los microorganismos anaerobios facultativos bloquean sus rutas fermentativas o sus trayectos de reducción disimilatoria de nitratos o sulfatos (respiración anaerobia) en presencia de oxígeno (Atlas y Bartha, 1993). Bajo condiciones anaerobias y en ausencia del óxido de manganeso (MnO_2), nitrato (NO_3^-) resulta ser el aceptador de electrones más oxidante (Figura 4).

Cuando tenemos un substrato orgánico que puede ser utilizado como fuente de electrones, tanto por microorganismos reductores de nitrato, como por microorganismos reductores de sulfatos, los reductores de nitrato obtendrán la mayor ganancia energética de la oxidación del substrato. Eventualmente los reductores de nitrato dominarán sobre los reductores de sulfatos al generar una mayor cantidad de biomasa por unidad de substrato oxidado. El nitrato y el hierro son usualmente escasos en los sedimentos. Estos se agotan rápidamente, al ser utilizados como aceptadores de electrones alternos en la ausencia de oxígeno. Bajo dichas condiciones el sulfato (SO_4^{2-}) se convierte en el aceptador de electrones con el carácter más oxidante. Cuando bacterias metanogénicas compiten con bacterias reductoras de sulfato por hidrógeno gaseoso (H_2), como fuente de electrones, las metanogénicas demuestran una eficiencia de utilización menor y una demanda de consumo mayor del substrato, que las reductoras de sulfato (Lovley, 1985). En consecuencia, las bacterias metanogénicas no pueden competir de forma efectiva con las bacterias reductoras de sulfato, hasta tanto no se haya agotado el sulfato. Esto último ocurre con relativa rapidez en sedimentos de cuerpos de agua dulce con bajo contenido de sulfatos. Sin embargo, en sedimentos marinos, ricos en sulfatos, dicho proceso ocurre mucho más lentamente.

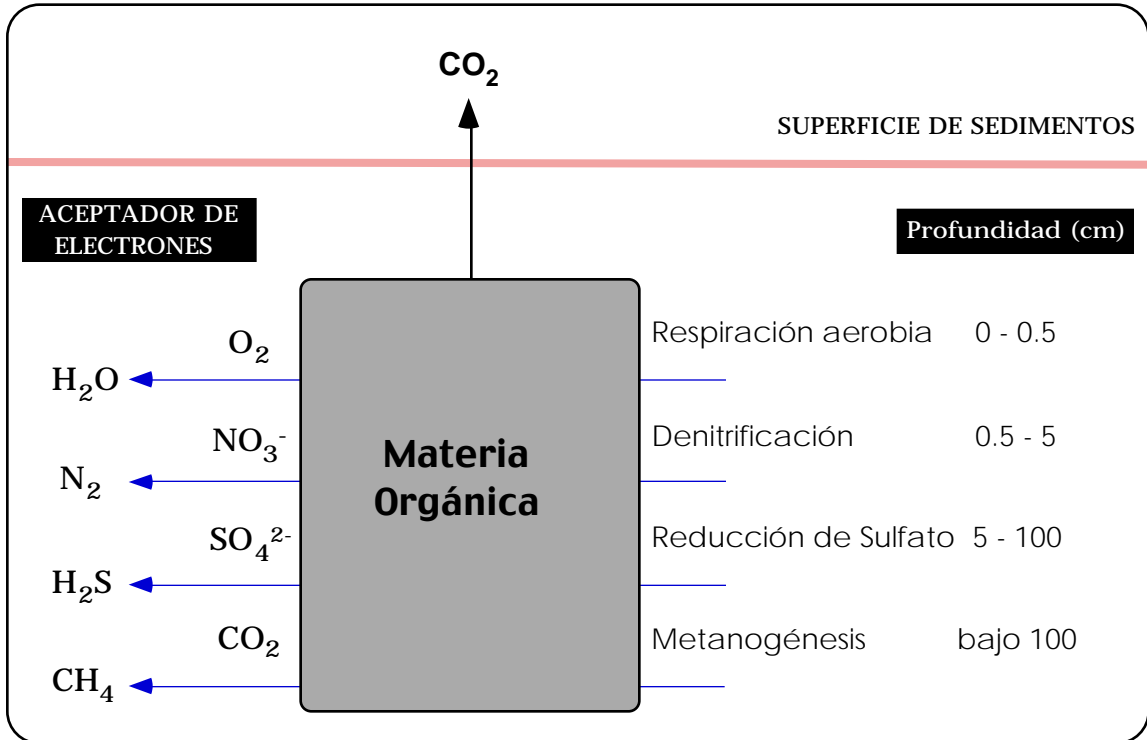
Figura 3: Rangos de potencial redox para la utilización de aceptadores alternos de electrones.



* Modificada de Atlas y Bartha (1993).
 Datos originales de Nedwell (1984).

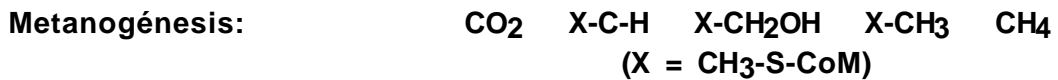
Los integrantes de una comunidad microbiana transferirán los electrones provenientes de la oxidación de materia orgánica, preferiblemente al aceptador de electrones con el caracter más oxidante (ej. el más electronegativo).

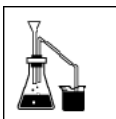
Figura 4: Secuencia de utilización de aceptadores de electrones en sedimentos marinos.



* Modificada de Atlas y Bartha (1993).

Se observa una estratificación vertical en la utilización de aceptadores de electrones. Los procesos de denitrificación, reducción disimilatoria de sulfato y metanogénesis envuelven las siguientes secuencias de reacciones:





METODOLOGIA

PROCEDIMIENTO A SEGUIR

POTENCIAL REDOX: HYDROLAB SURVEYOR

METRO de pH equipado con electrodos apropiados



PREGUNTAS...

1. Explique la siguiente aseveración: los ciclos biogeoquímicos de nitrógeno y azufre funcionan a base de reacciones de oxi-reducción.
2. ¿Qué valores esperaría usted para el potencial redox de cada uno de los siguientes hábitats: (positivo o negativo, ¿por qué?).
 - a. salitral
 - b. charca de oxidación
 - c. el hipolimnio de un manantial termal
 - d. una corriente alpina oligotrófica
3. Describa el efecto que pueden tener los procesos de respiración aeróbica y fotosíntesis, si alguno, sobre el potencial redox de un cuerpo de agua.
4. Al estudiar la calidad del agua en una charca de oxidación usted encuentra que el potencial redox en el fondo de la charca es de -300 mV. Describa las condiciones que usted esperaría encontrar en dicho cuerpo de agua con relación a los siguientes parámetros: describa si las concentraciones serían altas ó bajas y por qué.
 - a. oxígeno disuelto
 - b. Fe^{3+}
 - c. H_2S
 - d. NO_3^-

SEGUNDA PARTE

PARAMETROS FISICO-QUIMICOS: SALINIDAD

LA SALINIDAD ES UNA propiedad importante de aguas usadas industriales y de cuerpos de agua naturales. Originalmente este parámetro se concibió como una medida de la cantidad total de sales disueltas en un volumen determinado de agua. Dado que la determinación del contenido total de sales requiere de análisis químicos que consumen mucho tiempo, se utilizan en substitución métodos indirectos para estimar la salinidad. Se puede determinar la salinidad de un cuerpo de agua a base de determinaciones de: conductividad, densidad, índice de refracción ó velocidad del sonido en agua (APHA-Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 1992).

La **Tabla 1** nos presenta la abundancia relativa de los iones más comunes en cuerpos de agua dulce y en aguas oceánicas. Los iones y los elementos presentes en cuerpos de agua naturales se originan de procesos de mineralización y desgaste de las rocas que forman la corteza terrestre y de emanaciones del manto terrestre, a través de la actividad volcánica. El agua de mar está compuesta en promedio de un **96.52%** de agua y un **3.49%** de sustancias disueltas (mayormente sales). La abundancia relativa de los iones es constante en aguas oceánicas bien mezcladas. No obstante, hay variaciones en el contenido total de sales entre aguas oceánicas de latitudes altas y bajas. Al mismo tiempo, hay diferencias en la salinidad a lo largo del perfil de profundidad. El contenido de los iones de Cl^- , $\text{SO}_4^{=}$, Ca^{++} , Mg^{++} , Na^+ , y K^+ representa más del 99% del total de sales en el océano. El ión de sodio es el catión más abundante en agua de mar (aproximadamente 30.4%), mientras que el ión cloruro es el anión principal

(aproximadamente 55.2%). Los constituyentes menores del agua de mar están indicados en la **Tabla 2**. Es conveniente aclarar que la composición iónica de los lagos salados, originados por la evaporación de agua dulce, es muy diferente a la del océano. En agua de mar el cloruro de sodio es la sal dominante, mientras que en los lagos salados predominan las sales de calcio, magnesio, sulfatos y carbonatos.

Tabla 1: Composición de iones para cuerpos de agua dulce y agua salada.

iones	Agua Dulce (mg/L)	Agua de Mar (mg/L)
Aniones:		
CO₃⁼	58.4	140
SO₄⁼	12.2	271
Cl⁻	7.8	19,440
TOTAL	77.4	22,290
Cationes:		
Ca⁺⁺	15.0	410
Mg⁺⁺	4.1	1,300
Na⁺	6.3	10,810
K⁺	2.3	390
TOTAL	27.7	12,910

* Datos tomados de Webber y Thurman (1991).

Las concentraciones de iones para cuerpos de agua dulce representan valores promedios para ríos. No obstante, es conveniente aclarar que hay una variación significativa de un cuerpo de agua dulce a otro, como resultado de diferencias en condiciones climáticas, geografía, topografía actividad biológica y el momento seleccionado para hacer el análisis. El suelo y el desgaste o mineralización de rocas son fuentes edáficas de iones para los cuerpos de agua dulce y eventualmente para los cuerpos salados.

Las sales presentes en agua de mar pueden ser agrupadas en dos categorías: elementos conservativos y elementos no-conservativos. En el primer grupo se incluyen todas aquellas sales que presentan una concentración relativamente constante en cualquier ambiente. Los elementos no-conservativos presentan variaciones en su concentración relativa de tipo temporal y espacial. Dichas variaciones responden mayormente a la incorporación selectiva de dichos elementos por parte de los componentes bióticos del ecosistema. Nitrógeno (en forma de nitratos), fósforo (en forma de fosfatos) y el silicio, resultan ser los elementos no-conservativos más importantes del ambiente marino. Nitrógeno y fósforo resultan ser nutrientes esenciales para todo organismo y factores limitantes de la productividad primaria en el ambiente

marino, dada sus bajas concentraciones. La concentración de fósforo y nitrógeno en áreas costeras que reciben el impacto de actividades antropogénicas (ej. descargas de aguas usadas provenientes de industrias plantas de tratamiento de desperdicios domésticos y municipales) puede ser relativamente altos, dando margen a la contaminación y una alta tasa de productividad primaria en dichas áreas. Por otro lado, el silicio es un nutriente esencial para los fototrofos con paredes formadas por silicatos (ej. diatomeas) y para heterotrofos con cubiertas o esqueletos externos formadas por silicatos (radiolarios, silicoflagelados, esponjas silíceas). Este nutriente es, a su vez, un factor limitante para la actividad fotosintética de diatomeas, dada su baja solubilidad en agua.

Tabla 2: Constituyentes inorgánicos menores del agua de mar.

ELEMENTO	CONCENTRACION (ppm)*
Br	65
C	28
Sr	8
B	4.6
Si	3
F	1
Elementos traza (N₂, Li, Rb, P, I, Fe, Zn, Mo)	< 1 ppm

* ppm (mg/L)

◀ Dentro de los constituyentes menores del agua de mar encontramos elementos no-conservativos como el silicio, nitrógeno (nitratos), y el fósforo (fosfatos). Estos son a su vez factores limitantes de la productividad primaria.

La mayoría de las otras sustancias químicas que son esenciales para los organismos vivos (ej. Mg, Fe, Cu, I, Fl, B, Zn, Mn Co, Ni, Mo) no son consideradas como factores limitantes en el ambiente marino, aún cuando están presentes en cantidades trazas. Una excepción a esta norma lo constituye el vanadio. El caso del vanadio resulta interesante por cuanto las formas ionizadas de este metal son tóxicas para muchas formas de vida incluyendo los microorganismos. La abundancia de organismos como los tunicados y algunos holoturianos, los cuales concentran vanadio en sus fluidos, puede verse limitada por la escasez de dicho elemento en el ambiente marino (McConnaughey, 1978).

Los cuerpos de agua se pueden tipificar de acuerdo con su contenido total de sales (**Tabla 3**). Los rangos establecidos para identificar las diferentes categorías no son absolutos. Estos representan límites arbitrarios que nos ayudan a distinguir un ambiente de otro.

Tabla 3: Clasificación cuerpos de agua en función de la salinidad.

SALINIDAD (‰)	Tipo de agua
0 - 0.5	agua dulce
0.5 - 3.0	agua salobre oligohalina
3.0 - 10	agua salobre mesohalina
10 - 17	agua salobre polihalina
17 - 30	agua de mar oligohalina
30 - 34	agua de mar mesohalina
34 - 38	agua de mar polihalina
38 - 150	salmuera
> 150	hipersalina

Efectos de la salinidad en propiedades químico-físicas del agua:

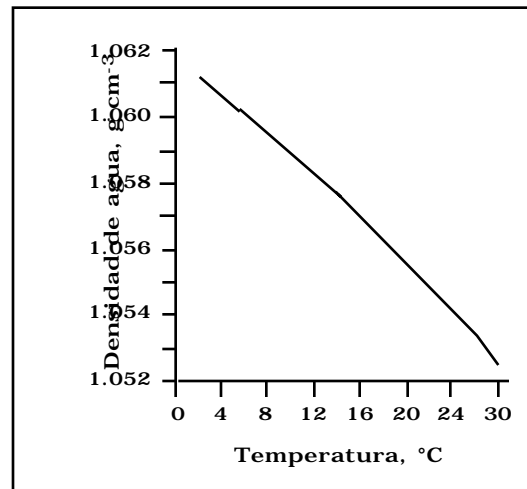
La cantidad de sales en solución afecta varios procesos físicos importantes, así como propiedades importantes del agua y de sustancias disueltas en agua tales como: densidad, viscosidad, tensión superficial, presión osmótica, punto de fusión, punto de ebullición y solubilidad de gases.

Densidad:

Los cuerpos de agua salados tienden a desarrollar una estratificación termal con mayor facilidad que los cuerpos de agua dulce. Esto se debe a que los cambios en densidad generados a lo largo de un gradiente de temperatura son más pronunciados en agua salada que en agua dulce (Figura 1).

Por otro lado, según aumenta la concentración de sales disueltas, disminuye la temperatura a la que se alcanzan la densidad máxima y el punto de congelación del agua (Figura 2). Dado que las sales no pueden acomodarse dentro de la estructura láctice del hielo, su presencia tiende a inhibir la congelación. De ahí que, aguas con una salinidad de un 3.2% comiencen a congelarse a -1.74°C (Gross, 1971). Según el agua comienza a congelarse se excluyen las sales, de tal forma que el agua remanente en estado líquido presenta una salinidad mayor y por consiguiente, un punto de congelación menor (Lynch and Poole, 1979). En consecuencia, no le podemos asignar un punto de congelación fijo al agua de mar.

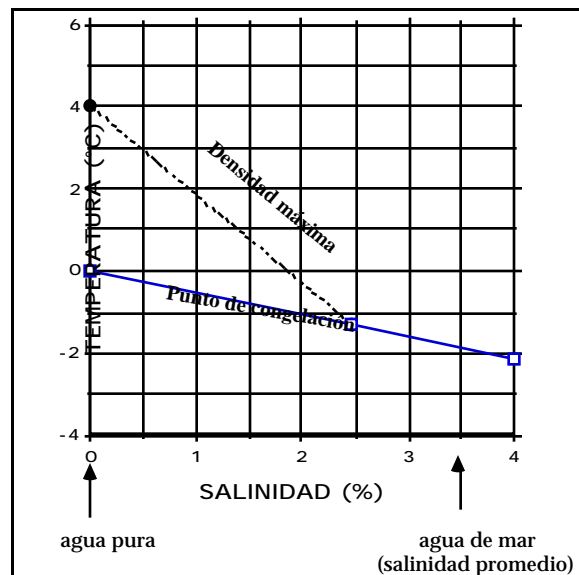
Figura 1: Efecto de cambios en temperatura en la densidad de agua salobre (salinidad 7%).



* Modificada de Horne y Golman (1994).

La curva es mucho más pronunciada que la que se observa para agua dulce (ver Figura 6, unidad de *Temperatura*). Es importante notar que no hay un punto de inflexión a 4°C, temperatura a la cual se observa la densidad máxima de agua dulce.

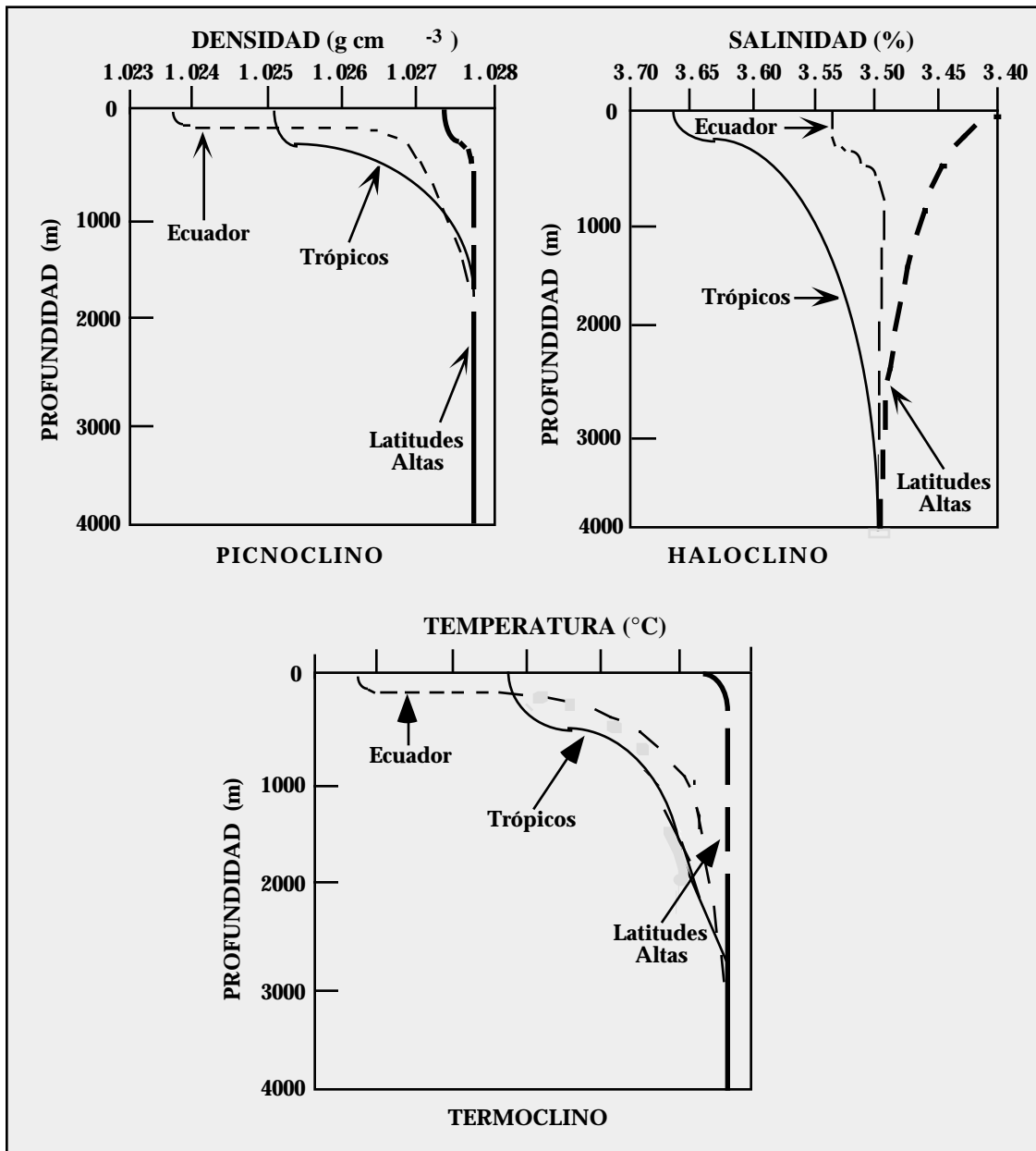
Figura 2: Efecto de la salinidad sobre el punto de congelación del agua y sobre la temperatura a la que el agua alcanza su mayor densidad.



* Modificada de Gross (1971).

En el caso del agua de mar, la alta concentración de sales parece prevenir la expansión de volumen que se observa en agua pura. Según ésta se acerca a su punto de congelación. El agua de mar, con una salinidad promedio de 3.5% aumenta en densidad según la temperatura disminuye hasta que alcanza su punto de congelación.

Figura 3: Perfiles verticales de densidad, salinidad y temperatura en aguas oceánicas de diferentes latitudes.



* Modificada de Webber y Thurman (1991).

El agua de mar es, pues, significativamente más densa que el agua dulce, debido a que las sales disueltas incrementan la densidad del agua. La diferencia en densidad entre cuerpos de agua que presentan diferencias substanciales en salinidad es patente en aquellas áreas donde agua dulce, proveniente de un río, entra al océano. En estas áreas conocidas con el nombre de estuarios, se forma una capa superficial de agua dulce que se mezcla muy lentamente con el agua de mar. El agua salada, siendo más densa, se

extiende por debajo de la corriente de agua dulce, formando una cuña de agua de mar. Dicha cuña se puede desplazar corriente arriba en el río, dependiendo de la morfometría del estuario, la velocidad y turbulencia del flujo de agua dulce, y la altura y energía del oleaje en el mar. Refiérase a: Horne y Goldman (1994); Cole, (1983) para una descripción detallada de los sistemas estuarinos.

La salinidad, y por ende la densidad, de aguas oceánicas también varía a lo largo del perfil de profundidad y de una latitud a otra (Figura 3). El calentamiento de las aguas superficiales por la radiación solar afecta la distribución de la temperatura, salinidad y densidad en la columna de agua. Los valores que se registran de estos tres parámetros en aguas superficiales se extienden por aproximadamente los primeros 200 metros de profundidad (zona de mezcla del océano). A partir de ± 200 metros de profundidad se producen cambios rápidos en temperatura y salinidad que a su vez repercuten en cambios rápidos en la densidad del agua. Las zonas de cambio rápido se conocen con los nombres de **picnoclino (gradiente densidad)**, **haloclino (gradiente de salinidad)** y **termoclino (gradiente de temperatura)**. Hay también variaciones significativas en los perfiles verticales de los tres parámetros antes mencionados, según nos trasladamos de un área climática a otra. Dichas variaciones en el perfil vertical entre latitudes geográficas y las variaciones a lo largo del perfil de profundidad en una localidad impactan la fisiología, reproducción, morfología, distribución, diversidad y el comportamiento de los organismos superiores y microorganismos que habitan en el ambiente oceánico. Al mismo tiempo, dichas variaciones generan cambios en otras propiedades del agua, afectan los patrones de circulación de masas de aguas oceánicas y en consecuencia, afectan la translocación vertical de nutrientes en la columna de agua y el movimiento horizontal del plancton y nutrientes (Webber y Thurman, 1991).

Viscosidad:

La viscosidad del agua es otro parámetro afectado por los cambios en salinidad. La viscosidad es afectada por dos variables: **temperatura** y **salinidad**. La viscosidad del agua aumenta con la salinidad, pero es más afectada por la disminución en temperatura (vea unidad de **Temperatura** en este manual).

Los cambios en viscosidad del agua pueden afectar el desplazamiento de organismos, así como la sedimentación de material particulado y microorganismos sésiles. El aumento en densidad y viscosidad del agua generados por una disminución en temperatura y aumentos en la salinidad pueden dificultar el movimiento de microorganismos móviles. Estos tendrían que invertir una mayor cantidad de energía para vencer la resistencia que les ofrece el medio. Dicha demanda de energía se torna crítica, cuando los nutrientes escasean o los microorganismos enfrentan temperaturas bajas que reducen su actividad metabólica.

Para los organismos sésiles, su caída a través de masas de agua más densas puede significar una reducción en su velocidad de sedimentación. La razón de sedimentación de un organismo depende de tres factores principales: tamaño del organismo, la diferencia en densidad entre el organismo y el medio acuoso que le rodea y la viscosidad (Lynch and Poole, Webber y Thurman, 1991). Para microorganismos y material particulado microscópico, la relación entre dichos tres factores está expresada en la Ley de Stokes :

$$V_i = \frac{2}{9} r^2 g \frac{(p_r - p_a)}{h}$$

...(donde V es la velocidad de sedimentación; r es el radio del organismo o partícula; p_r es la densidad del organismo o partícula; p_a es la densidad del fluido a través del cual cae el organismo o partícula, g es la aceleración debido a la gravedad y h es la viscosidad del medio). Dicha ley plantea que mientras más pequeño es un organismo menor será su velocidad de sedimentación.

Por otro lado, es también un hecho que el movimiento browniano se reduce significativamente en soluciones viscosas. El movimiento browniano puede ser una contrafuerza a la gravitación, que permite a microorganismos sésiles (con tamaños menores a 4 μm) y partículas coloidales, evitar su caída a los sedimentos por largos periodos de tiempo.

Algunos microorganismos fotosintéticos sésiles (ej. algunas cianobacterias) han desarrollado la capacidad de controlar su posición en la columna de agua, utilizando vesículas de gas (Walsby, 1977, 1994; Horne y Golman, 1994). Las vesículas de gas le permiten a estos microorganismos modular su densidad, para responder adecuadamente a cambios en la intensidad lumínica y disponibilidad de nutrientes limitantes (ej. CO_2 , nitrógeno y fósforo). De igual forma, muchas algas planctónicas aumentan su área superficial produciendo espinas o proyecciones externas sobre su superficie celular (Lynch and Poole, Webber y Thurman, 1991). Dichas proyecciones pueden reducir su velocidad de sedimentación aumentando su resistencia al desplazamiento o caída a través de la columna de agua. Otros organismos se valen de la acumulación de lípidos para disminuir su densidad y así contrarrestar la fuerza gravitatoria (Webber y Thurman, 1991).

Tensión superficial:

Las sales disueltas, en adición a aumentar la densidad del agua y la viscosidad, también aumentan la tensión superficial. En ambientes marinos un gran número de organismos vive en la interfase agua - aire (el área se extiende de la superficie a unos pocos milímetros de profundidad). Los organismos que ocupan dicho hábitat se conocen con

el nombre de **neuston**. Dada la alta tensión superficial de esta zona, se acumulan en ella una mayor concentración de sales y materia orgánica disuelta (lípidos, ácidos grasos, polisacáridos), que en la columna de agua. La acumulación de materia orgánica disuelta o adherida a partículas que flotan en la superficie sostiene poblaciones bacterianas con densidades que pueden ser de 10 a 1000 mayores a las densidades registradas en aguas bajo la superficie. Las bacterias en el neuston, son a su vez fuente de alimento para poblaciones de zooplanton (protozoarios, copépodos) y etapas larvales de crustáceos. Estos organismos junto con las bacterias son a su vez fuente de alimento para organismos que "caminan sobre la superficie" o que flotan. Dicho grupo incluyen insectos marinos (ej. "water strider"-*Halobates*), gastrópodos pelágicos (ej. caracoles de géneros *Glaucus* y *lanthina*, producen burbujas de gas que se adhieren a su pie muscular) y cnidarios (ej. *Physalia*-"Portuguese-man-of-war") (Webber y Thurman, 1991).

Presión osmótica:

La presión osmótica del agua aumenta proporcionalmente con aumentos en la salinidad. Cambios en la salinidad pueden ocasionar efectos osmóticos letales. Se han identificado tres grupos de organismos halófilos a base de su preferencia por determinadas concentraciones de sal: (i) **halófilos halodúricos** (concentración óptima de sal, 2 a 5%); (ii) **halófilos moderados** (concentración óptima de sal, 5 a 20%) y (iii) **halófilos extremos** (20 a 30%) (Tsai et al., 1995). Ingram (1957) demostró que los organismos halófilos se encuentran en equilibrio osmótico con su ambiente. En otras palabras, ellos tienen en su protoplasma la misma concentración de sales que hay en el medio externo. El estudio de los requerimientos nutricionales de bacterias marinas, ha revelado que dichas bacterias requieren de iones de sodio para su crecimiento. Esto implica que la necesidad de sales para crecer va más allá de establecer un equilibrio ósmótico con su ambiente, sino que también existe una necesidad por componentes iónicos muy particulares.

Las bacterias marinas generalmente están adaptadas a los rangos de salinidad que presenta su ambiente ($\pm 3.5\%$). Cambios moderados en salinidad pueden generar cambios morfológicos y fisiológicos. Se ha observado, por ejemplo, que bacterias con forma de bacilos cortos forman filamentos alargados cuando la salinidad aumenta. También se ha observado que un aumento en la salinidad inhibe la oxidación bacteriana de ácidos orgánicos y azúcares (Rheinheimer, 1974). Una disminución en salinidad y por ende, una baja en las concentraciones del ión de sodio también provocan efectos osmóticos que pueden culminar en muerte celular o alteraciones morfológicas y fisiológicas. Los organismos que habitan en cuerpos de agua interiores salobres, en estuarios y en salitrales naturales o artificiales están expuestos a cambios significativos en salinidad. Por un lado, la precipitación pluvial, las escorrentías y los aportes de ríos ocasionan bajas en la salinidad. Por otro lado, la evaporación de agua, en áreas expuestas a una alta irradiación solar y bajos niveles de precipitación, provoca aumentos

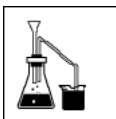
significativos en la salinidad. Aunque en el ambiente marino, las variaciones en salinidad son de mucho menor magnitud, éstas se pueden producir como resultado de: la mezcla de masas de agua con salinidades diferentes, la formación de precipitados insolubles que se hunden al suelo oceánico y la difusión de una masa de agua a otra. En el ambiente marino las salinidades son más variables cerca de la interfase agua-aire.

Solubilidad de gases:

Aumentos marcados en la salinidad de un cuerpo de agua afectan la solubilidad de gases disueltos. Tal es el caso del oxígeno en los salitrales, donde la salinidad puede alcanzar valores mayores a 30%. La alta concentración de sales sumada a las altas temperaturas que se registran en dichos ambientes, explican el carácter anóxico de las charcas de evaporación solar. Las sales disueltas excluyen a las moléculas de oxígeno, al reducir los espacios intermoleculares disponibles reduciendo así la solubilidad de este gas en agua. En términos generales, en el agua de mar se registra una reducción de un 20% en los valores de saturación de gases disueltos, en comparación con los valores de saturación que se observan para el agua destilada.

Componentes bióticos en ambientes hipersalinos:

Los ambientes hipersalinos son considerados generalmente como ecosistemas con una baja diversidad de especies. Estos se consideran hábitats dominados por microorganismos procariontes (Javor, 1984). No obstante, aún se conoce muy poco de la cantidad de especies de bacterias halófilas que coexisten en un mismo escenario ambiental. Se han identificado algunas arqueobacterias (ej. *Halobacterium*) y algas (ej. *Dunaliella*) como habitantes autóctonos de ambientes hipersalinos (ej. salitrales naturales, charcas de evaporación solar y lagos salados). Estos organismos, considerados halófilos extremos, son aparentemente permeables a la sal y sus enzimas están adaptadas a las condiciones de alta salinidad. Dichas enzimas requieren de sodio u otro catión para mantener su actividad catalítica. Las arqueobacterias del género *Halobacterium* requieren iones de sodio para estabilizar su envoltura celular e iones de potasio para estabilizar la estructura y función de sus ribosomas. Para una descripción del ambiente físico y de los componentes bióticos de los salitrales en Puerto Rico refiérase a la Guía Ilustrada de Plancton (Molinary y Fuentes, 1995).



METODOLOGIA

Tradicionalmente se ha estimado la salinidad de ambientes acuáticos midiendo la concentración del ión más abundante: el ión cloruro. La determinación de la concentración del ión cloruro en agua se conoce con el nombre de clorinidad. A partir de la determinación de clorinidad se puede calcular la salinidad de un cuerpo de agua utilizando la siguiente expresión:

$$\text{Salinidad (\%)} = 0.03 + (1.805 \times \text{Clorinidad, \%})$$

La clorinidad se puede determinar utilizando el método argentométrico. La concentración del ión cloruro se determina titulando el agua con una solución de nitrato de plata. El punto de equivalencia de la titulación se determina utilizando cromato de potasio. Otro método utilizado en el pasado es el método hidrométrico. En el método hidrométrico la salinidad es determinada midiendo la gravedad específica del agua con un hidrómetro. Es necesario corregir la medida por la temperatura que registra la solución. La gravedad específica se convierte a salinidad por medio de tablas de densidad/salinidad. La gravedad específica de una sustancia es su densidad relacionada a la densidad de agua pura. Para una descripción detallada de estos métodos refiérase a ediciones del "APHA-Standard Methods" previas a la 18va. edición (1992). Hoy día, cuando se requieren determinaciones de gran precisión, se utilizan métodos basados en medidas de la conductividad o la densidad del agua. El método de conductividad eléctrica es el de mayor precisión, pero responde solamente a solutos iónicos. El método basado en determinaciones de densidad, aunque es menos preciso, responde a todos los solutos disueltos. La salinidad también puede ser estimada con relativa facilidad, aunque con poca precisión, utilizando un refractómetro. A continuación se presentan instrucciones detalladas para utilizar dicho instrumento. Las Figuras **4a - 4d** ilustran el uso correcto del refractómetro.

Instrucciones para el uso del Refractómetro:

1. El refractómetro (**Figura 4a**) es un instrumento óptico delicado. Manéjelo con cuidado, evitando que sufra golpes. Proteja el instrumento de calor excesivo y de cambios drásticos en humedad. Guarde el refractómetro en su estuche cuando no esté en uso.

2. Proceda a retraer la cubierta plástica translúcida que cubre el lente (área de cristal pulido), en la parte posterior del refractómetro. De ser necesario, limpie cuidadosamente la superficie del lente con papel de lente, removiendo cualquier mancha o residuo.
3. Tome una alícuota de su muestra de agua, utilizando un gotero (preferiblemente de plástico). Coloque una o dos gotas sobre el lente, evitando tocar la superficie del mismo con la punta del gotero (Figura 4b).
4. Regrese suavemente la cubierta plástica a su posición inicial, evitando la formación de burbujas o espacios de aire entre el lente y la cubierta (Figura 4c).
5. Colóquese de frente al sol o a una fuente de iluminación artificial si trabaja su muestra en el laboratorio y observe a través del ocular del refractómetro. Oriente el refractómetro con respecto a la fuente de iluminación de tal forma que pueda distinguir con claridad una escala numérica en el hemisferio **este** del lente. La escala está calibrada para leer salinidad en partes por mil (‰). Al mismo tiempo notará que su campo de visión está dividido en un hemisferio **norte** de color opaco y un hemisferio **sur** translúcido. La línea horizontal donde intersectan ambos hemisferios será su marcador de salinidad en la escala numérica. El punto donde dicha línea intersecta la escala numérica indica la salinidad de su muestra (Figura 4d).
6. Una vez ha realizado su medida de salinidad, levante la cubierta plástica. Remueva la muestra de agua del lente y de la cara interna de la cubierta plástica lavando con agua destilada y luego secando cuidadosamente con papel de lente. Regrese la cubierta plástica a su posición original. Al terminar de utilizar el refractómetro recuerde limpiar el mismo, colocarlo en su estuche y guardarlo en un lugar apropiado.

Figura 4a

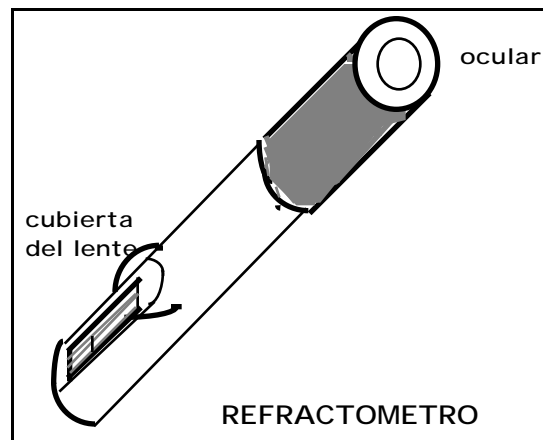


Figura 4b

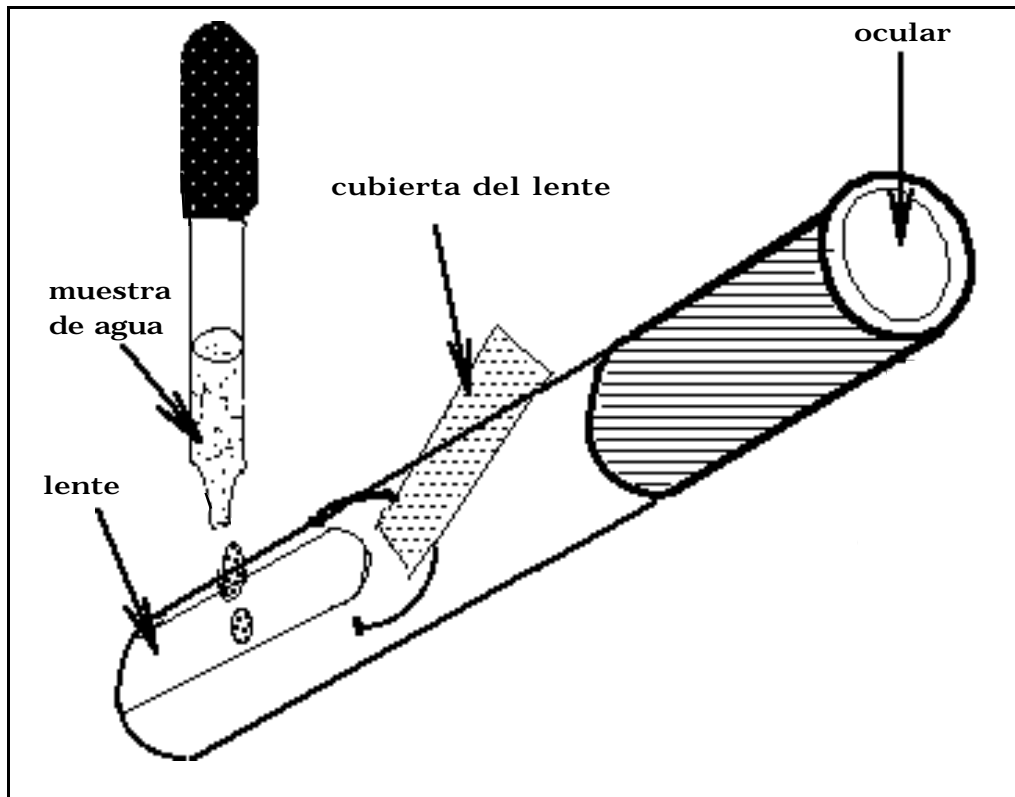


Figura 4c

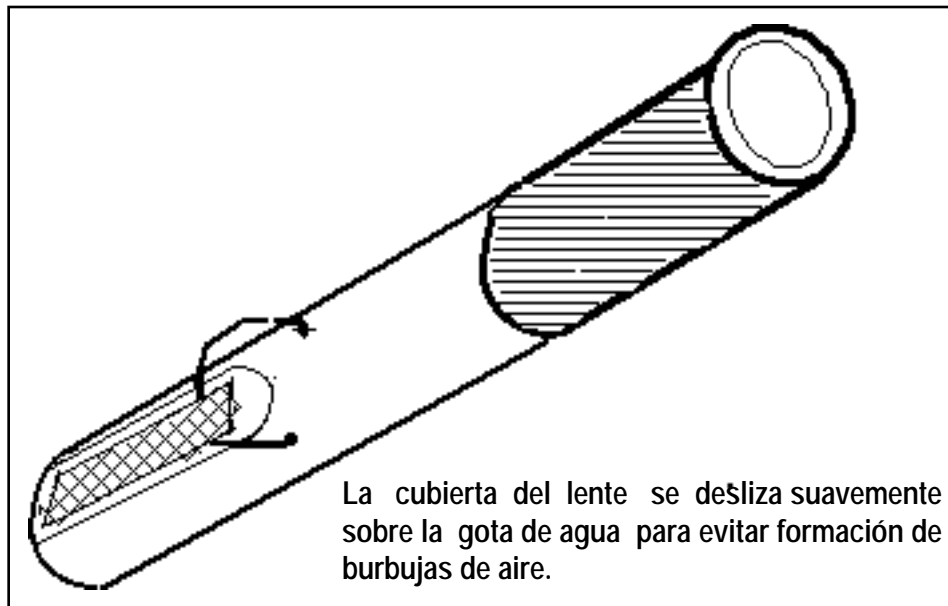
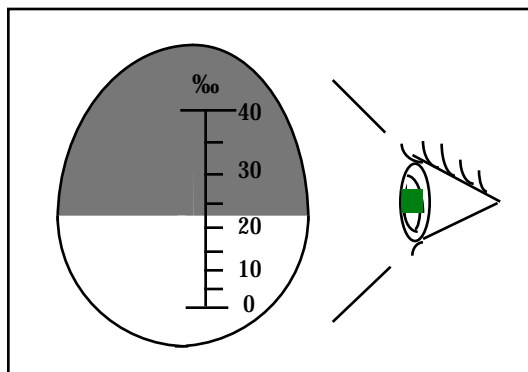


Figura 4d



Estimados de salinidad a base de determinaciones de conductividad:

Para convertir los valores de conductividad específica a valores de salinidad en partes por mil (‰), se pueden utilizar nomógrafos. Estas gráficas nos permiten determinar la salinidad de un cuerpo de agua si conocemos la temperatura y la conductividad específica del agua (Kevern, 1989).

PROCEDIMIENTO A SEGUIR

SALINIDAD:

METRO DE CONDUCTIVIDAD Y SALINIDAD

HIDROLAB SURVEYOR - Método de conductividad

REFRACTOMETRO



PREGUNTAS...

1. ¿Cómo podría usted determinar que uno de los componentes químicos (inorgánico u orgánico) presentes en un cuerpo de agua natural es un factor limitante dentro de dicho habitat?
2. Al aumentar la salinidad de un cuerpo de agua, indique qué propiedades del agua pueden verse afectadas y en qué forma se alteran las mismas.

SEGUNDA PARTE

PARAMETROS FISICO-QUIMICOS: SOLIDOS DISUELTOS TOTALES

EL TERMINO **SOLIDOS** HACE alusión a materia suspendida o disuelta en un medio acuoso. La determinación de sólidos disueltos totales mide específicamente el total de residuos sólidos filtrables (sales y residuos orgánicos) a través de una membrana con poros de 2.0 μm (o más pequeños). Los sólidos disueltos pueden afectar adversamente la calidad de un cuerpo de agua o un efluente de varias formas. Aguas para el consumo humano, con un alto contenido de sólidos disueltos, son por lo general de mal agrado para el paladar y pueden inducir una reacción fisiológica adversa en el consumidor. Por esta razón, se ha establecido un límite de 500 mg/L de sólidos disueltos para el agua potable en los Estados Unidos. Los análisis de sólidos disueltos son también importantes como indicadores de la efectividad de procesos de tratamiento biológico y físico de aguas usadas.

El promedio de sólidos disueltos totales para los ríos de todo el mundo ha sido estimado en alrededor de **120 ppm** (Livingston, 1963). En el caso de los lagos, los valores de sólidos disueltos presentan una gran variación. La **tabla 1** presenta valores de sólidos disueltos para cuerpos de agua con diferencias significativas en términos de status nutricional y salinidad.

De acuerdo con Rawson (1951) y Hooper (1951) las concentraciones de sólidos disueltos totales guardan una correlación positiva con la productividad en lagos. Al

mismo tiempo los sólidos disueltos afectan la penetración de luz en la columna de agua y la absorción selectiva de los diferentes largos de onda que integran el espectro visible (refiérase a la unidad de **Luz**).

Tabla 1: Medidas de sólidos disueltos en varios ambientes.

CUERPO DE AGUA	CONDICION NUTRICIONAL	SOLIDOS DISUELTOS TOTALES (ppm)
Lago Waldo (Oregon)	ultraoligotrófico	1.0 ~ 5.0 (Prom. = 1.7)
Lago Itasca (Minnesota)	eutrófico	~ 185
Agua de mar	oligotrofico	~ 35,000
Gran Lago Salado (Utah)	hipersalino	~ 220,000

* Datos tomados de Livingstone (1963); Malueg y otros (1972); Cole (1983).

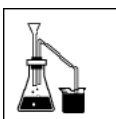
La determinación de sólidos disueltos totales se basa en filtrar un volumen de agua conocido (100 ml es un volumen conveniente para agua dulce, para ambientes hipersalinos se utilizan generalmente volúmenes de 25 ml) para luego evaporarlo a 105°C, hasta que alcance un peso constante. A continuación, se procede a pesar el residuo filtrable que permanece luego de la evaporación. Dicho valor representa la concentración de sólidos disueltos totales. En el caso de muestras de agua provenientes de ambientes salinos se puede determinar el contenido de sólidos filtrables inorgánicos y orgánicos quemando la muestra, luego de ser previamente filtrada y evaporada. Al quemar la muestra utilizando temperaturas entre 500 y 550°C queda sólo la ceniza inorgánica. La pérdida en peso de la muestra representa el contenido de materia orgánica.

Un método alternativo y más sencillo consiste en estimar los sólidos disueltos totales utilizando la medida de conductividad del agua. Se ha encontrado que existe una correlación directa entre conductividad y concentración de sólidos disueltos totales (TDS, por sus siglas en inglés) para cuerpos de agua dulce y salobres. Dicha correlación no se extiende a ambientes "hipersalinos" (salinidad > 5%), donde la conductividad es afectada por la composición específica de iones presentes en el agua. En dichos ambientes, aún cuando la salinidad de dos estaciones pudiera ser la misma, la conductividad puede ser significativamente diferente, dado que las diferentes especies iónicas presentan niveles de conductancia específica diferentes. Para los ambientes de agua dulce y salobres se puede utilizar la siguiente expresión:

$$Kc = T$$

donde: **K** = Conductividad expresada en μS
T = Sólidos Disueltos Totales
c = Coeficiente de correlación (establecido a una temperatura standard)

Algunos metros de conductividad proveen la capacidad de medir Sólidos Disueltos Totales. En dichos instrumentos se utiliza un valor **c** calculado por el fabricante.



METODOLOGIA

PROCEDIMIENTO A SEGUIR

SOLIDOS DISUELTOS TOTALES: METRO DE CONDUCTIVIDAD Y TDS



PREGUNTAS...

1. ¿Qué información nos proveen las determinaciones de sólidos disueltos de cuerpos de agua dulce naturales y de aguas usadas de origen industrial?
2. Existe una correlación positiva entre el total de sólidos disueltos y la conductividad en ambientes de agua dulce. Dicha correlación se reduce significativamente cuando analizamos ambientes acuáticos hipersalinos. ¿Por qué?
3. ¿Cómo pueden afectar altas concentraciones de sólidos disueltos la transmisión de luz visible a través de la columna de agua y el patrón de absorción diferencial de los largos de onda que integran el espectro visible?

SEGUNDA PARTE

PARAMETROS FISICO-QUIMICOS: TEMPERATURA

LA TEMPERATURA ES UN FACTOR abiótico que regula procesos vitales para los organismos vivos, así como también afecta las propiedades químicas y físicas de otros factores abióticos en un ecosistema. Antes de discutir la naturaleza de dichas interacciones, considero necesario iniciar la presentación con una distinción entre los conceptos de temperatura y calor. La distinción entre estos dos conceptos es a menudo confusa, llevándonos a intercambiarlos erróneamente. El término **calor** implica energía transferida desde un cuerpo o sistema hacia su ambiente inmediato o viceversa. El flujo de energía procede siempre de un área de mayor concentración a un área de menor concentración, en conformidad con la segunda ley de termodinámica. Del otro lado, la **temperatura** es un parámetro que nos revela que existe un contraste o gradiente de energía que provoca el transferimiento de calor.

En términos fisiológicos, la temperatura es considerada un parámetro de mayor significado que el contenido de calor de un cuerpo o sistema. Un protozoo que nada libremente en un cuerpo de agua con una temperatura promedio de 10°C, es apenas afectado por la energía total contenida en su hábitat (sin importar que su hábitat sea una pequeña charca o sea un gran lago). El factor de intensidad, la temperatura (10°C), es el mismo para ambos cuerpos de agua, controlando de igual forma el metabolismo del protozoo. Asumiendo claro está, que las únicas diferencias entre los dos ambientes son el tamaño de sus respectivas cuencas hidrológicas y el contenido de calor asociado a éstas.

Tenemos conocimiento de que la temperatura afecta la energía cinética de los reactivos, así como la estabilidad y actividad de las enzimas que participan en reacciones bioquímicas. En consecuencia, la temperatura ejerce una marcada influencia sobre la reproducción, crecimiento y el status fisiológico de todas las entidades vivas. Los microorganismos como grupo (particularmente el grupo de las bacterias) demuestran una capacidad extraordinaria para vivir y **reproducirse** a lo largo de un amplio rango de temperaturas (desde temperaturas bajo 0°C, hasta temperaturas que alcanzan los 113°C). Los microorganismos se han agrupado en cuatro categorías, a base de su rango de temperatura óptimo para el crecimiento. Las categorías son: psicrófilicos, mesófilicos, termófilicos e hipertermófilicos. El rango de temperatura óptimo y el límite mínimo y máximo de temperatura que distinguen a cada grupo no se deben tomar como valores absolutos que establecen la frontera entre una y otra categoría y sí como un reflejo del hábitat natural donde se desarrolla cada grupo. De hecho, el rango de temperatura que define a cada categoría varía de un grupo de microorganismos a otro. Al presente, el límite máximo de temperatura que define a los diferentes grupos de microorganismos termófilicos es el siguiente:

• protozoarios termófilicos	56°C
• algas termófilicas	55 - 60°C
• hongos termófilicos	60 - 62°C
• cianobacterias termófilicas	70 - 74°C
• bacterias fototróficas termófilicas	60 - 62°C
• eubacterias organotróficas termófilicas	90°C
• arqueobacterias (hipertermófilicas)	113°C

Datos tomados de Brock et al., 1994.

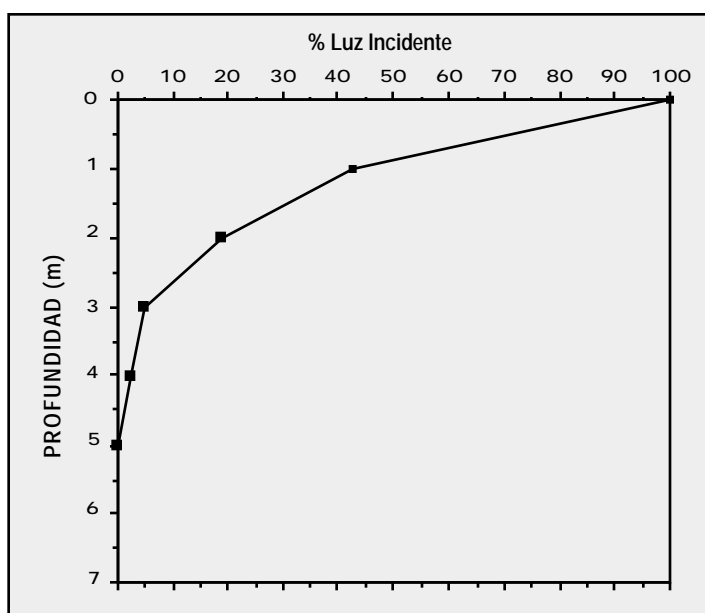
El efecto de la temperatura en el metabolismo, la nutrición y la reproducción de microorganismos, así como el desarrollo de adaptaciones moleculares para sobrevivir en ambientes con temperaturas extremas ha sido ampliamente discutida en la literatura científica. Para una discusión más elaborada de este tópico refiérase a: "Microbial Ecology"; Atlas & Bartha, 1992 y "Biology of Microorganisms"; Brock et al., 1994.

Por otro lado, la temperatura desempeña un rol fundamental en el funcionamiento de ecosistemas al regular o afectar otros factores abióticos del ecosistema como son: la solubilidad de nutrientes, solubilidad de gases, el estado físico de nutrientes, el grado de toxicidad de xenobióticos y propiedades fisico-químicas del medio acuoso como: pH, potencial redox, solubilidad de gases, densidad, el estado físico y la viscosidad del sustrato. De hecho, la viscosidad del agua desempeña un rol importante en determinar la forma de peces y larvas de insectos en ambientes lóticos. Todas estas interacciones afectan a su vez la distribución, composición (diversidad) y el grado de actividad metabólica de los seres vivos que integran un ecosistema.

Efecto de la temperatura en la densidad y la estratificación termal:

Uno de los efectos del calor que acompaña a la radiación solar sobre las propiedades físico-químicas del sustrato (agua), es la estratificación vertical de cuerpos de agua lénticos, por diferencias en densidad y temperatura. La luz solar calienta las aguas cercanas a la superficie, generando una capa de agua tibia y menos densa sobre una capa de agua más fría y densa. Según la radiación solar penetra en un cuerpo de agua, su absorción es casi exponencial (Figura 1), razón por la cual sería de esperar que la distribución de calor a lo largo de la columna exhibiera un patrón similar.

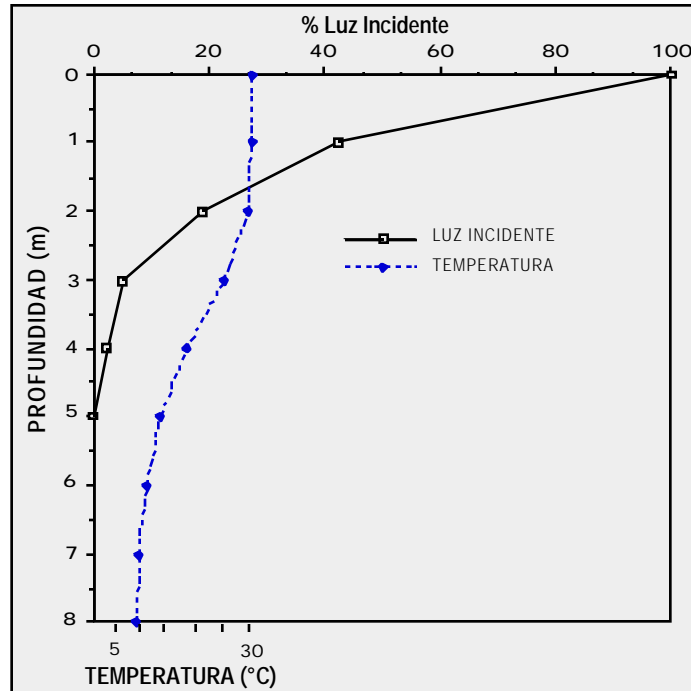
Figura 1: Perfil de absorción de luz incidente en función de la profundidad.



* Datos tomados de Cole (1983).

Sin embargo, la agitación de las aguas en la superficie por un efecto de convección (provocado por evaporación nocturna y enfriamiento de la superficie del cuerpo de agua) y la acción del viento, generan un perfil vertical de temperaturas diferente al de la penetración de la luz (Figura 2). En consecuencia, el cuerpo de agua se estratifica en tres zonas o capas de agua: el **epilimnio**, la capa de agua más superficial, la de menor densidad y mayor temperatura; el **hipolimnio**, la zona más profunda, más densa y la de menor temperatura y finalmente el **metalimnio**, zona intermedia entre el epilimnio y el hipolimnio, con una densidad también intermedia. Los límites o fronteras de estas zonas, son en muchas ocasiones difíciles de detectar. Las zonas son dinámicas presentándose variaciones en su tamaño (grosor), que obedecen a fluctuaciones estacionales o a cambios atmosféricos marcados (lluvias torrenciales, tormentas).

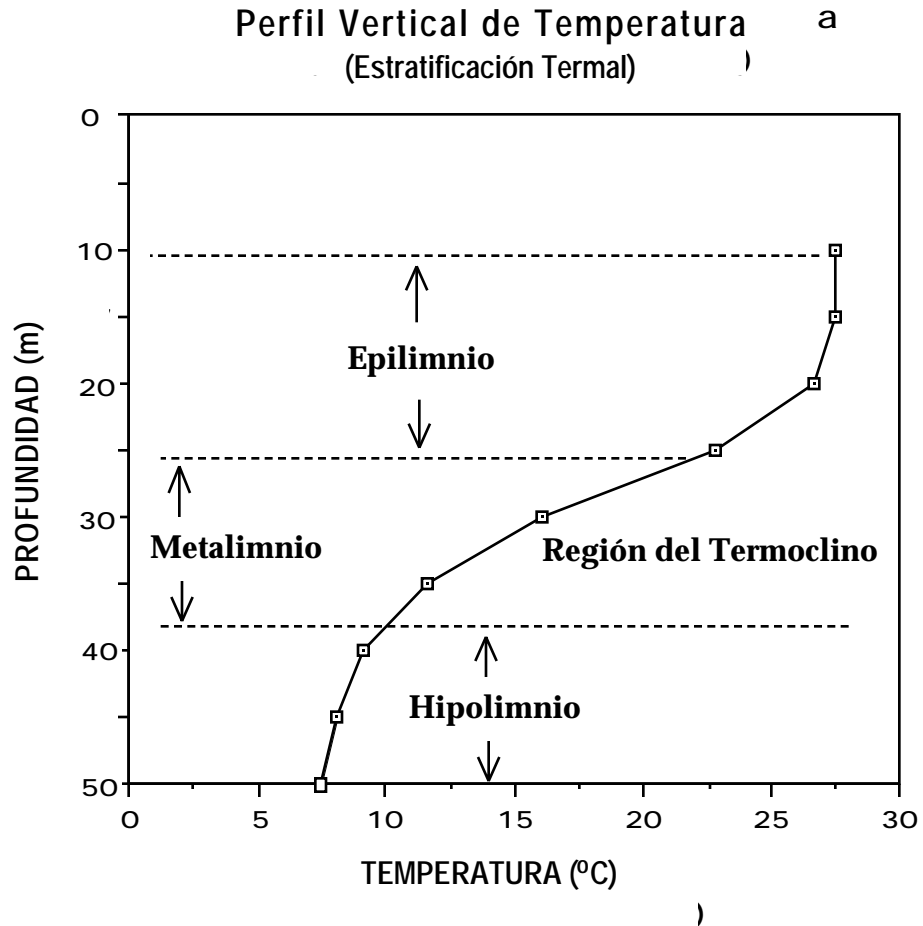
Figura 2: Patrón de absorción de luz incidente y perfil vertical de temperatura.



En adición a las tres zonas mencionadas, se ha identificado otra zona importante dentro de cuerpos de agua estratificados termalmente. Dicha zona se conoce con el nombre de **termoclinio** (Figura 3). Los termoclinos se definen como regiones que presentan la inflexión mayor en la gráfica de temperatura versus profundidad. En otras palabras, el termoclinio es la región donde la temperatura presenta cambios rápidos en función de la profundidad. Se han identificado dos tipos de termoclinos: **termoclinio temporero o diario** y **termoclinio estacional o parental**. El termoclinio parental es el más profundo y siempre se localiza dentro del metalimnio. Esto ha llevado a que en muchas ocasiones ambos términos se intercambien, ya que ambas zonas se localizan en una misma región en cuerpos de agua estratificados. Los termoclinos temporeros se ubican más cerca de la superficie y pueden localizarse en el metalimnio o en el epilimnio. Este tipo de termoclinio se origina de cambios diurnos en la radiación solar.

En cuerpos de agua dulce lénticos, ubicados en la zona tropical, se puede producir una estratificación termal estable (duradera) aún en ambientes que presentan una diferencia en temperatura de 1 y 3°C, entre la superficie del agua y el fondo. Aún cuando los efectos de la radiación solar en las corrientes y estuarios (cuerpos lótics) son similares a los que observamos en lagos, pozos, charcas (cuerpos lénticos), los primeros no presentan una estratificación termal significativa.

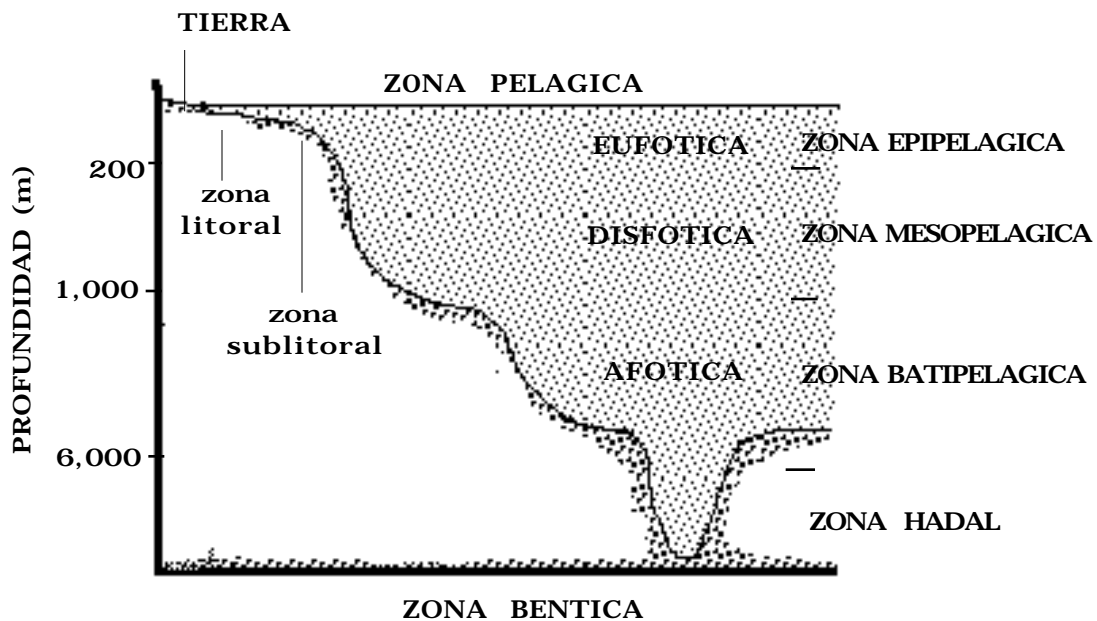
Figura 3: Patrón de estratificación termal de cuerpos de agua dulce.



La estructura de la columna de agua con base de diferencias en temperatura es un reflejo de las diferencias en densidad del agua. La capa de agua más cálida, y de menor densidad flota en la superficie (epilimnio); las aguas de menor temperatura se asientan en el fondo (hipolimnio) y hay una zona de cambios rápidos en densidad que se localiza en la columna (metalimnio).

En el ambiente oceánico, el comportamiento de la radiación solar es semejante al presentado para los cuerpos de agua interiores, identificándose también una zona de termoclino. No obstante, se utiliza una terminología diferente para la zonificación vertical del ambiente marino (Figura 4). En océanos profundos las variaciones diurnas en intensidad de la radiación solar y los cambios estacionales no tienen un efecto significativo en el perfil vertical de temperatura. La temperatura generalmente baja rápidamente en los primeros 50 metros de profundidad y después de los 50 metros se observa un perfil vertical uniforme hasta las zonas profundas donde la temperatura es de ± 2 a 3°C .

Figura 4: Estratificación vertical ambiente oceánico.

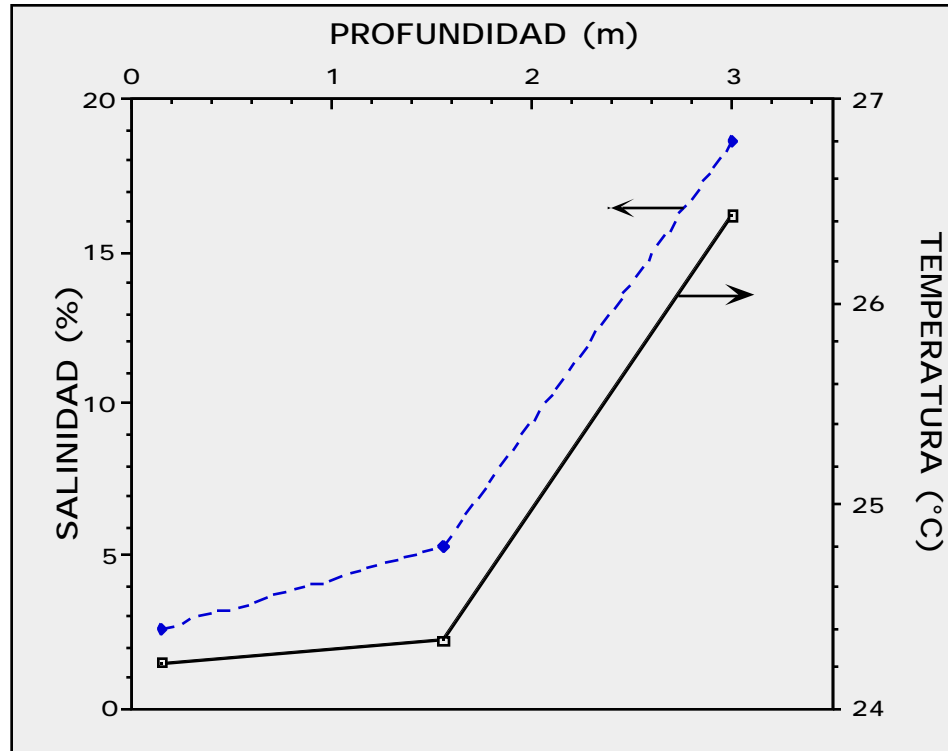


Estratificación termal invertida:

En ambientes salobres pueden desarrollarse patrones de estratificación termal invertidos, en donde la capa de agua con la temperatura mayor se localiza en el fondo. Este fenómeno se puede observar en cuerpos de agua salobre que reciben una intrusión de agua de mar. El agua de mar por su mayor densidad (mayor densidad de sales en solución) se localiza en el fondo mezclándose muy poco con las capas de agua superiores, dada las diferencias en densidad entre ambas capas. La estrata de agua inferior mantiene una temperatura más alta por la radiación solar directa que penetra las estratas superiores. Las aguas del fondo acumulan calor, mientras que las capas superiores evitan la evaporación de la capa profunda, funcionando así como un aislante térmico. La estratificación termal invertida es un fenómeno frecuente en el Canal Mandri

localizado en la municipalidad de Humacao, Puerto Rico (Figura 5). Un fenómeno similar se puede observar también en los salitrales, durante la época de lluvias, cuando agua dulce se acumula sobre la salmuera en los canales que alimentan las charcas de evaporación.

Figura 5: Estratificación termal invertida en Canal Mandri.



◀El Canal Mandri es un cuerpo de agua salobre eutrófico en la municipalidad de Humacao. Se observa que según aumenta la profundidad aumenta la salinidad y la temperatura.

Factores abióticos que afectan la estratificación termal:

Por otro lado, el patrón de estratificación termal en ambientes oceánicos y en la zonas costeras puede ser afectado por otros factores abióticos como son las corrientes submarinas, el efecto combinado de alta evaporación y aumento en salinidad de aguas superficiales, la actividad volcánica y la contaminación termal. Para obtener más información sobre la estratificación en el ambiente marino refiérase a: Atlas y Bartha, 1992; Webber y Thurman, 1991; McConnaughey, 1978.

Patrones de mezcla y clasificación de lagos:

En ambientes templados se observan diferentes patrones de mezcla de los cuerpos de agua estratificados. La identificación de estos patrones de mezcla ha permitido, a su vez, generar un sistema de clasificación de lagos:

Lagos amícticos, lagos donde el agua nunca circula. Estos son lagos cubiertos permanentemente por el hielo, estando así protegidos de los efectos de agitación del viento y de otros fenómenos meteorológicos.

Lagos monomícticos, lagos que nunca están cubiertos completamente de hielo. Estos presentan un solo periodo regular de circulación o mezcla.

Lagos dimícticos, lagos que presentan una cubierta de hielo durante el invierno y que se mezclan dos veces al año; en otoño, antes de que el hielo forme una cubierta y en primavera, luego del deshielo.

Lagos polimícticos, lagos que presentan muchos periodos de mezcla o una circulación continua durante todo el año. Los periodos de mezcla son promovidos mayormente por fluctuaciones diurnas en temperatura, y no necesariamente por cambios estacionales.

Lagos meromícticos, lagos que circulan de tiempo en tiempo, pero de forma incompleta. La estrata del fondo (hipolimnio) permanece sin movimiento y anóxica.

En ambientes tropicales lénticos, donde no se observan cambios climáticos marcados, la temperatura permanece más o menos constante durante el año, desarrollándose una estratificación estable. Los periodos de circulación en estos lagos son poco frecuentes y de corta duración. Estos se conocen como *lagos oligomícticos*.

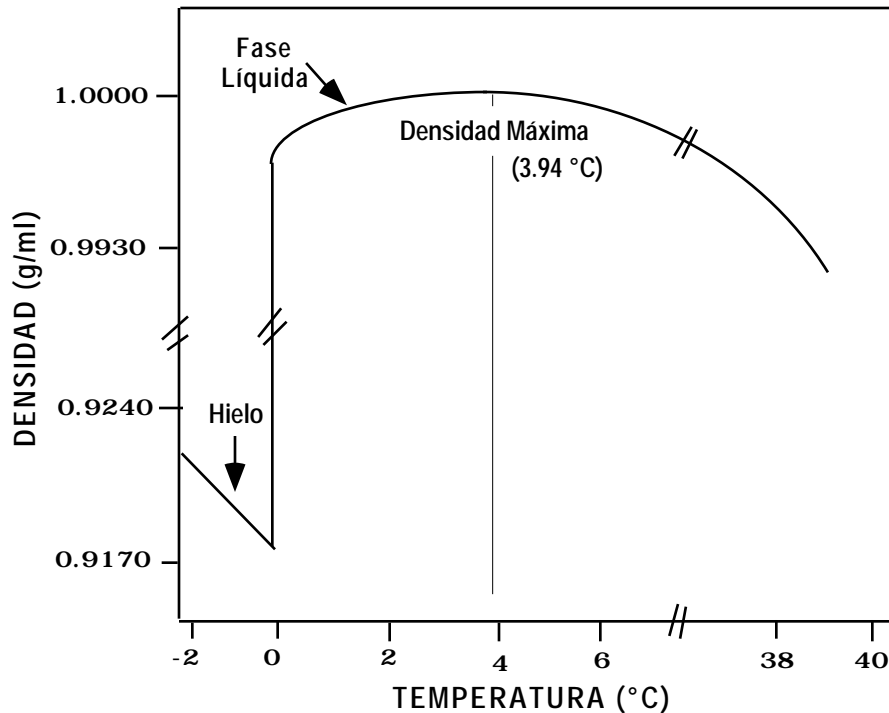
Los periodos de mezcla o circulación del cuerpo de agua alteran el perfil de temperatura, densidad, oxigenación, potencial redox, pH, la solubilidad y disponibilidad de nutrientes en la columna de agua, así como también afectan la distribución y actividad metabólica de los organismos que habitan en las diferentes estratas de agua. Para una discusión más detallada de los patrones de circulación de cuerpos de agua que exhiben una estratificación termal refiérase a Cole, 1983; Horne y Goldman, 1994.

Efecto interactivo de la temperatura y otros factores abióticos sobre componentes bióticos y abióticos:

Los cambios en temperatura afectan varias propiedades del agua incluyendo: la densidad, la viscosidad, la capacidad del agua para retener gases en solución, la tensión superficial, el pH y la solubilidad de moléculas orgánicas e inorgánicas que se generan en el ambiente acuático o que acceden a este desde la ecosfera o la litosfera. Los cambios que se generan en todos estos factores como resultado de cambios en temperatura

generan a su vez cambios en el metabolismo, nutrición, razón de crecimiento, y en el tamaño y forma de los organismos que habitan en ambientes acuáticos.

Figura 6: Efecto de la temperatura en la densidad de agua pura.

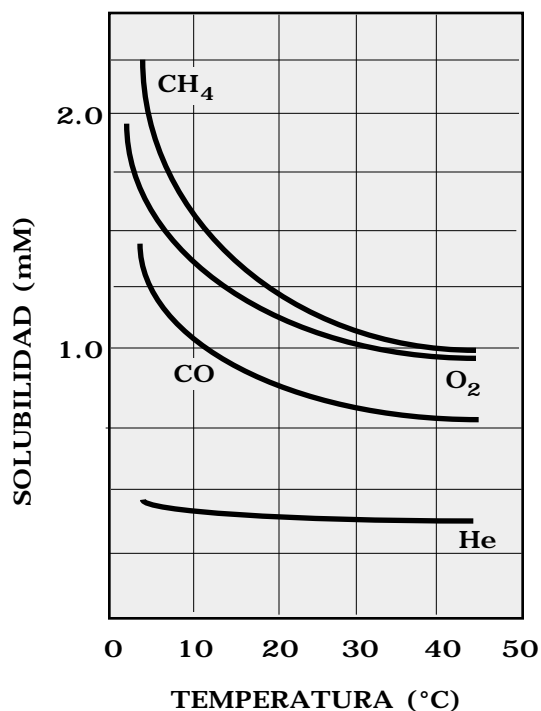


La densidad de la mayoría de los líquidos aumenta conforme disminuye la temperatura. No obstante, en el caso del agua, esta alcanza su mayor densidad a los 3.94 °C para luego disminuir en densidad al reorganizarse sus moléculas en un lattice cristalino que ocupa un área mayor. Por otro lado, la razón de cambio en la densidad de agua no varía en forma constante con cambios en la temperatura; la densidad disminuye más rápidamente a altas temperaturas. Datos tomados de Lynch & Poole (1979) y Horne & Goldman (1994).

La diferencia en densidad entre aguas cálidas y frías es la causa principal para la resistencia a la mezcla de masas de agua en ambientes acuáticos naturales, dando paso a la estratificación vertical de la columna de agua. La razón de cambio en la densidad de agua no varía en forma constante con cambios en la temperatura; la densidad disminuye más rápidamente por grado de temperatura a altas temperaturas que a temperaturas bajas (Figura 6). Por ejemplo, para un cambio en temperatura de 10 a 20 °C se registra un cambio en densidad de 0.0013 g/cm, mientras que un cambio en temperatura de igual magnitud de 25 a 35 °C, genera un cambio en densidad del agua de aproximadamente 0.0031 g/cm (casi 2.5 veces más que el cambio anterior). Esto explica por qué una diferencia en temperatura de pocos grados genera termoclinos estables en las zonas

tropicales, pero no en las zonas templadas. La estratificación de la columna de agua en masas o zonas con diferente densidad y temperatura afectará la distribución de gases (ej. oxígeno) y esto a su vez afectará la distribución de organismos heterotróficos a base de diferencias en las estrategia catabólica que empleen (respiración aerobia, respiración anaerobia o fermentación).

Figura 7: Efecto de temperatura en la solubilidad de varios gases comunes en agua.



La solubilidad de los gases está expresada en unidades de milimoles por litro a una presión constante de 1 atmósfera. Tabla modificada de Brown y LeMay (1987).

A una presión parcial (p) constante, la solubilidad de un gas disminuye según aumenta la temperatura y viceversa. Dicha relación inversa nos permite generalizar que las aguas frías tienden a contener una mayor concentración de gases en solución que aguas cálidas (en el caso de oxígeno y bióxido de carbono esa tendencia puede ser afectada por la actividad fotosintética y por el proceso de respiración aeróbica). La Figura 7 nos presenta la solubilidad de varios gases presentes en agua en función de la temperatura. La reducción en la solubilidad de oxígeno, conforme aumenta la temperatura, es uno de los resultados de la contaminación térmica de cuerpos de agua naturales. Dicho efecto es más conspicuo en lagos profundos. Dada la diferencia en densidad entre aguas cálidas y aguas frías, la masa de agua caliente se localiza sobre las masas de aguas "frías" (menos calientes) impidiendo así la difusión del oxígeno a las capas profundas.

Esta situación afecta el metabolismo de las especies aeróbicas en el cuerpo de agua. El efecto interactivo de la temperatura, salinidad y presión sobre la solubilidad del oxígeno en agua es discutido en la unidad de oxígeno disuelto de este manual.

Tabla 1: Efecto de la temperatura en la viscosidad del agua.

Temperatura (C°)	Viscosidad (Kg/m-s) x 10 ⁻³
0	1.79
5	1.52
10	1.31
15	1.14
20	1.00
25	0.89
30	0.80
35	0.72
40	0.65
60	0.47
80	0.36

* Datos tomados de Horne y Goldman (1994); Brown y LeMay (1987).

↳ **La viscosidad disminuye conforme aumenta la temperatura. El aumento en temperatura genera, a su vez, un incremento en la energía cinética promedio de las moléculas de agua, lo cual permite a las moléculas superar con facilidad las fuerzas de atracción que operan entre ellas.**

La viscosidad, una medida de la resistencia de un líquido a fluir, reduce la razón de sedimentación del plancton y de microorganismos adheridos a un sustrato ("periphyton"). Al mismo tiempo, la viscosidad aumenta la resistencia al desplazamiento de organismos móviles a través del medio acuoso. La viscosidad del agua es mayor a temperaturas bajas (Tabla 1), razón por la cual, plantas y animales que flotan en aguas templadas tienen aparentemente una menor necesidad de desarrollar extensiones anatómicas que les ayuden a flotar, en comparación con los organismos que flotan en aguas cálidas. Aparentemente la alta viscosidad de las aguas templadas beneficia a los organismos que flotan reduciendo la cantidad de energía que necesitan invertir para mantenerse a flote. Este argumento está respaldado por las siguientes observaciones:

- los organismos que flotan en aguas templadas tienden a presentar un tamaño mayor que sus contrapartes en aguas cálidas.

- las poblaciones de los trópicos tienden a su vez a presentar una mayor diversidad, un menor tamaño y un ornamento o plumaje desarrollado. Dicho ornamento está ausente en las especies de aguas templadas.

La reducción en tamaño y el ornamento altamente desarrollado estarían ayudando a los especies de aguas cálidas (zonas tropicales) a aumentar su relación de área superficial a masa corporal o volumen. Un ejemplo gráfico del efecto de las diferencias en temperatura y viscosidad en el tamaño y desarrollo de ornamento lo proveen copépedos (Figura 8).

La viscosidad del agua también es afectada por la concentración de sales en el medio acuoso. Refiérase a la unidad de **Salinidad** en este manual para una discusión de dicho tópico.

La tensión superficial se define como la cantidad de energía necesaria para aumentar el área superficial de un líquido. En otras palabras, es una medida de la dificultad para penetrar la superficie de un líquido. El agua presenta una tensión superficial relativamente alta, debido a la fortaleza combinada de sus puentes de hidrógeno. La tensión superficial del agua disminuye según aumenta la temperatura (Tabla 2). Dicha relación puede afectar la habilidad de varios organismos, para utilizar la superficie de ambientes acuáticos como hábitat. Algunos insectos, entre ellos uno cuyo nombre común es *zapatero* ("water strider"), pueden caminar sobre la superficie de aguas en reposo, aún cuando su densidad es mayor a la del agua. Estos insectos logran caminar sobre el agua utilizando unos apéndices o pelos finos en la parte inferior de sus patas. Dichos apéndices le permiten al insecto distribuir su peso sobre un área superficial más extensa, logrando así que su cuerpo sea sostenido por la tensión superficial del agua. Por otro lado, la zona superficial de ambientes acuáticos resulta ser un hábitat muy importante para microorganismos, en la medida en que los niveles de nutrientes pueden ser más altos en ese microambiente, que en el resto de la columna de agua. El desarrollo de biopelículas ("biofilms") extensas (agregados de microcolonias) en la superficie del agua, pudiera ser afectado por una disminución marcada en la tensión superficial del agua. Material particulado que flota en la superficie podría sumergirse, perdiéndose así un sustrato para la adhesión de microorganismos o podría representar la pérdida de una fuente directa de nutrientes.

La temperatura también afecta el pH del agua, al afectar la razón de disociación de moléculas que se comportan como ácidos o bases. El efecto de la temperatura sobre el pH está discutido en la unidad de pH de este manual.

Tabla 2: Efecto de la temperatura en la tensión superficial del agua.

Temperatura (°C)	Tensión Superficial (g) (J/m ²)
20	7.29 x 10 ⁻²
40	6.99 x 10 ⁻²
60	6.70 x 10 ⁻²
80	6.40 x 10 ⁻²

* Datos tomados de Brown y LeMay (1987).

Por último, la temperatura afecta también la solubilidad de substratos que se generan en el ambiente acuático y de substratos de origen exógeno. En este último grupo incluimos moléculas arrastradas al cuerpo de agua vía la precipitación, escorrentías y descargas de origen antropogénico. Entre los substratos exógenos encontramos: fertilizantes, materia fecal y una amplia gama de xenobióticos (ej. combustibles fósiles y sus derivados refinados, pesticidas, yerbicidas, preservativos de madera, tintes, ácidos inorgánicos y otros). La entrada de estos substratos a un cuerpo de agua puede alterar dramáticamente el equilibrio preexistente ente componentes bióticos y abióticos. El impacto de dichas moléculas sobre un ambiente acuático está determinado por factores tales como: el carácter tóxico del contaminante, tiempo de residencia, susceptibilidad al ataque microbiano, concentración, velocidad del flujo de entrada y su solubilidad en agua. Este último parámetro es, a su vez, afectado por la temperatura del medio acuoso. Las diferencias en temperatura pueden causar:

- **Un aumento o reducción en la solubilidad de substratos tóxicos**
- **Un aumento o reducción en el caracter tóxico del sustrato**

(ej. La incapacidad de algunas bacterias termofílicas para degradar hidrocarburos a temperaturas por arriba de su óptimo de crecimiento se ha adjudicado a un aumento en la toxicidad del sustrato; Perry, 1985)

- **Un aumento o reducción en la evaporación de substratos volátiles tóxicos**

(ej. La evaporación de aromáticos livianos [tienen un punto de ebullición bajo] se reduce considerablemente a temperaturas bajas, teniendo como resultado que la concentración de algunas de estas moléculas en el estado disuelto aumenta; Atlas y Bartha 1972)

- **La transición del sustrato de un estado físico a otro**

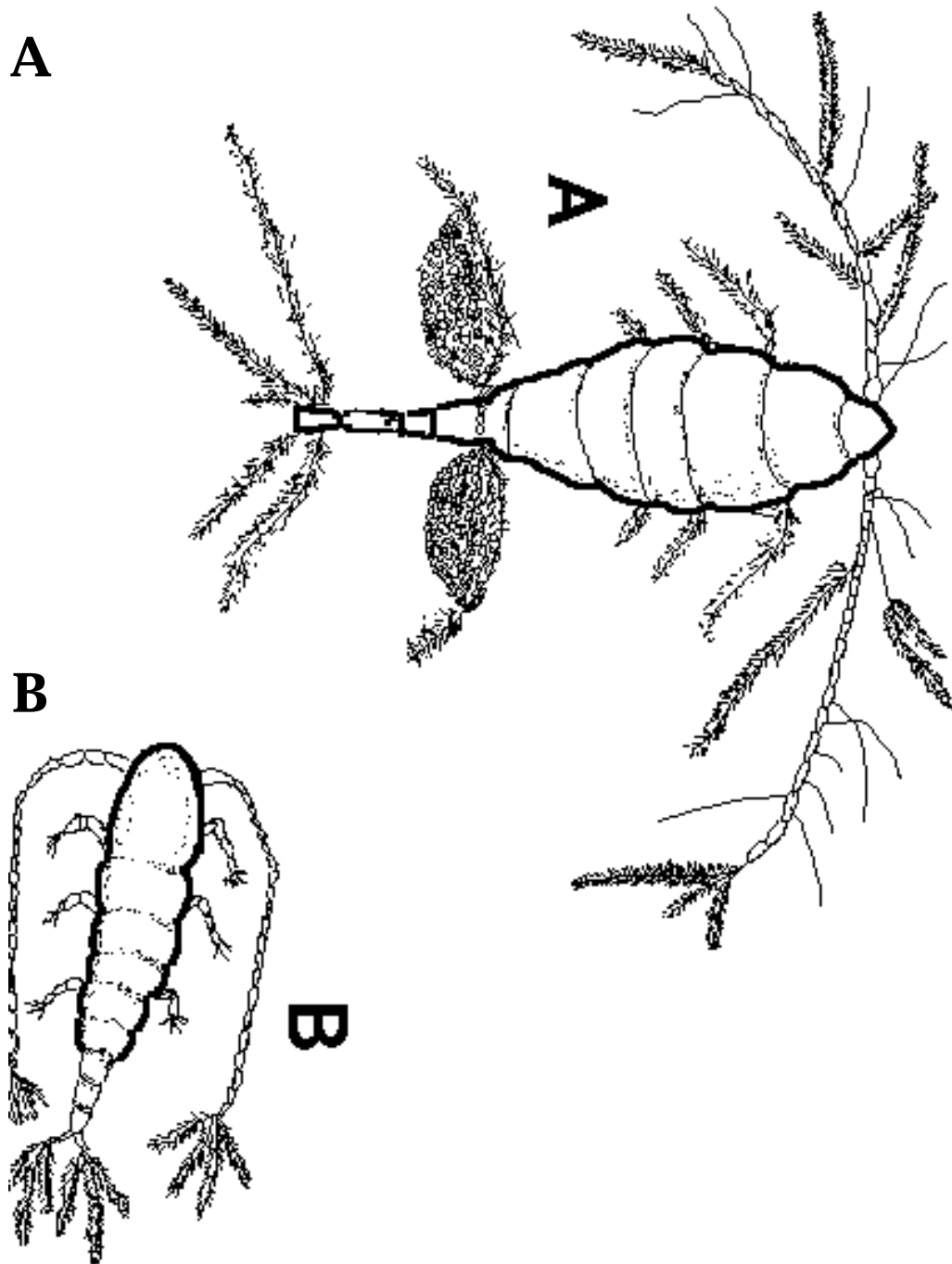
(ej. La biodegradación de algunos hidrocarburos aromáticos se reduce; Wodzinsky y La Rocca, 1977; Atlas, 1981)

Los efectos arriba mencionados se podrían observar dentro de un cuerpo de agua profundo con una estratificación termal marcada (ej. lagos profundos o aguas oceánicas en la zona pelágica); en un cuerpo de agua expuesto a variaciones estacionales marcadas ó en ambientes acuáticos localizados en latitudes apartadas (ej. región tropical vs. región sub-ártica).

Efecto interactivo temperatura e intensidad lumínica sobre actividad fotosintética:

La velocidad de la actividad fotosintética aumenta conforme aumenta la intensidad lumínica, hasta alcanzar una intensidad de saturación. A partir de intensidad de saturación, la actividad fotosintética se mantendrá constante (si la temperatura se mantiene constante), aún cuando la intensidad lumínica aumente (Figura 9). No obstante, a altas intensidades de luz, un aumento en temperatura provoca una reducción en la actividad fotosintética (Figura 10). Las temperaturas altas afectan las reacciones químicas del proceso fotosintético que no dependen de la luz (reacciones de oscuridad). El incremento en temperatura afectará específicamente la estabilidad y actividad de enzimas que intervienen en dicha fase del proceso fotosintético. Este efecto interactivo de la temperatura y la intensidad de luz, junto con la composición de pigmentos que exhibe cada fototrofo, la capacidad para vivir en presencia de oxígeno y la distribución espectral de la luz en el hábitat acuático, son factores que determinan la ubicación de los fototrofos en la columna de agua. Para más detalles sobre este tópico refiérase a la unidad de **Luz** en este manual.

Figura 8: Diferencias en plumaje entre copépedos de aguas templadas y aguas tropicales.



* Dibujo modificado de Webber y Thurman (1991).

- (A) Copépodo típico de aguas cálidas: género *Oithona*,
(B) Copépodo típico de aguas templadas: género *Calanus*

Figura 9: Efecto de la intensidad lumínica en la actividad fotosintética.

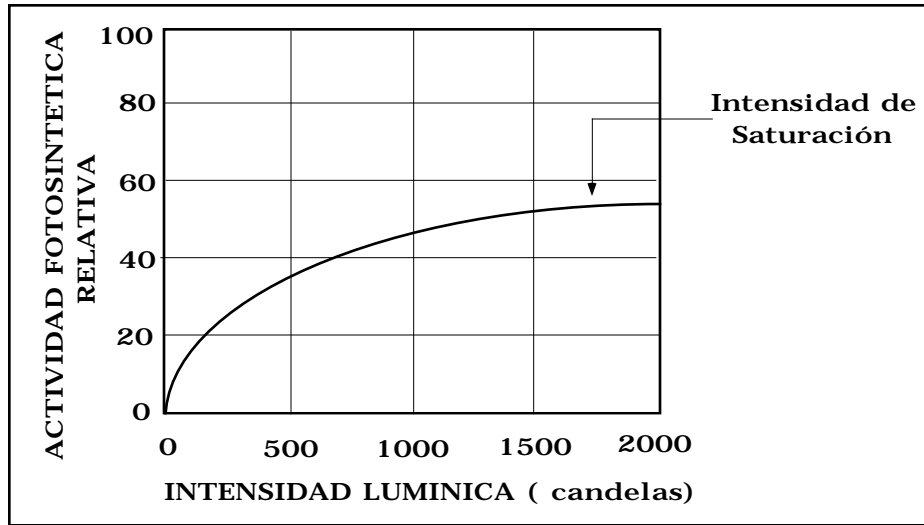
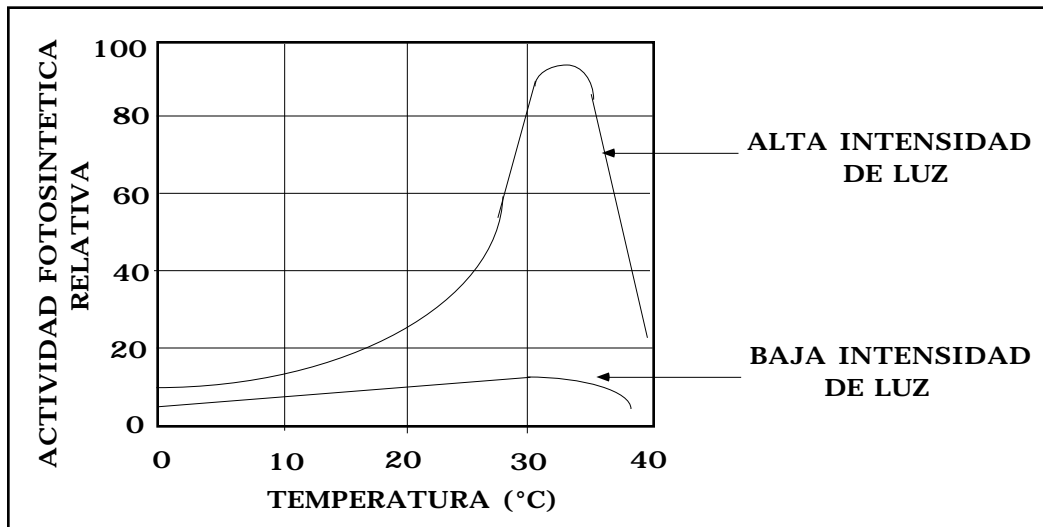
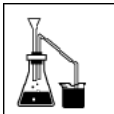


Figura 10: Efecto de la temperatura sobre actividad fotosintética a diferentes intensidades de luz.



* Modificadas de Curtis y Barnes (1989).



METODOLOGIA

La temperatura de un cuerpo de agua puede ser registrada utilizando los siguientes instrumentos o sistemas: termómetros mercuriales (termómetros de columna simple, termómetros máximo/mínimo, termómetros reversibles, termógrafos, termistores

eléctricos, el batitermógrafo y el sistema de sondeo remoto ("remote sensing") [refiérase a Wetzel y Likens (1991); Kevern (1989); Horne y Goldman (1992) para una descripción del diseño, modo de operación, utilidad, precisión y costo de cada uno de estos instrumentos o sistemas]. En nuestro trabajo de campo utilizaremos termistores incorporados a metros de oxígeno o metros de conductividad, para medir la temperatura del agua. El funcionamiento del termistor se basa en el registro de cambios en la resistencia eléctrica del agua utilizando un sensor metálico. Los cambios en resistencia eléctrica se traducen a cambios en temperatura, utilizando para ello el sistema de calibración interna que provee el instrumento.

PROCEDIMIENTO A SEGUIR

TERMISTOR: METRO DE CONDUCTIVIDAD/TDS/TEMPERATURA HACH
Hach Water Analysis Handbook
METRO DE OXIGENO DISUELTO/TEMPERATURA



PREGUNTAS...

1. Mencione qué información nos puede proveer un perfil de temperatura sobre un cuerpo de agua.
2. Describa por medio de gráficas cómo la temperatura afecta las siguientes propiedades del agua:
 - a. viscosidad
 - b. densidad
 - c. solubilidad de gases
 - d. tensión superficial
3. Describa el efecto que tiene una alta tasa de evaporación de aguas superficiales en la circulación vertical de aguas oceánicas, si alguno.

4. Describa por medio de un ejemplo cómo la interacción entre la temperatura y cada uno de los siguientes factores pueden afectar el funcionamiento de un ecosistema acuático.
 - a. solubilidad de oxígeno en agua
 - b. estado físico del sustrato (agua)
 - c. potencial redox
 - d. estado físico de nutrientes
 - e. viscosidad
 - f. tensión superficial

5. Discuta el impacto de la contaminación térmica sobre un ecosistema acuático en términos de la alteración de las propiedades físicas del agua y su repercusión sobre la distribución, densidad, diversidad y actividad metabólica de organismos residentes (incluyendo obviamente a los microorganismos)

6. En lagos templados la temperatura durante el invierno está muy por debajo de los 0°C (punto de fusión de agua pura). Observamos que aunque la superficie de estos lagos se solidifica, debajo de la misma, la columna de agua se mantiene en estado líquido. ¿Por qué no se solidifica totalmente el cuerpo de agua?

7. Durante el verano son frecuentes en Puerto Rico los reportes de alta mortandad de peces en lagunas y lagos contaminados, de poca profundidad. Las causas para dicha mortandad pueden ser varias (vea unidad de pH en este manual). Una de ellas podría ser una disminución marcada en las concentraciones de oxígeno disuelto. ¿Qué factores podrían estar afectando las concentraciones de oxígeno disuelto en dichos cuerpos de agua?

8. Se obtuvieron los siguientes resultados de calidad de agua para el Canal Mandri:

PROFUNDIDAD (m)	TEMPERATURA (°C)	SALINIDAD %	OXIGENO DISUELTO (mg/L)
0.16	24.4	1.5	1.70
1.56	24.8	2.2	0.20
3.00	26.8	16.2	0.15

* F. Fuentes, datos no publicados.

¿Cómo explicaría usted que la capa de agua más cálida se encuentre en el fondo y no en la superficie, conociendo usted que el agua más cálida es menos densa que el agua "fría"?

9. La mayoría de los líquidos exhibe su mayor densidad en su punto de congelación. Esa no es la situación que observamos con el agua pura, donde ésta exhibe su mayor densidad a 3.94°C , mientras que su punto de congelación es a 0°C . ¿Cómo explica usted, este comportamiento del agua?

TERCERA PARTE

NUTRIENTES Y GASES: AZUFRE

EL AZUFRE ES BIEN ABUNDANTE en la corteza terrestre. Se encuentra como: azufre elemental, sulfuros minerales, sulfatos, H_2S en el gas natural y como azufre orgánico en aceites combustibles y carbón (Hill y Petrucci, 1996). El ciclo biogeoquímico del azufre parece ser uno bastante complejo si tomamos en consideración los diferentes estados de oxidación que puede presentar dicho elemento y el hecho de que algunas transformaciones del azufre proceden tanto por vías bióticas como abióticas. No obstante, aún cuando, el azufre existe en varios estados de oxidación (Tabla 1), sólo compuestos sulfurados con número de oxidación: **-2** [H_2S , FeS , $R-SH$, $H_3C-S-CH_3$], **0** [S^0] y **+6** [SO_4^{2-}] se encuentran en cantidades significativas en la naturaleza.

Depósitos de azufre en la naturaleza:

Los depósitos de azufre más abundantes se encuentran en sedimentos y rocas en forma de minerales sulfatados (principalmente el yeso, $CaSO_4$) y minerales sulfurados (mayormente la pirita de hierro, FeS_2) (Tabla 2). Sin embargo, es propio señalar que la fuente primaria de azufre para la biosfera se encuentra en los océanos en forma de sulfato inorgánico. A continuación se describe el origen de los principales depósitos de azufre en nuestro planeta.

Sulfato:

El sulfato (SO_4^{2-}) es mucho más abundante en agua de mar que en agua dulce, aunque cabe señalar que los lagos ácidos y los lagos con una alta tasa de mineralización, en cuencas cerradas, pueden contener altas concentraciones de sulfato. Parte del sulfato

presente en agua dulce se origina de la mineralización de rocas en la cuenca de los lagos. No obstante la mayoría del sulfato se deriva del agua de lluvia. El sulfato es el segundo anión de mayor abundancia en agua de lluvia, siendo el bicarbonato el anión más abundante. El sulfato presente en el agua de lluvia se deriva probablemente del azufre presente en el aire en forma de dióxido de azufre (SO₂). Este último, a su vez, se origina de dos fuentes: (1) emanaciones gaseosas de origen industrial y del (2) sulfuro de hidrógeno (H₂S), de origen biogénico y de origen geológico (ej. emanaciones volcánicas y depósitos de gas natural). El H₂S liberado a la atmósfera es oxidado espontáneamente a SO₂ por oxígeno atómico, oxígeno molecular o por ozono. El SO₂ puede a su vez disolverse en agua para formar ácido sulfuroso (H₂SO₃) o bien puede continuar su oxidación hasta trióxido de azufre (SO₃). Esta última ruta envuelve varias reacciones en serie, de lenta progresión (se requieren de horas o días), (Stanier et al., 1986). Una vez se disuelve en agua, el trióxido de azufre se convierte en ácido sulfúrico. Una porción del ácido sulfúrico y del ácido sulfuroso producidos por transformaciones abióticas es neutralizado por pequeñas cantidades de amoníaco que existen en la atmósfera (ver unidad de **Nitrógeno**). No obstante, una porción substancial de ambos ácidos regresa a la superficie terrestre en forma de lluvia ácida.

Tabla 1: Estados de oxidación del azufre.

# OXI.*	COMPUESTO
-1	FeS ₂ (pirita**) H ₂ S (sulfuro de hidrógeno) FeS (sulfuro ferroso)
-2	R-SH (azufre orgánico) <i>amino ácidos</i> <i>cisteína, cistina,</i> <i>metionina</i> <i>vitaminas</i> <i>biotina,</i> <i>tiamina, ácido</i> <i>lipoico</i> H ₃ C-S-CH ₃ (<i>dimetilsulfuro</i>)***
0	Azufre elemental (S ⁰)**** Thiosulfato (S ₂ O ₃ ²⁻)
+2	Thiocianato (SCN ⁻)
+2.5	Tetrathionato (S ₄ O ₆ ²⁻) Sulfito (SO ₃ ²⁻)
+4	Dióxido de azufre (SO ₂) Sulfato (SO ₄ ²⁻)
+6	Trióxido de azufre (SO ₃)

* Los compuestos con número de oxidación: **-2, 0 y +6** son los que se encuentran en cantidades significativas en la naturaleza.

** Mineral también conocido como el "oro de los tontos" por su color amarillo dorado.

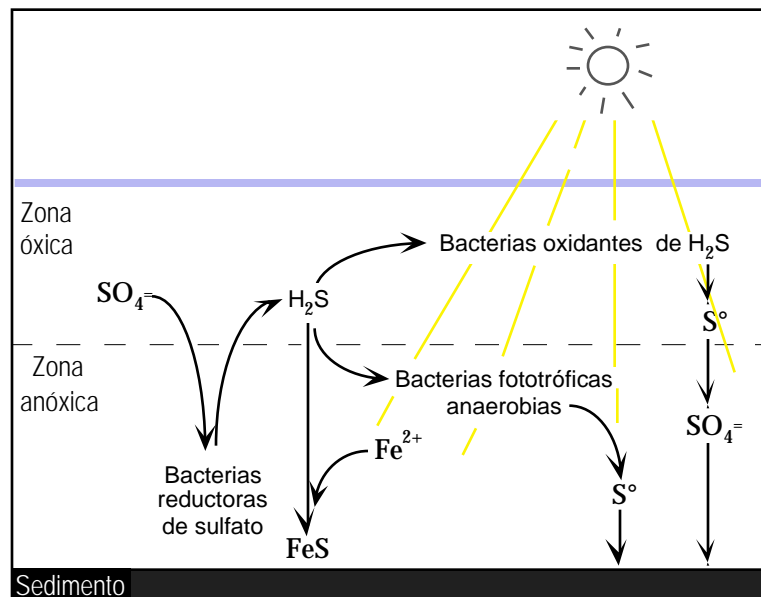
*** Organosulfurado más abundante en la naturaleza (producido mayormente en ambientes marinos como producto de degradación del propionato-dimetilsulfonio en algas marinas).

**** El azufre elemental existe como diferentes especies moleculares, desde S monoatómico hasta S₂, S₆, S₈ y formas poliméricas S_n.

Sulfuro de hidrógeno:

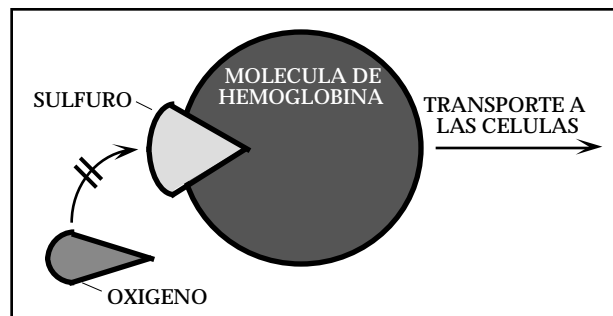
Las bacterias reductoras de SO_4^{2-} son los principales responsables de la generación de H_2S bajo condiciones anaerobias. El sulfato que llega al hipolimnio y los sedimentos es reducido por bacterias reductoras de sulfato, las cuales lo utilizan como aceptador de electrones en la oxidación de materia orgánica (respiración anaerobia). En algunas zonas costeras, donde se acumulan grandes cantidades de materia orgánica, se produce una reducción intensa del sulfato a sulfuro de hidrógeno (Stanier et al., 1987). Estas zonas se tornan virtualmente inhabitables por causa del olor fétido y del efecto tóxico del H_2S . Cuando en dichos ambientes coinciden altas concentraciones de H_2S con altas concentraciones del ión ferroso (Fe^{2+}) se generan grandes cantidades de FeS , el cual es altamente insoluble. Este último no puede ser utilizado y escapa a la acción biológica ulterior. La acumulación del ión ferroso imparte un color negro brillante y un olor fétido a los sedimentos. Los sedimentos ricos en FeS se conocen con el nombre de **Sapropel**. Cuando se produce una deficiencia de hierro en los sedimentos o cuando las concentraciones de H_2S exceden la cantidad necesaria para precipitar todo el ión ferroso (Fe^{2+}) presente, entonces el H_2S podrá ser oxidado por bacterias. En zonas anaerobias de cuerpos de agua dulce estratificados donde hay buena penetración de la energía radiante pueden crecer bacterias fotosintéticas. Estas utilizan H_2S como donante de electrones produciendo gránulos de azufre intracelulares o extracelulares (Figura 1). El H_2S también es generado a través de procesos de putrefacción y desulfurilación de compuestos organosulfurados. Las emanaciones volcánicas y los depósitos de gas natural representan fuentes menores del H_2S .

Figura 1: Transformaciones de azufre en un ambiente acuático.



El sulfuro de hidrógeno (H_2S) es un gas incoloro con un fuerte olor fétido a huevos podridos. Este gas es extremadamente tóxico, particularmente para animales aerobios. Causa dolor de cabeza y náuseas en humanos en concentraciones ≥ 10 mg/L y puede causar parálisis súbita y muerte cuando su concentración alcanza los 100 mg/L. El H_2S afecta el proceso de respiración celular a dos niveles. En primer término el H_2S resulta ser un inhibidor competitivo para la hemoglobina, y a que se puede acoplar al sitio de ligamiento del oxígeno, impidiendo así el transporte normal de oxígeno (Figura 2). En segundo término, el H_2S inhibe la enzima respiratoria citocromo-c oxidasa, afectando la producción de energía derivada de la fosforilación oxidativa acoplada a una cadena de transporte de electrones. Como dato curioso, cabe señalar que animales aeróbicos asociados a las fumarolas o respiraderos termales (“thermal vents”), como el gusano plumulado *Riftia pachyptila*, el cangrejo *Bythograea therydron*, y la almeja *Calyptogena magnifica* exhiben diferentes mecanismos para poder crecer en un ambiente rico en sulfuro de hidrógeno. En el caso de *Riftia pachyptila* este gusano posee una molécula de hemoglobina con dos sitios de ligamiento que le permite transportar O_2 y H_2S a través del torrente circulatorio simultáneamente. *Calyptogena magnifica* posee una proteína especial para el transporte de H_2S , mientras que el cangrejo *Bythograea therydron* logra detoxificar el H_2S en su hepatopancreas al oxidarlo a tiosulfato.

Figura 2: Efecto de H_2S sobre el transporte de oxígeno en animales.



En plantas que se desarrollan en suelos anegados (pantanos, ciénagas, humedales) (ej. arroz), el H_2S que se produce por descomposición de organosulfurados o por la actividad de bacterias reductora de sulfato puede ser letal para el desarrollo de estas plantas. Muchas de estas plantas logran sobrevivir en dicho ambiente gracias a su asociación simbiótica con bacterias que oxidan H_2S (ver sección de *Oxidación Biológica de H_2S* más adelante).

La forma química en que encontramos el H_2S en el ambiente depende del pH:

H_2S	HS^-	S^{2-}
pH ácido (< 6)	pH neutral ($= 7$)	pH básico (> 8)

Tanto el HS^- , como el S^{2-} son muy solubles en agua, mientras que el H_2S es un gas poco soluble, que escapa a la atmósfera. Como señalamos en la sección anterior, el H_2S que llega a la atmósfera es oxidado a óxidos de azufre (SO_x). Estos óxidos al combinarse con agua forman ácido sulfúrico y ácido sulfuroso.

Minerales sulfurados:

Los minerales sulfurados representan un depósito abundante de azufre en la naturaleza (Tabla 2). Estos se encuentran en todos los tipos de rocas y tienden a acumularse en vetas, con la excepción de los depósitos que se encuentran en ciertas rocas sedimentarias. Los sulfuros metálicos resultan ser el grupo más común entre los minerales sulfurados, particularmente los sulfuros de hierro, níquel y cobre. Los minerales sulfurados son la fuente primaria de varios metales preciosos (ej. oro plata y platino) y de la mayoría de los metales con utilidad industrial (ej. antimonio, bismuto, plomo, cobre, nickel y zinc). Otros metales de valor industrial, tales como el cadmio y el selenio se encuentran en cantidades trazas en los minerales sulfurados, siendo recuperados durante los procesos de refinamiento. La extracción y refinamiento de estos minerales y metales se lleva a cabo en fundiciones que emiten cientos de toneladas de SO_2 diariamente.

Tabla 2: Depósitos de azufre.

DEPOSITO	ABUNDANCIA (g)
Atmósfera:	
sulfuro de hidrógeno (H_2S)	9.6×10^{11}
dióxido de azufre (SO_2)	6.4×10^{11}
sulfato (SO_4^{2-})	1.6×10^{13}
Litoecosfera:	
Biomasa organismos vivos*	$2.5 - 4.0 \times 10^{15}$
Biomasa organismos muertos	$3.5 - 6.0 \times 10^{15}$
Inorgánico	desconocida
Océanos:	
Biomasa organismos vivos*	3.5×10^5
Biomasa organismos muertos	3.8×10^7
Inorgánico (sulfato - SO_4^{2-})	1.37×10^{21}
Sedimentos y rocas:	
Yeso (CaSO_4^{2-})	6.3×10^{21}
Sulfuros metálicos**	4.7×10^{21}

* mayormente plantas

** mayormente piritas [ej. FeS_2], chalcocita [Cu_2S], cinabrio [HgS], galena [PbS], wurtzita [ZnS], pentlandita [(Fe,Ni) S_8]

Azufre orgánico:

El azufre orgánico lo encontramos en la biomasa de organismos vivos y muertos y en los combustibles fósiles. (Tabla 2). En adición a los amino ácidos, vitaminas y cofactores que contienen azufre, los microorganismos producen otros organosulfurados. Las algas marinas producen el propionato-dimetilsulfonio como un **soluto compatible**. Los solutos compatibles son compuestos utilizados por muchos microorganismos para ajustar la actividad de agua citoplásmica. Estos compuestos le permiten a muchos microorganismos, que viven en ambientes con una baja actividad de agua (ej. ambientes marinos, salitrales, cuerpos de agua eutróficos) el obtener agua aumentando su concentración de solutos solubles intracelulares. Los solutos compatibles no inhiben los procesos bioquímicos intracelulares y en términos generales son compuestos muy solubles en agua (para más información sobre este tema refiérase a Brock et al., 1994).

El propionato-dimetilsulfonio, en adición a ser utilizado como soluto compatible por algas marinas, puede ser utilizado como fuente de carbono y energía por microorganismos. Este es catabolizado a acrilato y a dimetilsulfuro ($\text{H}_3\text{C-S-CH}_3$). El acrilato, un derivado del ácido graso propionato, es utilizado como fuente de carbono y energía por muchos microorganismos. El dimetilsulfuro es el organosulfurado más abundante en la naturaleza. Su producción anual se estima en unos 45 millones de toneladas. Una vez liberado a la atmósfera, el dimetil sulfuro es oxidado fotoquímicamente a metano ácido sulfónico (CH_3SO_3^-), dióxido de azufre (SO_2) y sulfato (SO_4^{2-}).

Por otro lado, el $\text{H}_3\text{C-S-CH}_3$ producido en ambientes anóxicos puede ser utilizado como:

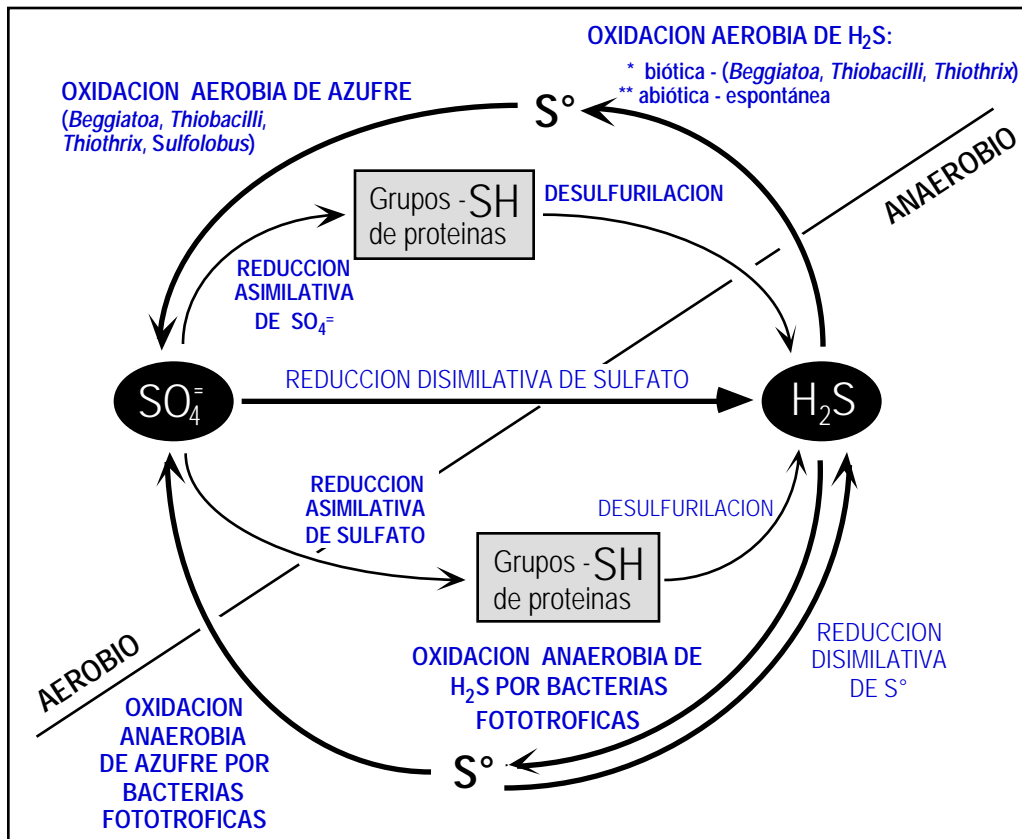
- (i) Sustrato para la metanogénesis (produciendo CH_4 y H_2S)
- (ii) Donante de electrones para la reducción de CO_2 en la fotosíntesis en bacterias púrpuras (produciendo dimetil sulfóxido, DMSO)
- (iii) Donante de electrones en trayectos catabólicos que generan energía en algunos microorganismos quimiorganotrófos y quimiolitotrofos (produciendo dimetil sulfóxido, el cual puede a su vez servir como aceptador de electrones en procesos de respiración anaerobia, generándose nuevamente el dimetil sulfuro).

En la naturaleza, se producen otros organosulfurados que impactan el ciclo de azufre, tales como: metanotiol (CH_3SH), dimetil disulfuro ($\text{H}_3\text{C-S-S-CH}_3$), disulfuro de carbono (CS_2) y organosulfurados aromáticos (ej. tiofenos y tianaftenos, presentes en combustibles fósiles). En términos cuantitativos, la producción y consumo del $\text{H}_3\text{C-S-CH}_3$ se considera como la más significativa y la de mayor impacto ecológico. No obstante, el impacto de los organosulfurados aromáticos en el ciclo de azufre se acentúa en la medida que incrementa la quema de combustibles fósiles. La combustión del petróleo, carbón y gas natural genera alrededor de 50 millones de toneladas de SO_2 anualmente.

Azufre elemental:

Existen depósitos extensos de azufre elemental en la corteza terrestre y en áreas fuera de las costas. Dichos depósitos se han explotado tradicionalmente a través del proceso Frasch. Este consiste en el bombeo de una mezcla de agua supercaliente y vapor de agua (160°C y 16 atm) al depósito subterráneo, para licuar el azufre. Al mismo tiempo se bombea aire comprimido (20 a 25 atm) para forzar el ascenso del azufre elemental licuado. Hoy día, la promulgación de leyes de protección ambiental más estrictas ha llevado a varios países industrializados, como los Estados Unidos, a controlar las emisiones de óxidos de azufre. Como resultado de esos controles, se recuperan grandes cantidades de azufre elemental, como un producto secundario en operaciones industriales (ej. refinerías de petróleo, plantas de carbón). Esta práctica ha reducido la utilización del proceso Frasch en la producción de azufre elemental en países altamente industrializados.

Figura 3: Ciclo redox del azufre.



Una fracción pequeña del azufre elemental es utilizada en el proceso de vulcanización del caucho y como pesticida (ej. asperjando viñedos de uva con polvo de azufre). La mayor parte del azufre elemental es quemado, transformándose a dióxido de azufre. Las consecuencias de esta actividad antropogénica sobre la contaminación del aire y el agua es discutida más adelante.

Transformaciones del azufre de naturaleza biogénica:

Los procesos biológicos que rigen las transformaciones del azufre en la biosfera están ilustrados en la figura 3. A continuación se describen las particularidades de cada proceso.

Reducción de $SO_4^{=}$

La reducción de sulfato a sulfuro de hidrógeno requiere de la inversión de 8 electrones.



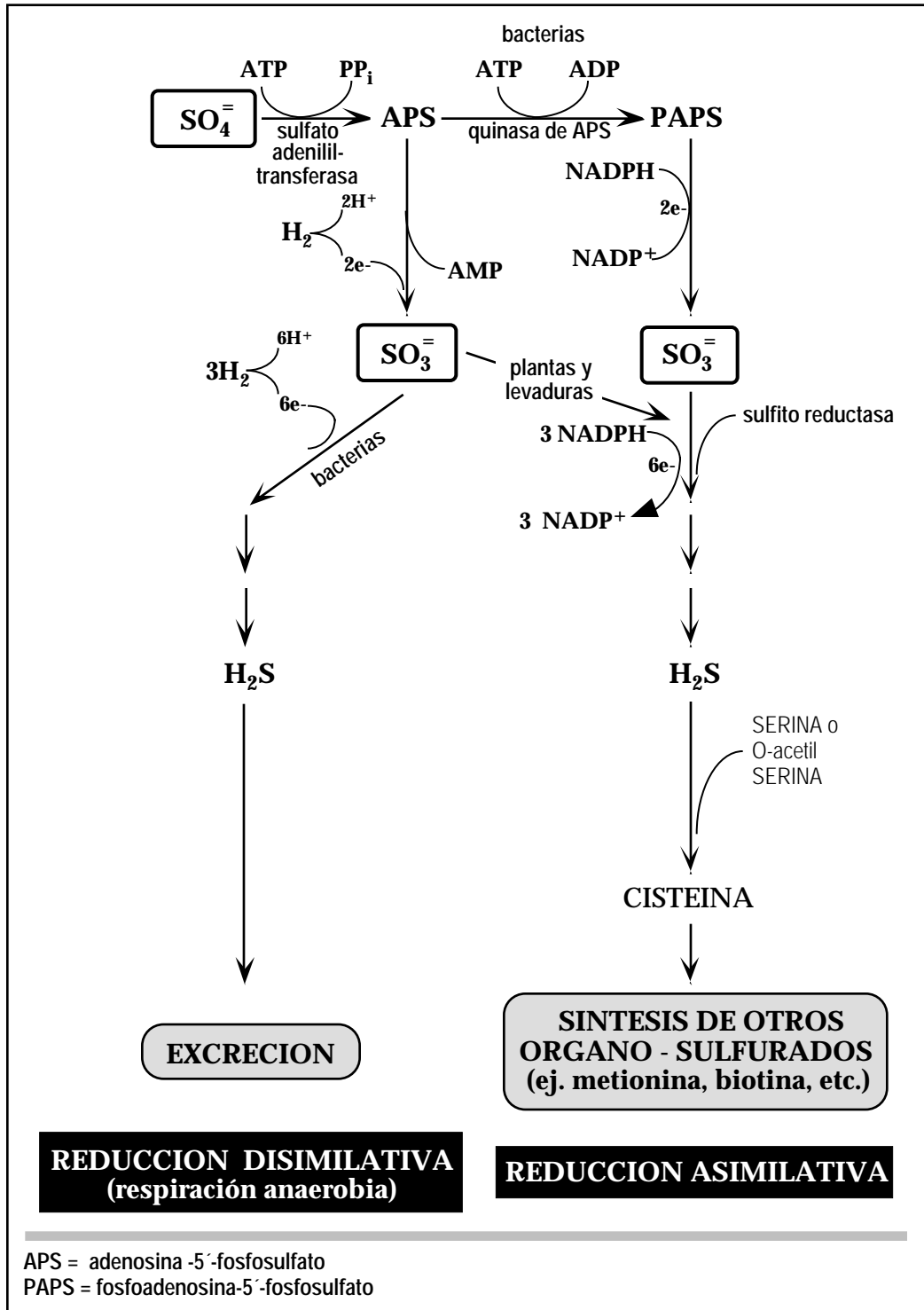
Dicho proceso ocurre en varias etapas, dada la relativamente alta estabilidad de la molécula de $SO_4^{=}$. Al describir los eventos bioquímicos que se producen en la reducción de sulfato es importante hacer una distinción entre la reducción **asimilativa** y la reducción **disimilativa** del sulfato (Figura 4).

Reducción asimilativa de sulfato

La reducción asimilativa del sulfato es el proceso mediante el cual una gran variedad de organismos vivos (incluyendo plantas superiores, algas, hongos y la mayoría de los procariotas) utilizan sulfato como fuente de azufre para la biosíntesis de compuestos organosulfurados (amino ácidos [metionina, cisteína], vitaminas [biotina], coenzimos [coenzimo-A], compuestos osmoreguladores [dimetilsulfuro]). Cabe señalar, que los organismos arriba mencionados pueden utilizar también metionina y cisteína como fuente de azufre. La fuente de azufre para los animales proviene mayormente de los compuestos organosulfurados que consumen en su dieta (especialmente metionina). La metionina que ingieren los animales suple el azufre utilizado en la síntesis de cisteína. A partir de la cisteína se sintetizan otros organosulfurados.

Para la incorporación del sulfato a moléculas orgánicas es necesario reducir el átomo de azufre del sulfato, ya que en los organismos vivos el azufre se encuentra casi exclusivamente en forma reducida [grupos sulfidriilo (-SH) o puentes disulfuro (-S-S-)] (Stanier et al., 1986). De esta forma, la primera fase en la reducción asimilativa de sulfato conlleva la reducción del sulfato a sulfuro de hidrógeno.

Figura 4: Reducción asimilativa y disimilativa de sulfato.



La reducción del sulfato a sulfuro de hidrógeno requiere de la activación del sulfato a expensas de ATP. La sulfurilasa de ATP (sulfato adeniltransferasa, Figura 4) cataliza la adición del ión sulfato a un grupo fosfato del ATP, formándose el fosfosulfato de adenosina (APS) y liberándose una molécula de pirofosfato (PPi). En procariontes, la activación del sulfato conlleva una segunda fosforilación a expensas de ATP, formándose la molécula de fosfoadenosina-5'-fosfosulfato (PAPS). Esta última es reducida a sulfito (SO_3^-) a expensas del coenzimo NADPH. El sulfito es reducido posteriormente a sulfuro de hidrógeno (H_2S), nuevamente, a expensas del coenzimo reducido NADPH.

En plantas, algas y hongos, la conversión de H_2S a azufre orgánico conlleva su reacción con el aminoácido serina para formar el aminoácido sulfurado cisteína.



En bacterias, el H_2S se combina con O-acetilserina para formar cisteína. A partir de la cisteína se sintetizan entonces otras moléculas organosulfuradas.



Reducción disimilativa de sulfato

La reducción disimilativa de sulfato representa un patrón de respiración anaerobia (Figura 4). Consiste en la habilidad de un selecto grupo de microorganismos procariontes para utilizar sulfato como aceptador final en cadenas de transporte de electrones que generan energía. Dicho grupo lo componen bacterias anaerobias estrictas conocidas como bacterias reductoras de sulfato. Estas se han dividido en dos grupos fisiológicos: bacterias oxidante de acetato y las bacterias no-oxidantes de acetato (Tabla 3).

La reducción disimilativa de SO_4^- requiere, al igual que la reducción asimilativa, de la activación del sulfato a expensas de ATP. No obstante, dicha activación se produce en una sola etapa, generándose la molécula adenosina-5'-fosfosulfato (APS). Dicha molécula es reducida a sulfito (SO_3^-) a expensas de hidrógeno molecular (H_2). La reducción de APS a sulfito y la reducción de este último a sulfuro de hidrógeno (H_2S) es catalizada por la enzima reductasa de APS. Dicha reducción ocurre a través de una cadena de transporte de electrones que emplea una o más quinonas, portadores de electrones con un potencial de redox relativamente bajo, tales como ferredoxina, flavodoxina y citocromos muy particulares como el citocromo **c3** y un citocromo tipo **b**. Es conveniente señalar que existen varias patrones de cadenas de transporte de electrones entre las bacterias reductoras de sulfato. Dichas cadenas están acopladas a la síntesis de ATP a través de la generación de un gradiente de protones. La evidencia en favor de este esquema proviene de experimentos donde se logra abolir la reducción de sulfato a sulfito y la síntesis de ATP, utilizando agentes desacoplantes de la cadena

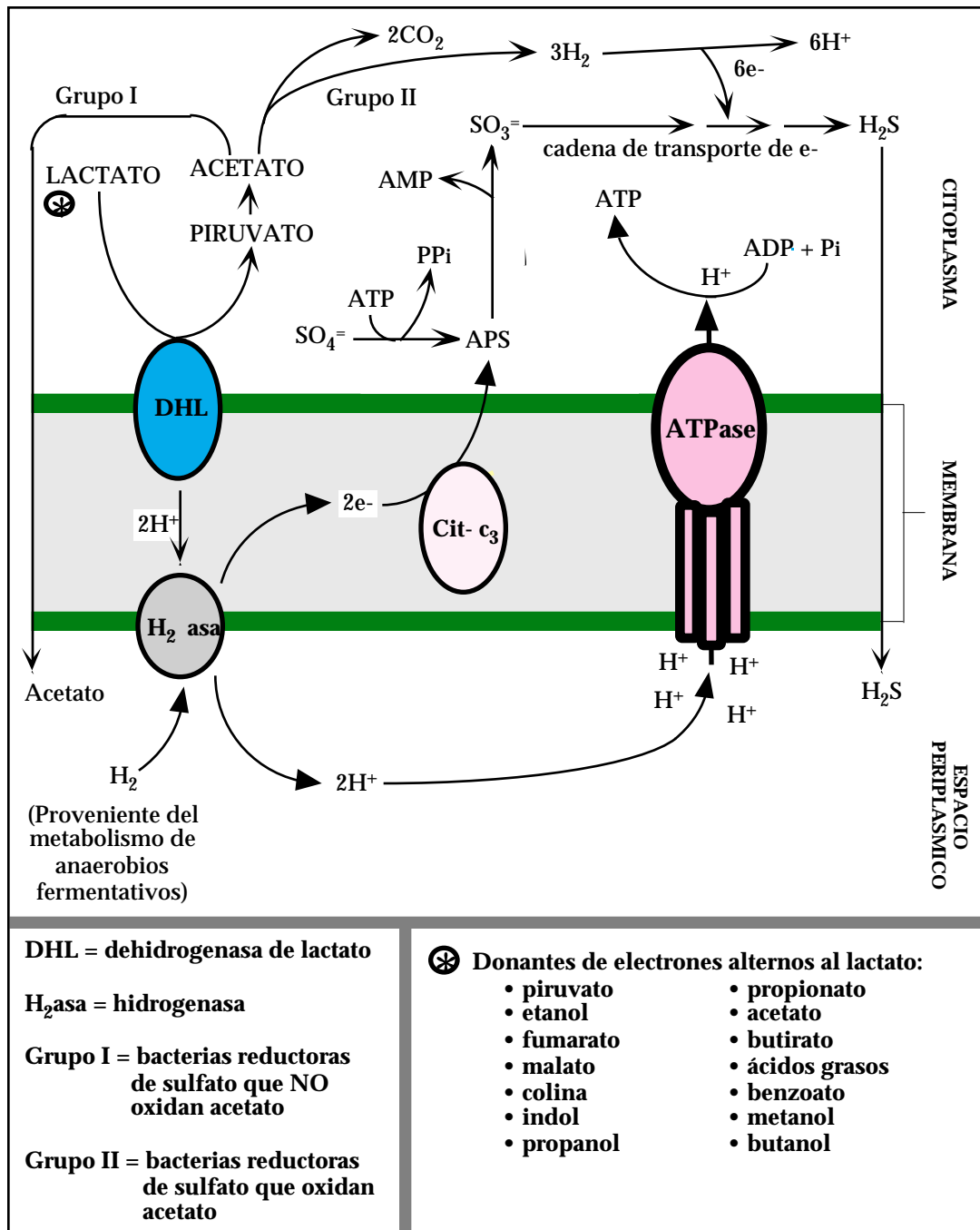
de transporte de electrones tales como ionóforos de protones y dicitclohexilcarbodimida (DCCD) (Caldwell, 1995). No se conoce aún el mecanismo exacto mediante el cual sintetizan ATP las bacterias reductoras de sulfato.

Tabla 3: Bacterias reductoras de sulfato.

GRUPO/GENERO	RASGOS FENOTIPICOS SOBRESALIENTES			
	GRAM	MORFOTIPO	ESPORAS	CAPACIDAD CRECIMIENTO AUTOTROFICO
GRUPO - I (No Oxidan Acetato)				
<i>Desulfovibrio</i>	-	bacilos curvos	-	+
<i>Desulfomicrobium</i>	-	bacilos	-	-
<i>Desulfobotulus</i>	-	vibrios	-	-
<i>Desulfotomaculum</i>	-	bacilos	+	-
<i>Archaeoglobus</i>	*	pleomórfico	-	-
<i>Desulfobulbus</i>	-	ovoide	-	-
<i>Thermodesulfobacterium</i>	-	bacilos	-	-
GRUPO - II (Oxidan Acetato)				
<i>Desulfobacter</i>	-	bacilos	-	-
<i>Dsulfobacterium</i>	-	bacilos	-	+
<i>Desulfococcus</i>	-	cocos	-	+
<i>Dseufonema</i>	+	filamentos	-	+
<i>Desulfosarcina</i>	-	cocos	-	+
<i>Desulfoarculus</i>	-	vibrios	-	-

La figura 5 presenta un posible esquema de acoplamiento entre los procesos de oxidación de hidrógeno, reducción de sulfato y síntesis de ATP en bacterias reductoras de sulfato. Dicho esquema nos permite ilustrar los dos modos nutricionales que operan en las bacterias reductoras de sulfato. Por un lado tenemos bacterias reductoras de sulfato que crecen autotróficamente por quimiolitototrofia. Dichas bacterias crecen a expensas de CO₂, (fuente de carbono), H₂, (fuente de electrones) y SO₄⁼ (aceptador de electrones). Del otro lado, tenemos que la mayoría de las bacterias reductoras de SO₄⁼ son quimiorganotroficas. Estas utilizan compuestos orgánicos como fuente de carbono y fuente de electrones y utilizan el SO₄⁼ como aceptador de electrones (Figura 4).

Figura 5: Esquema de acoplamiento de la reducción de sulfato, oxidación de H₂ y la síntesis de ATP en bacterias reductoras de sulfato.



El SO₄⁼ es un aceptador de electrones con un potencial de reducción menor al del oxígeno y el nitrato (Tabla 4). Por tal razón, el rendimiento energético de la reducción disimilativa es menor al observado en bacterias que utilizan O₂ o NO₃⁻ como aceptador final de electrones. En consecuencia, las bacterias reductoras de sulfato exhiben una

razón de crecimiento menor a la que presentan bacterias que crecen a expensas de oxígeno o nitratos, como aceptador de electrones. No obstante, las bacterias reductoras de sulfato pueden generar suficiente energía para producir

Tabla 4: Potencial Redox de aceptadores de electrones.

Pareja Redox	E_o' (V)
O_2/H_2O	+ 0.82
NO_3^-/NO_2^-	+ 0.43
SO_4^{2-}/HS^-	- 0.22

* Datos tomados de Brock y otros (1994).

ATP, cuando crecen a expensas de sustratos orgánicos que les permiten generar los coenzimos reducidos NADH o FADH. El sustrato fermentable más común es piruvato el cual es oxidado a acetato, CO_2 y H_2 . Cuando estas bacterias crecen a expensas de etanol o lactato se obtiene poca energía de la fermentación, requiriendo entonces sulfato para poder crecer. La aportación energética de la reducción de sulfato es evidente cuando comparamos la cantidad de biomasa producida en cultivos que crecen a expensas de piruvato en presencia y ausencia de sulfato. En presencia de sulfato el rendimiento de crecimiento es mayor, dado que se produce más energía al acoplar la fermentación del piruvato a la reducción de sulfato (Figura 4). Estudios realizados con bacterias del género *Desulfovibrio* sugieren una relación estequiométrica entre la producción de ATP y la reducción de sulfato de: 1 ATP neto/ SO_4^{2-} reducido a H_2S o de 3ATP netos/ SO_3^- reducido a H_2S .

La fuente principal de sulfuros en ecosistemas marinos es la reducción disimilativa de sulfatos, dada la alta concentración de sulfatos que prevalece en dichos ambientes. Dicha reacción ocurre de forma extensa en lugares donde encontramos altas concentraciones materia orgánica oxidable. En muchos sedimentos marinos la razón de reducción de sulfato esta limitada por los niveles de carbono disponible. Dicha razón puede incrementarse significativamente con la adición de materia orgánica. Este señalamiento es importante al momento de evaluar el impacto ambiental de las descargas de materia orgánica (aguas de alcantarillado, efluentes ricos en desperdicios orgánicos) en ambientes marinos. Dado que el H_2S es una substancia de alta toxicidad para muchos organismos, su formación representa una amenaza potencial para estos.

Por otro lado, los procesos de respiración anaerobia a expensas de sulfatos en ambientes marinos limitan la actividad de los metanógenos en dicho ambiente. Los metanógenos compiten con la bacterias reductoras de sulfato por los donantes de electrones disponibles, particularmente H_2 y acetato. Dada la alta concentración de sulfatos en ambientes salinos, se favorece la reducción de SO_4^{2-} sobre la reducción de CO_2 o acetato a metano. En ambiente de agua dulce anóxicos la actividad metanogénica

es más abundante que en ambientes salobres, según disminuye la concentración de sulfatos.

Reducción disimilativa de azufre elemental (S°)

Las bacterias reductoras de azufre se caracterizan por su capacidad para reducir el azufre elemental a sulfuro, y por su incapacidad para reducir sulfato hasta sulfuro. Varios géneros de arqueobacterias y eubacterias quimioorganotróficas demuestran la capacidad de oxidar sustratos orgánicos (principalmente péptidos pequeños, glucosa y almidón) anaeróbicamente, utilizando S° como aceptador final de electrones. En arqueobacterias este proceso de respiración anaerobia se observa mayormente en los géneros *Thermococcus* y *Thermoproteus*, y en menor grado en los géneros *Desulfurococcus*, *Thermofilum* y *Pyrococcus*.



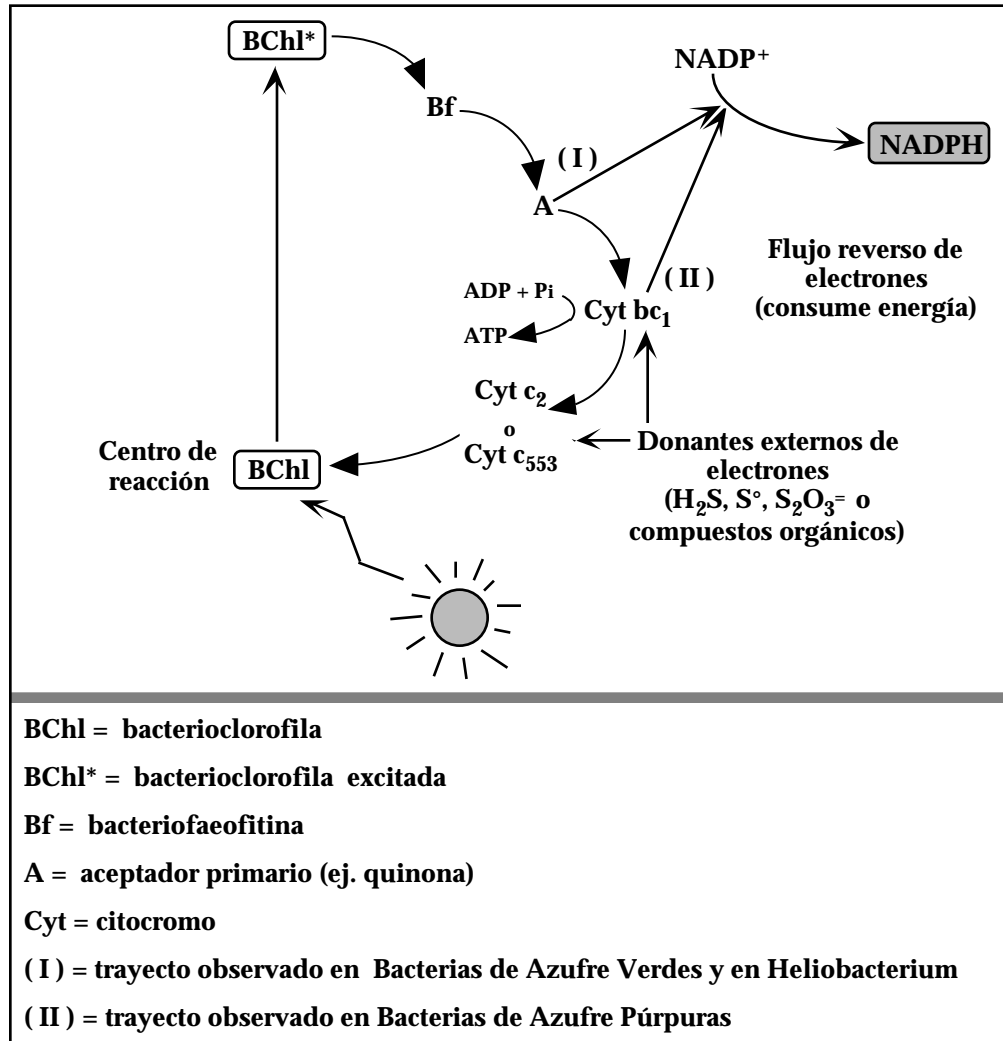
Otro grupo de arqueobacterias quimiolitotróficas demuestran la capacidad de crecer autotóricamente a expensas de CO₂, H₂ y S°. Este grupo lo integran arqueobacterias de los géneros *Acidians*, *Pyrodictium* y *Thermoproteus*. En el grupo de las eubacterias, la respiración anaerobia de S° es llevada a cabo por bacterias pertenecientes a los géneros: *Desulfuromonas*, *Desulfurella* y *Campylobacter*. Estas bacterias acoplan la oxidación de sustratos tales como acetato y etanol a la reducción de azufre elemental a sulfuro de hidrógeno. La capacidad para reducir azufre elemental se extiende también a bacterias aerobias facultativas quimioorganotróficas pertenecientes a los géneros *Proteus*, *Pseudomonas* y *Salmonella*. Estas bacterias también exhiben la capacidad de reducir compuestos sulfurados tales como tiosulfato sulfito y dimetilsulfóxido (DMSO).

Oxidación anaerobia de H₂S, S° y SO₃⁼ por fototrofos

La mayoría de las bacterias fotosintéticas verdes y púrpuras son capaces de oxidar compuestos sulfurados reducidos a sulfato, bajo condiciones anaerobias (Figura 6) (Brock et al., 1994). Los donantes de electrones más comunes en las bacterias fototróficas antes mencionadas son el sulfuro de hidrógeno (H₂S) y el tiosulfato (SO₃⁼). La figura 7 presenta un esquema general de los patrones de oxidación de compuestos sulfurados que operan en bacterias fotosintéticas. El azufre elemental (S°) se forma frecuentemente durante la oxidación del sulfuro de hidrógeno o el tiosulfato. Este se puede acumular en el interior de la célula (ej. *Chromatium*) o puede ser depositado fuera de la célula, adherido a su superficie externa (ej. bacterias fotosintéticas verdes). El S° almacenado en forma de glóbulos intracelulares o depósitos extracelulares representa una fuente de electrones de rápido acceso para la célula fotosintética. No obstante, aparentemente el azufre elemental **no** es un intermediario obligado en la oxidación del sulfuro al sulfato, siendo más bien un producto colateral que se acumula cuando las concentraciones de sulfuro en el ambiente son altas. De hecho, cuando los niveles de

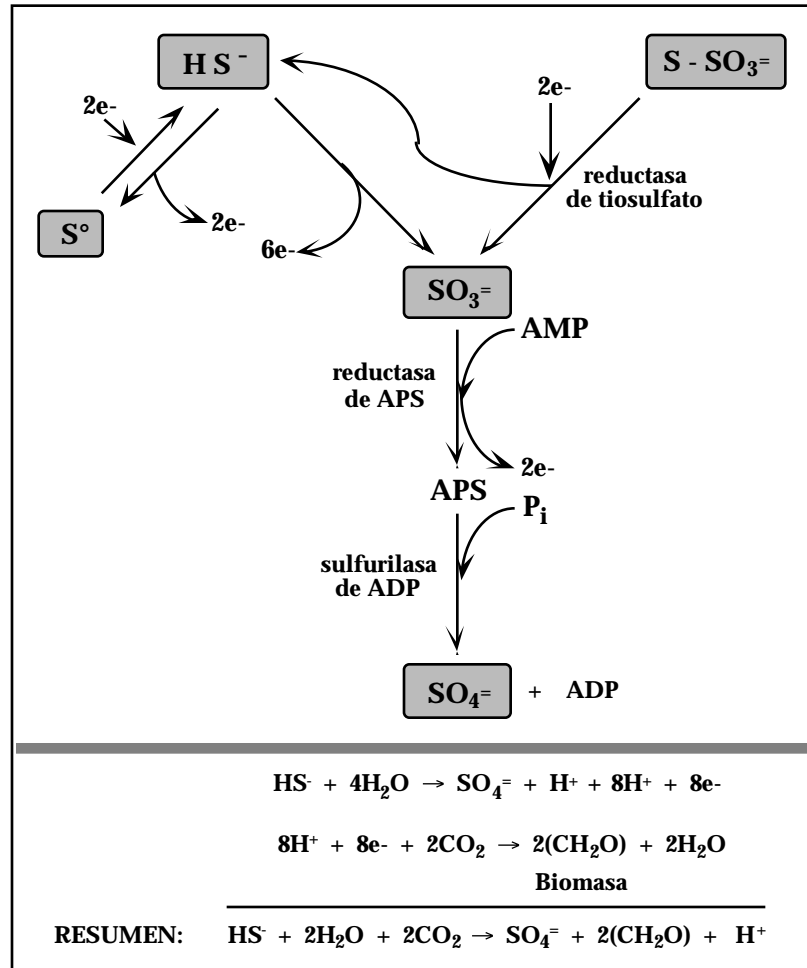
sulfuro son limitantes, este se oxida directamente a sulfato sin formarse el azufre elemental.

Figura 6: Esquema del flujo de electrones en la fotosíntesis anoxigénica.



* Figura modificada de Brock y otros (1994).

Figura 7: Rutas de oxidación anaerobia de compuestos sulfurados reducidos en bacterias fotosintéticas.



* Figura modificada de Brock y otros (1994).

Oxidación aerobia de H_2S , S° y SO_3^{2-} por quimiolitotrofos

Existe un grupo de procariontes quimiolitotróficos capaces de crecer a expensas de sulfuro de hidrógeno, azufre elemental o tiosulfato como donantes de electrones. Dicho grupo se identifica como las bacterias de azufre incoloras. El término **incoloras** es empleado para diferenciar dicho grupo de las bacterias fotosintéticas pigmentadas (bacterias fotosintéticas verdes y púrpuras). El grupo de bacterias de azufre incoloras está integrado por los siguientes géneros: *Thiobacillus*, *Thiosphaera*, *Thiomicrospira*, *Thermothrix*, *Beggiatoa* y *Sulfolobus*. Aunque se han reportado otros géneros con la capacidad para oxidar azufre (Tabla 5), sólo los seis géneros antes mencionados se han podido cultivar de forma consistente.

Tabla 5: Características fisiológicas de bacterias quimiolitotróficas que oxidan azufre.

Género/especie	Donante de electrones	Rango de pH óptimo para el crecimiento	Comentarios
<i>Thiobacillus</i> [*]			algunas especies pueden crecer
<i>T. thioparus</i>	H ₂ S, sulfuros, S ⁰ , S ₂ O ₃ ⁼	6 - 8	como quimioorganotrofos
<i>T. denitrificans</i> ^{**}	H ₂ S, S ⁰ , S ₂ O ₃ ⁼	6 - 8	
<i>T. neapolitanus</i>	S ⁰ , S ₂ O ₃ ⁼	6 - 8	
<i>T. thiooxidans</i>	S ⁰	2 - 4	
<i>T. ferrooxidans</i>	S ⁰ , sulfuros, Fe ²⁺	2 - 4	
<i>T. novellus</i>	S ₂ O ₃ ⁼	6 - 8	
<i>T. intermedius</i>	S ₂ O ₃ ⁼	3 - 7	
<i>Beggiatoa</i>	H ₂ S, S ₂ O ₃ ⁼	6 - 8	quimiolitotrofo filamentoso/pero no puede crecer autotróficamente
<i>Thiothrix</i>	H ₂ S	6 - 8	quimiolitotrofo filamentoso
<i>Thiomicrospira</i> ^{***}	S ₂ O ₃ ⁼ , H ₂ S	6 - 8	quimiolitotrofos obligados
<i>Thiosphaera</i>	H ₂ S, S ₂ O ₃ ⁼ , H ₂	6 - 8	puede crecer también como quimioorganotrofo
<i>Thermothrix</i> ^{**}	H ₂ S, S ₂ O ₃ ⁼ , SO ₃ ⁻	6.5 - 7.5	habita en manantiales termales ricos en azufre, puede crecer también como quimioorganotrofo
<i>Sulfolobus</i>	H ₂ S, S ⁰	1 - 5	arqueobacteria termofílica
<i>Acidianus</i>	S ⁰	1 - 5	arqueobacteria termofílica

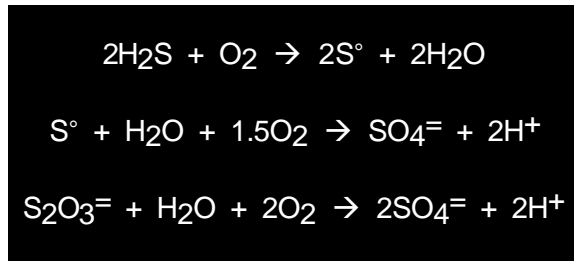
* Es difícil obtener cultivos puros de los tiobacilos que crecen mejor a un pH neutral, dado que la oxidación del azufre conlleva la producción de ácido sulfúrico. Esto acarrea una disminución en pH que provoca la muerte del cultivo. Es necesario utilizar un amortiguador fuerte y un transferencia frecuente de los cultivos para poder cultivar estas bacterias.

** Aerobios facultativos: pueden utilizar NO₃⁻ como aceptador de electrones.

*** Una de sus especies utiliza NO₃⁻ como aceptador de electrones.

El producto final de la oxidación del azufre en la mayoría de los casos es SO₄⁼. En varias de las bacterias de azufre incoloras (con la excepción del género *Thiobacillus*) la

oxidación del H₂S se produce por etapas, siendo la primera etapa la oxidación de sulfato a azufre elemental.



Algunas de estas bacterias almacenan el azufre elemental en forma de gránulos intracelulares (ej. *Beggiatoa*). Dichos depósitos representan una reserva de energía cuando el suministro de H₂S es limitado. Estas bacterias obtienen entonces energía de la oxidación del S[°] a SO₄⁼. En aquellas situaciones donde el azufre elemental está disponible mediante fuentes exógenas, el organismo crece adherido a partículas de azufre, dada la alta insolubilidad del azufre elemental. Tal es el caso de *Sulfolobus acidocaldarius*, una arqueobacteria que puede crecer adherida a cristales de azufre elemental. Al adherirse a los cristales de azufre el organismo puede solubilizar e incorporar los átomos de azufre que utiliza como fuente de energía.

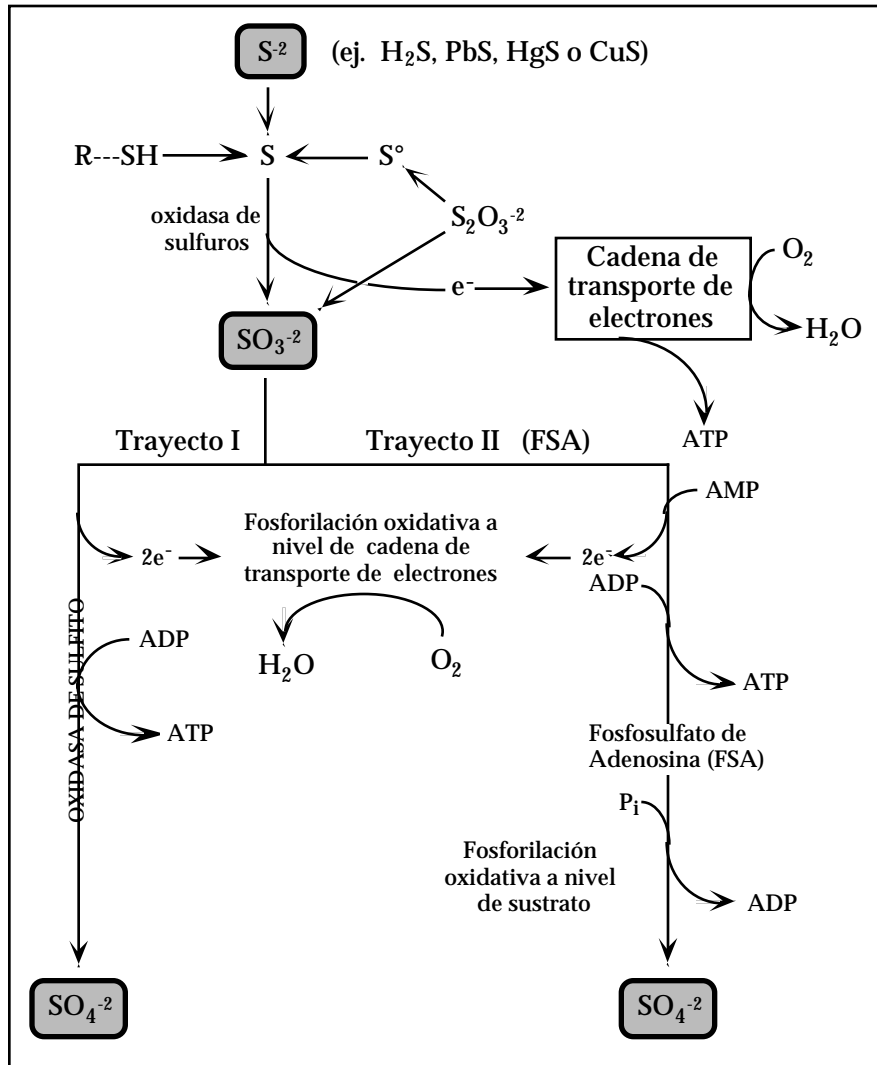
En el caso de las bacterias del género *Thiobacillus* la oxidación de sulfuros, particularmente H₂S, no produce azufre elemental como producto intermediario. No obstante, estos microorganismos generan S[°] cuando oxidan tiosulfato (Figura 8). El azufre elemental que se produce de la oxidación de tiosulfato puede ser oxidado posteriormente cuando el suministro de tiosulfato sea escaso. Si la fuente de tiosulfato es escasa, la bacteria no acumula S[°]. Esto implica que bajo condiciones limitantes de tiosulfato, el azufre elemental se oxida tan pronto es producido.

Es conveniente señalar que en las reacciones de oxidación de azufre descritas anteriormente, uno de los productos generados es H⁺. Por lo tanto, uno de los resultados de la oxidación de compuestos de azufre, por bacterias de azufre incoloras, es la acidificación del medio. El ácido que generan estas bacterias es ácido sulfúrico (H₂SO₄). Dentro del grupo de las bacterias de azufre incoloras se han identificado dos subgrupos a base de la capacidad que exhiben algunas especies para vivir en ambientes con un pH ácido, mientras otras especies viven en ambientes con un pH neutral. Muchas de las especies bacterianas que viven en ambientes ácidos también exhiben la capacidad para crecer como quimiolitotrofos, utilizando el ión ferroso como donante de electrones (Brock et al., 1994) (refiérase a la unidad del **Hierro**).

La figura 9 ilustra una cadena de transporte de electrones típica para organismos quimiolitotrofos que oxidan azufre inorgánico reducido. Los electrones provenientes de la oxidación de sulfuros, tiosulfato o azufre elemental entran en diferentes puntos de la cadena de transporte dependiendo de su potencial de reducción. Se genera ATP a

través de la fosforilación oxidativa acoplada a la cadena de transporte de electrones de electrones, siendo oxígeno el aceptador final de los electrones. La energía para la fosforilación de ADP a ATP proviene de la generación de un gradiente de protones.

Figura 8: Patrones de oxidación aeróbica de compuestos sulfurados en bacterias del género *Thiobacillus*.

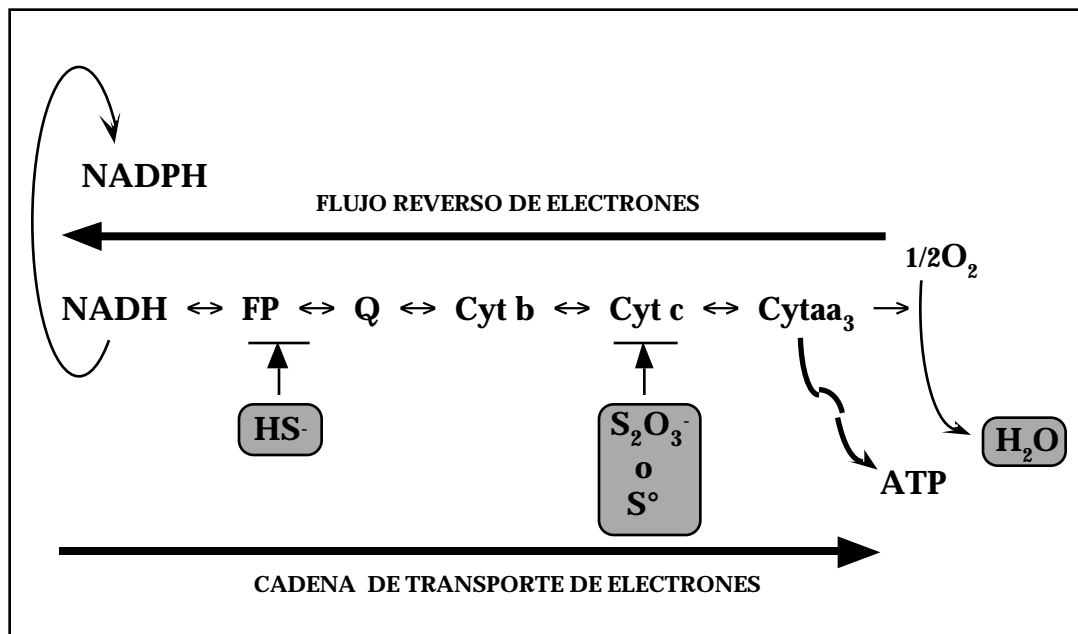


* Figura modificada de Brock y otros (1994).

La oxidación de sulfuros y azufre se inicia con la reacción de dichos sustratos con grupos sulfhidrilos de la célula (ej. glutatión), formándose un complejo sulfuro-sulfidrilado. El sulfuro es oxidado a sulfito mediante la enzima oxidasa de sulfuro. Existen dos rutas alternas (I y II) a través de las cuales el sulfito puede ser oxidado a sulfato para producir ATP. El trayecto II (FSA) se ha encontrado únicamente en algunas especies de *Thiobacillus*. Cuando el sustrato oxidable es tiosulfato los tiobacilos producen azufre elemental. No obstante, cuando la fuente de azufre son sulfuros no se produce azufre elemental.

En el caso de los quimiolitotrofos que tienen la capacidad de crecer autotóricamente, los electrones para la reducción de CO_2 provienen de un **flujo reverso de electrones** a lo largo de la cadena de transporte de electrones. Dicho flujo reverso de electrones permite la reducción del coenzimo NADPH, pero requiere de la inversión de energía, ya que los electrones se mueven en contra de un gradiente de potencial de reducción. Cuando el donante de electrones es tiosulfato o azufre elemental, observamos un trayecto abreviado para la generación de energía (poca producción de ATP por molécula de azufre oxidada) al compararse con el trayecto de oxidación de sulfuros. Al mismo tiempo observamos que el trayecto para la reducción de NADPH mediante el flujo reverso de electrones resulta largo requiriéndose una mayor inversión de energía si se compara con el trayecto que opera cuando el donante de los electrones es sulfuro. Esta situación explica el pobre rendimiento del crecimiento de bacterias quimiolitotrofas que obtienen su energía a expensas de la oxidación de tiosulfato o azufre elemental. Finalmente, estas bacterias quimiolitotróficas autotóricas utilizan el ciclo de Calvin para la fijación de CO_2 .

Figura 9: Diagrama del flujo de electrones típico en bacterias quimiolitotróficas que oxidan azufre como fuente de energía.



Algunas bacterias quimiolitotrofas que oxidan azufre requieren de materia orgánica como fuente de carbono. Estas bacterias se conocen como **mixotrofas**; utilizan H_2S como fuente de energía y un compuesto orgánico como fuente de carbono (carecen de las enzimas del Ciclo de Calvin). A este grupo pertenecen las bacterias del género *Beggiatoa*. Estas bacterias están ampliamente distribuidas en sedimentos marinos y en sedimentos de agua dulce. En el caso particular de *Beggiatoa*, Joshi and Hollis (1977) han señalado que la planta de arroz y quizás otras plantas que crecen parcialmente

sumergidas se protegen del efecto tóxico del sulfuro de hidrógeno a través de una asociación mutualista con bacterias de dicho género. Bacterias del género *Beggiatoa* en la rizosfera de la planta de arroz evitarían la intoxicación de la planta con el sulfuro de hidrógeno que prolifera en dichos ambientes, recibiendo a cambio fotosintetatos liberados por la raíz de la planta

Oxidación anaerobia de H_2S , S^0 y SO_3^{2-} por quimiolitotrofos

Un grupo reducido de bacterias quimiolitotróficas que oxidan azufre pueden utilizar nitratos (NO_3^-) como aceptador final de electrones, en lo que constituye un proceso de respiración anaerobia. Este patrón metabólico ha sido observado en bacterias de los géneros *Thiomicrospira* y *Thermothrix* (ver tabla 5).

Desulfurilación

La putrefacción de materia orgánica conteniendo azufre y su posterior desulfurilación genera sulfuros (HS^-). De hecho, la descomposición de compuestos organosulfurados representa una fuente significativa de sulfuros en ecosistemas de agua dulce. Muchas bacterias descomponedoras pueden liberar H_2S de la oxidación de amino ácidos que contienen azufre. En zonas anóxicas de ambientes marinos, los sulfuros se originan mayormente de la reducción disimilativa de sulfato (respiración anaerobia) y no de la desulfurilación, dada su alta concentración de sulfatos.

Azufre y la contaminación ambiental:

El aire contaminado por actividades industriales es menudo llamado: niebla industrial ("industrial smog"). Dos componentes importantes de dicha niebla son el SO_2 y el SO_3 (identificados en forma colectiva como SO_x). Estos óxidos de azufre se originan de varias fuentes:

- ✓ de la oxidación espontánea del sulfuro de hidrógeno que escapa a la atmósfera.
- ✓ de emanaciones volcánicas y de depósitos de gas natural
- ✓ actividades antropogénicas:
 - combustión de combustibles fósiles
 - extracción de minerales preciosos y forja de metales
 - vulcanización del caucho
 - elaboración de agentes decolorantes y preservativos en la industria de alimentos
 - separación de la lignina y otros materiales no deseados de la pulpa de madera para la producción de papel y rayón

El SO_2 es un gas irritante, que agrava los síntomas de personas que padecen de asma, bronquitis enfisema y otras enfermedades respiratorias. Al combinarse con agua forma ácido sulfuroso, el cual es muy inestable. Las sales de este ácido se oxidan fácilmente a sulfatos, siendo esta una de las fuentes de sulfato en el agua de lluvia.

El trióxido de azufre se origina de la oxidación aeróbica del SO_2 . Este proceso es normalmente lento, pero puede ser acelerado en presencia de partículas pequeñas de ceniza. En adición, cuando la humedad del aire es alta las partículas de ceniza promoverán la conversión del vapor de agua a un aerosol de pequeñas gotas de agua que llamamos niebla. El trióxido de azufre al combinarse con el vapor de agua forma ácido sulfúrico. Cuando inhalamos dicho aerosol las gotas de ácido sulfúrico son tan pequeñas que pueden quedar atrapadas en el tejido pulmonar causando daños severos. Se han producido casos de niebla tóxica que han causado la muerte de muchas personas. Como ejemplo podemos citar un incidente acaecido en Londres en 1952, donde una niebla tóxica cubrió la ciudad durante 5 días provocando la muerte de 4, 000 personas.

Cuando se produce una precipitación pluvial en un área donde los niveles del trióxido de azufre son relativamente altos se produce el fenómeno de **lluvia ácida** (ver unidad de **pH** en este manual). El pH del agua de lluvia es normalmente ácido (alrededor de 5.3) debido a la presencia de ácido carbónico, ácido fórmico y ácido acético. Estos se consideran constituyentes normales del agua de lluvia. Cuando se registran lecturas de pH muy por debajo de 5.0 en agua de lluvia o en niebla, se adjudican generalmente a la contaminación de la atmósfera con SO_3 o con óxidos de nitrógeno (NO_x). Estos últimos son generados por vehículos de motor y por plantas generadoras de energía eléctrica. En adición a los efectos detrimentales que ocasiona la lluvia ácida a la vegetación terrestre y a los organismos que habitan en cuerpos de agua dulce (particularmente la ictiofauna), esta es responsable del desgaste y deterioro acelerado de muchas estructuras y esculturas de piedra edificadas por los seres humanos.



METODOLOGIA

PROCEDIMIENTO A SEGUIR

SULFATO : Manual análisis químico Hach

SULFUROS: Manual análisis químico Hach



PREGUNTAS...

1. Describa los procesos biológicos envueltos en la síntesis de H_2S .
2. Identifique las fuentes de H_2S y SO_2 en la biofera.
3. Indique que relación guarda el azufre con el fenómeno de lluvia ácida.

TERCERA PARTE

NUTRIENTES Y GASES: FOSFORO

CONTRARIO A LAS NUMEROSAS formas de nitrógeno en ecosistemas acuáticos, la única forma significativa de fósforo inorgánico es el ortofosfato (PO_4^{-3}). Una proporción elevada (>90%) del fósforo en lagos está unida a materia orgánica formando fosfatos orgánicos y constituyentes celulares en la materia particulada viva del seston o asociado en varias formas a materiales inorgánicos y materia orgánica particulada muerta.

El fósforo inorgánico y orgánico ha sido separado en varias formas o fracciones. Dichas fracciones no guardan relación con el metabolismo del fósforo. La fracción más importante, a la luz de las actividades metabólicas que se producen en un lago, es el contenido de fósforo total en agua no filtrada, que consiste en el fósforo en suspensión en materia particulada y el fósforo en forma disuelta. Ambas fracciones se subdividen, a su vez, en varias fracciones:

I - Fósforo particulado

1. Fósforo en organismos
 - a. ácidos nucleicos (ADN y ARN) - éstos no están envueltos en un reciclaje rápido de fósforo
 - b. fosfo - proteínas
 - c. nucleótidos fosfatados - ADP y ATP ligados a los procesos de respiración y asimilación de CO_2
2. Fase mineral de rocas y suelos
 - a. **Apatita $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3^+ \text{X}^-$**
(ej. **Hidroxy Apatita** y **Fluoro Apatita**, esta última es la principal fuente mineral en material ígneo). Estas representan fases mixtas

en la cual el fósforo se absorbe a complejos inorgánicos, tales como:

- (i) arcillas
 - (ii) carbonatos
 - (iii) hidróxidos férricos
3. Fósforo absorbido a materia orgánica particulada muerta o asociaciones macroorgánicas

II - Fósforo inorgánico disuelto

1. Ortofosfato
2. Polifosfatos - principalmente originados de detergentes sintéticos
3. Coloides orgánicos o fósforo combinado a coloides adsorbidos

Análisis químico:

Los análisis químicos están centrados alrededor de la reactividad del fósforo en el molybdato y los cambios en reactividad de las formas complejas de fósforo, durante hidrólisis enzimática y ácida, según éstas son convertidas a ortofosfato. Análisis químicos detallados reconocen ocho formas de fósforo, cada una de las cuales se diferencian a base de reactividad con molibdato, facilidad de hidrólisis y tamaño de las partículas. No obstante, hoy día se han establecido cuatro categorías operacionales para simplificar el análisis del fósforo. Las categorías son las siguientes:

1. Fósforo soluble reactivo
2. Fósforo soluble no-reactivo
3. Fósforo particulado reactivo
4. Fósforo particulado no-reactivo

Estas categorías no necesariamente corresponden a las especies químicas de compuestos de fosfato o a su rol en el reciclaje biótico de fósforo. De hecho, la mayoría de los datos publicados sobre concentraciones de fósforo en aguas frescas es reportada como: **fósforo-total** y como **fósforo inorgánico soluble (orto-fosfatos)**. En algunos estudios más sofisticados se presentan los datos de fósforo en términos de otras cuatro categorías:

1. Fósforo soluble
2. Fósforo suspendido soluble en ácido (sestónico)
[ej. fosfato férrico, fosfato de calcio]
3. Fósforo orgánico soluble y fósforo coloidal
4. Fósforo orgánico suspendido (sestónico)

Concentración de fósforo total en aguas naturales:

Los niveles de fósforo total en cuerpos de agua naturales han sido utilizados para caracterizar el grado de contaminación de dichos hábitats. Los siguientes rangos han sido utilizados con dicho fin:

1. **Aguas no contaminadas** → $1 \mu\text{g/L} > 200 \mu\text{g/L}$ (en lagos salinos)
2. **Aguas superficiales no contaminadas** = **10 - 50 $\mu\text{g P/L}$** (la variación es grande dependiendo de la estructura geoquímica de la región)

Los niveles de fósforo son generalmente menores en regiones montañosas de geomorfología cristalina. La concentración de fósforo aumenta en tierras bajas derivadas de depósitos rocosos sedimentarios. Lagos ricos en materia orgánica, tales como pantanos y ciénagas tienden a exhibir concentraciones de fósforo más altas.

Fósforo y productividad:

Estudios detallados de la productividad de lagos y su relación con fósforo y nitrógeno (Vollenweider, 1968), han demostrado, por varios criterios, que la cantidad de fósforo total aumenta en productividad del lago. Aunque hay sus excepciones, esto demuestra un principio general que es útil cuando se aplica a estudios de eutroficación (Tabla 1).

Tabla 1:

NIVEL DE PRODUCTIVIDAD	FOSFORO TOTAL ($\mu\text{g/L}$)
ULTRA - OLIGOTROFICO	< 5
OLIGO - MESOTROFICO	5 - 10
MESO - EUTROFICO	10 - 30
EUTROFICO	30 - 100
HIPER - EUTROFICO	> 100

* Datos tomados de Wetzel (1992).

Fósforo orgánico:

La separación del fósforo total en fracciones inorgánica y orgánica en un gran número de lagos, indica que la mayoría del fósforo total está en la fase orgánica. El fósforo orgánico total se encuentra distribuido de la siguiente forma:

- 70% - dentro de material orgánico particulado (sestónico)
- 30% - fósforo disuelto y fósforo orgánico coloidal

Los trabajos de Regler (1964) demuestran que los datos de investigadores pioneros, que emplearon métodos de centrifugación y filtración a través de papel, menoscababa el rol y

la calidad de fósforo orgánico, sestónico. El fósforo orgánico soluble incluye una fracción grande de fósforo coloidal. Este último se revela rápidamente en las zonas epilimnéticas de utilización. La razón de fósforo inorgánico soluble a otras formas de fósforo es de 1:20 (< 5%). El porcentaje de fósforo total en forma de ortofosfato es considerablemente bajo (< 5%) en la mayoría de los cuerpos de agua naturales.

Fosforo inorgánico:

La disponibilidad de las formas inorgánicas de fósforo para sostener la productividad en orden descendente es la siguiente: ortofosfato > pirofosfato > trifosfato > aniones polifosfatos mayores. Estas formas químicas del fósforo forman complejos quelados y sales insolubles cuando se asocian con iones de metales. El grado de formación de complejos y quelados entre los fosfatos inorgánicos y los iones de metales en cuerpos de aguas naturales dependerán del: pH y de la presencia de otros ligandos (SO_4 , carbohidratos, fluoruro, especies orgánicas).

Efecto de metales en la distribución del fósforo:

Dado que la concentración de ortofosfatos [PO_4^{3-}] es usualmente baja, la formación de complejos con cationes mayores tendrá poco efecto en la distribución de iones de metales, pero sí tiene un efecto marcado en la distribución de fosfato. Iones de metales tales como: Fe^{3+} , Mn , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Ca^{2+} ; están presentes en concentraciones comparables o más bajas que las concentraciones de fosfatos inorgánicos. Para dichos iones la formación de complejos puede afectar significativamente la distribución del ión metálico, la distribución de fosfato o ambos. La solubilidad de complejos como el de FePO_4 es mínima a pH 6, pero aumenta según el pH aumenta. La concentración de calcio afecta la formación de hidroxyapatita ($\text{Ca}_5(\text{OH})(\text{PO}_4)_3$). La tabla 2 presenta el efecto de aumentos en la concentración de calcio en la solubilidad de hierro.

Tabla 2:

Concentracion de calcio (mg/L)	Efecto en la solubilidad de fósforo a pH 7
40	Se reduce solubilidad de fósforo a 10 $\mu\text{g/L}$
100	Se reduce la solubilidad de fósforo a 1 $\mu\text{g/L}$

Efecto de pH en la solubilidad del fósforo:

La elevación del pH en aguas conteniendo concentraciones típicas de calcio conduce a la formación de apatita. Al mismo tiempo el aumento en pH promueve la formación de carbonato de calcio, el cual co-precipita el fosfato con el carbonato.

Efecto de absorción a material arcilloso en la disponibilidad del fósforo:

Es bien conocida la absorción de fosfatos y polifosfatos a superficies inanimadas, particularmente a mineral arcillosos mediante ligamiento de los aniones a zonas cargadas positivamente en la arcilla y la substitución de fosfatos por silicatos presentes en la estructura arcillosa. En general se observa que una alta absorción a arcillas ("clays") es favorecida por pH bajos (pH 5-6).

Efecto de oxígeno en la solubilidad del fósforo:

En lagos oligotróficos con curvas de oxígeno ortogrado (no hay cambios con la profundidad) se observa poca variación en el contenido de fósforo a lo largo del perfil de profundidad. Los metales oxidados, tales como el hierro y los cationes mayores, particularmente calcio, pueden inducir la precipitación de fósforo.

Lagos que exhiben una curva de oxígeno clinogrado durante los períodos de estratificación, demuestran una mayor variabilidad vertical en la distribución de fósforo. Observaciones comunes demuestran un marcado incremento en el contenido de fósforo en el hipolimnio bajo, especialmente durante las fases tardías de estratificación termal. Mucho del aumento hipolimnético es en fósforo soluble cerca de los sedimentos. El fósforo sestónico es altamente variable con la profundidad. El fósforo sestónico en el hipolimnio fluctúa ampliamente con oscilaciones en poblaciones de plancton mientras que en el metalimnio e hipolimnio varía con :

1. Sedimentación de plancton
2. Razón de descomposición por profundidad
3. Densidad de bacterias y otro tipo de plancton en la profundidad

Fósforo en el sedimento:

El intercambio de fósforo entre sedimentos y la columna de agua es el componente mayor del ciclo de fósforo en cuerpos de agua naturales. Hay poca correlación entre la cantidad de fósforo en los sedimentos y la productividad de la columna de agua. Son de importancia en el intercambio factores físicos, químicos y metabólicos.

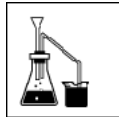
Los factores importantes son:

1. Capacidad de los sedimentos para retener fósforo
2. Condiciones particulares de la columna de agua
3. Biota de los sedimentos

Estos factores alteran el equilibrio de intercambio y el transporte de fósforo de vuelta a los sedimentos. Es importante el establecimiento de una microzona oxidada para los intercambios químicos, especialmente de fósforo en los sedimentos. El factor crítico es la ausencia de oxígeno y la capacidad del sedimento para retener el fósforo. Sedimentos calcáreos (ricos en CaCO_3) tienen menor capacidad para absorber fósforo inorgánico y

fósforo total que los sedimentos no calcáreos. Ello implica que la absorción a CaCO_3 es menos importante que la formación de complejos de hierro - fósforo.

La razón de intercambio de absorción a liberación de los sedimentos a aguas intersticiales, puede ser tan rápido como unos pocos minutos. La razón de transferencia depende del estado de oxidación de la microzona.



METODOLOGIA

PROCEDIMIENTO A SEGUIR

FOSFORO TOTAL: Manual análisis químico Hach

ORTOFOSFATOS: Manual análisis químico Hach



PREGUNTAS...

1. Construya un esquema gráfico que ilustre los factores que afectan la solubilidad y disponibilidad del fósforo en agua y la interrelación entre dichos factores.

TERCERA PARTE

NUTRIENTES Y GASES: GASES DISUELTOS

EN LOS ECOSISTEMAS ACUATICOS podemos encontrar de cinco a seis gases disueltos que participan en procesos biológicos importantes. Dichos gases difieren unos de otros en su comportamiento fisicoquímico y en su fuente de origen. Estos gases son: oxígeno (O₂), nitrógeno (N₂), bióxido de carbono (CO₂), sulfuro de hidrógeno (H₂S), metano (CH₄), y amoníaco (NH₃). La fuente primaria de algunos de estos gases se encuentra en la atmósfera. En el caso particular del nitrógeno y el oxígeno, estos resultan ser los gases más abundantes en la atmósfera: N₂ (78%) y O₂ (21%) [Tabla 1]. En el caso del nitrógeno, la atmósfera resulta ser el depósito primario.

Además de la atmósfera, podemos señalar otras fuentes de origen para algunos de los gases disueltos en agua. El bióxido de carbono (CO₂) es un gas atmosférico que también es producido por procesos catabólicos (respiración aerobia, respiración anaerobia y en menor grado por fermentación). El oxígeno, a su vez, es uno de los productos del proceso de fotosíntesis en plantas, algas y cianobacterias.

Hay otros gases que se producen y originan únicamente en el cuerpo acuático. Tal es el caso de metano, sulfuro de hidrógeno y amoníaco. El metano se origina de la descomposición anaerobia de materia orgánica, (acetato y compuestos metilados tales como metanol) o de la reducción de CO₂ a expensas de hidrógeno molecular (H₂).

Tabla 1: Composición de gases de aire limpio al nivel del mar.

Gases	Abundancia Relativa en Aire (%)
Nitrógeno (N ₂)	78.084
Oxígeno (O ₂)	20.946
Argón (Ar)	0.934
Bióxido de Carbono (CO ₂)	0.033
Neón (Ne)	0.001818
Helio (He)	0.000524
Metano (CH ₄)	0.000200
Krypton (Kr)	0.000114
Hidrógeno (H ₂)	0.000050
Oxido Nitroso (N ₂ O)	0.000050
Monóxido de Carbono (CO)	0.000010
Xenón (Xe)	0.000008
Ozono (O ₃)	0.000002
Amoniaco (NH ₃)	0.0000006
Dióxido de Nitrógeno (NO ₂)	0.0000006
Monóxido de Nitrógeno (NO)	0.00000006
Dióxido de Azufre (SO ₂)	0.00000002
Sulfuro de Hidrógeno (H ₂ S)	0.00000002

* Datos tomados de Silberberg (1996).

El sulfuro de hidrógeno (H₂S) se origina de la actividad metabólica de bacterias y reacciones químicas abióticas. Aún cuando este gas es muy soluble en agua, rara vez se encuentra en la atmósfera, así que no entra a los ambientes acuáticos a través de la superficie del agua.

El amoniaco (NH₃), se origina de varios procesos biológicos: (1) es un componente de las excreciones de invertebrados acuáticos, generado por el proceso de amonificación, (2) es el producto principal de la fijación de N₂ por procariontas y (3) es un producto de la actividad metabólica de varios microorganismos heterotrofos que llevan a cabo la amonificación de moléculas orgánicas nitrogenadas y la amonificación de nitrato [respiración anaerobia]. Aún cuando el amoniaco es un gas extremadamente soluble, el mismo es generalmente removido del ambiente inmediato a los organismos, antes de que se desarrollen efectos tóxicos. Las concentraciones de amoniaco son relativamente altas en el hipolimnio de lagos eutróficos, donde lo podemos encontrar como gas (NH₃), el ión amonio (NH₄⁺) o en formas no-disociadas tales como NH₄OH. Hoy día, las reservas de amoniaco en la atmósfera son minúsculas, no obstante, se piensa que éste fue un gas muy abundante en la atmósfera primitiva de la Tierra.

FACTORES QUE AFECTAN LA SOLUBILIDAD DE GASES EN AGUA

Presión parcial:

La Ley de Henry establece que a temperatura constante la cantidad de gas que absorbe un volumen de líquido, es proporcional a la presión en atmósferas que el gas ejerce en el medio.

$$c = k \times p$$

Donde:

c = concentración de gas que se absorbe (solubilidad del gas) expresada en: mg/Kg; μ moles/L ; milimoles/L; mg/L, ó ml/L

p = presión parcial que ejerce el gas

k = factor de solubilidad correspondiente a cada gas

La mayoría de los gases obedecen bastante bien la ley de Henry, permitiéndonos predecir la concentración de un gas atmosférico en el agua. No obstante, el bióxido de carbono (CO₂) se puede combinar con varios cationes una vez entra a cuerpos de agua naturales. Esto trae como consecuencia que la abundancia de dicho gas en agua sea mayor a los valores que nos pronostica la ley de Henry. Encontramos CO₂ en agua tanto en forma libre como en forma combinada (para más detalles vea unidad de **Alcalinidad**).

Efecto de altitud:

Con un aumento en altitud, a una atmósfera más rarificada, disminuye el valor **p** en la fórmula anterior. Por consiguiente, la solubilidad, expresada en términos de la cantidad de gas disuelto en equilibrio con el aire, disminuye. Cuando medimos las concentraciones de gases disueltos en ambientes acuáticos ubicados a diferentes altitudes es necesario corregir el valor de presión parcial (**p**) y la solubilidad del gas (**k**) (Tabla 2).

Efecto de temperatura:

Manteniendo la presión parcial de un gas (**p**) constante, la solubilidad disminuye según la temperatura aumenta. Esta relación inversa nos permite generalizar que el agua fría contiene una mayor cantidad de gas en solución que aguas tibias o calientes.

Efecto de salinidad:

La presencia de varios minerales en solución disminuye la solubilidad de un gas. La reducción de los valores de saturación de gases en agua de mar, cuando se comparan con agua destilada, es cerca de un 20 %.

Tabla 2: Factores de corrección de la presión parcial (p) y el nivel de saturación de gases (k) a diferentes altitudes.

ALTITUD		PRESION		FACTOR DE
Pies	Metros	(mm Hg)	Factor (p) parcial	SOLUBILIDAD
0	0	760	1.000	1.00
330	100	751	0.988	1.01
655	200	742	0.976	1.02
980	300	733	0.965	1.04
1310	400	725	0.953	1.05
1640	500	716	0.942	1.06
1970	600	707	0.931	1.07
2300	700	699	0.920	1.09
2630	800	691	0.909	1.10
2950	900	682	0.898	1.11
3280	1000	674	0.887	1.13
3610	1100	666	0.876	1.14
3940	1200	658	0.886	1.16
4270	1300	650	0.855	1.17
4600	1400	642	0.845	1.18
4930	1500	634	0.835	1.20
5250	1600	626	0.824	1.21
5580	1700	619	0.814	1.23
5910	1800	611	0.804	1.24
6240	1900	603	0.794	1.26
6560	2000	596	0.785	1.27
6900	2100	589	0.775	1.29
7220	2200	582	0.765	1.31
7550	2300	574	0.756	1.32
7880	2400	567	0.746	1.34
8200	2500	560	0.737	1.36
9842	3000	526	0.692	1.45

* Datos tomados de Cole (1983).

TERCERA PARTE

NUTRIENTES Y GASES: HIERRO

HIERRO ES UN ELEMENTO abundante en la corteza terrestre, esencial para los organismos vivos. La importancia de este metal catiónico radica en las funciones que ejecuta como: cofactor de varias enzimas importantes (ej. peroxidasas, catalasa, oxidasa de citocromos y nitrogenasa), componente activo de intermediarios de cadenas de transporte de electrones (ej. citocromos y las proteínas de hierro-azufre, "iron-sulfur proteins") y componente esencial de proteínas con función de transporte (ej. hemoglobina, leghemoglobina).

Efecto del pH y el potencial redox sobre la solubilidad y disponibilidad del hierro:

El hierro se encuentra en dos estados de oxidación en la naturaleza: el ión férrico (Fe^{3+} , la forma oxidada) y el ión ferroso (Fe^{2+} , la forma reducida). La solubilidad del hierro en agua es favorecida por la prevalencia de condiciones ácidas y reductoras. La mayoría de los compuestos ferrosos son solubles, con la excepción del sulfuro ferroso (FeS). Este último le imparte un color negro brillante a sedimentos profundos sometidos a periodos extraordinariamente largos de anoxia, conocidos con el nombre de SAPROPEL. Bajo condiciones oxidantes y alcalinas se favorece la oxidación del ión ferroso al ión férrico. Esto ocasiona la precipitación del hierro, ya que los compuestos férricos son insolubles en agua. En aguas bien oxigenadas se puede encontrar el ión férrico, pero su concentración es escasa dada su insolubilidad. El aumento en la concentración de

oxígeno y en el consumo de CO₂, como resultado de la actividad fotosintética promueven la oxidación del ión ferroso al ión férrico y por ende, la precipitación del hierro.

Cuando el pH del agua alcanza valores de 7.5 a 7.7 se llega a un umbral donde el hierro en forma de Fe(OH)₃ se precipita automáticamente. Esto implica que sólo encontraremos hierro soluble (el ión ferroso) en aguas neutrales o ácidas, con una concentración baja de oxígeno disuelto y un potencial redox entre 0.2 y 0.3 V. Ese es el tipo de condición ambiental que prevalece en el hipolimnio de lagos eutróficos.

En corrientes contaminadas con desechos ácidos, provenientes de los efluentes de minas de carbón, se observa el efecto que tienen el cambio en pH y en la concentración de oxígeno disuelto sobre la solubilidad del hierro. Se observan zonas a lo largo de la corriente contaminada donde proliferan masas floculentas de un color rojizo-pardo. El material floculento está formado por un precipitado de hidróxido férrico [Fe(OH)₃]. Dicho precipitado se produce en zonas de recuperación, donde el pH y la concentración de oxígeno han aumentado. El material floculento del hidróxido férrico y de complejos de sales féricas, conocido con el nombre común de *niño amarillo* ("yellow boy") entre los mineros del carbón, a menudo afecta a los peces obstruyendo sus agallas.

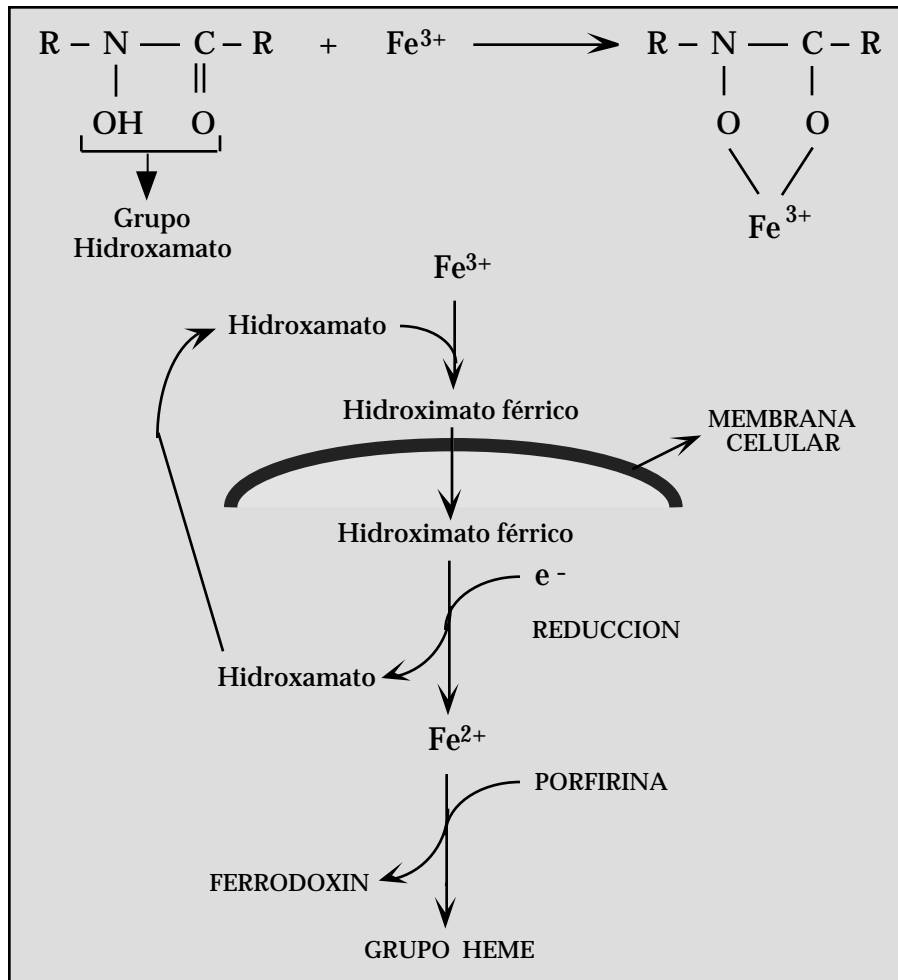
Efecto de agentes quelantes sobre la disponibilidad del hierro:

Resulta lógico pensar que la solubilidad del hierro afecta su disponibilidad, particularmente para organismos unicelulares que dependen de procesos de absorción para su nutrición. De hecho, es importante señalar que en términos de la nutrición de microorganismos que residen en la columna de agua y en los sedimentos, es más relevante medir las concentraciones de hierro soluble, que las concentraciones de hierro total. Por otro lado, es también cierto que el consumo de hierro por algunos microorganismos no requiere necesariamente la reducción previa del ión férrico (forma insoluble) al ión ferroso (forma soluble). La presencia de agentes quelantes (moléculas orgánicas o inorgánicas que pueden combinarse con iones metálicos o átomos metálicos neutrales), permite el transporte de compuestos férricos a través de la membrana celular en varios grupos de microorganismos.

Los polipéptidos son agentes quelantes naturales presentes en los productos de secreción en cianobacterias y otros productores primarios. La reabsorción de dichos exudados proteicos, combinados en el ambiente extracelular con hierro (Fe³⁺) y otros metales (algunos de ellos elementos trazas), permite la absorción de compuestos metálicos insolubles. Otros agentes quelantes naturales son moléculas orgánicas tales como: aminoácidos simples (ej. glicina y alanina), el ácido cítrico y porfirinas. Algunas bacterias producen agentes quelantes conocidos con el nombre de hierronóforos (ironophores). Estos agentes quelantes transportan sales del ión férrico al interior de la célula bacteriana. Los hierronóforos están integrados por dos grupos principales: derivados de ácido hidroxámico (Figura 1) y derivados de ácidos fenólicos.

Ambos tipos de agentes quelantes presentan una gran afinidad por el hierro facilitando el transporte del ión férrico a través de la membrana citoplasmática. Bacterias entéricas como *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. producen hieronóforos llamados *enterobactinas*. Estos últimos son derivados fenólicos, específicamente derivados de catecol.

Figura 1: Hidroxamatos (Hierronóforos).



* Modificada de Brock et al. (1994).

Dinámica de la movilización de hierro en ecosistemas acuáticos:

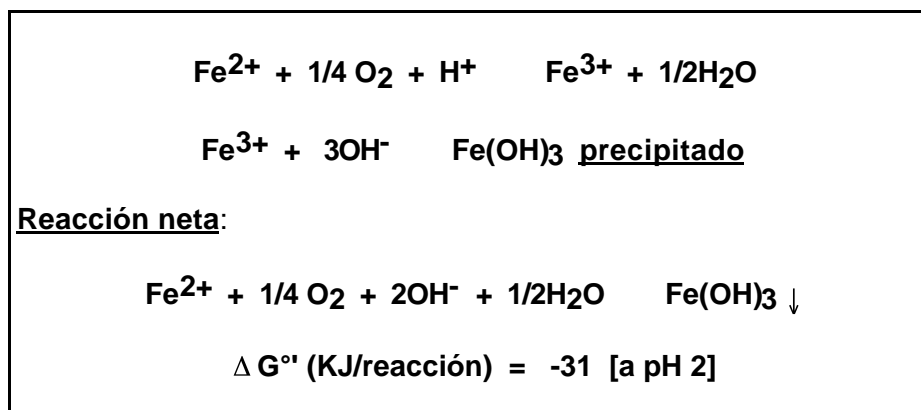
Un rasgo distintivo del ciclo de hierro son los cambios que sufre este mineral en su estado de oxidación y en su solubilidad, dictados por cambios en pH, oxigenación y potencial redox. En cuerpos de agua oligotróficos, lénticos y bien oxigenados, las concentraciones del ión férrico son escasas, dada su insolubilidad. En dicho tipo de hábitat, la mayor parte del ión férrico se encuentra en los sedimentos en forma de hidróxidos férricos $[\text{Fe}(\text{OH}^-)_3]$, fosfato férrico $[\text{FePO}_4]$ y en ocasiones como silicato férrico $[\text{FeSiO}]$ y carbonato férrico $[\text{Fe}_2(\text{CO}_3)_3]$. Estos compuestos se depositan y se agregan en los sedimentos formando una capa coloidal compleja. Dicha capa constituye una microzona oxidada que inmoviliza los nutrientes antes mencionados en los sedimentos, evitando que la mayor parte pueda difundirse a la columna de agua. De esta forma, en los sedimentos superficiales oxidados de lagos ligotróficos el reciclaje de nutrientes limitantes es limitado, promoviendo así el mantenimiento del estado oligotrófico. La condición de oligotrofia perdurará mientras se mantengan constantes las condiciones descritas de oxigenación, pH, potencial redox y la entrada de nutrientes exógenos.

Por otro lado, en cuerpos de agua lénticos y eutróficos la actividad respiratoria genera mucho CO_2 y consume O_2 , provocando que el pH disminuya y el potencial redox baje a valores entre 0.2 y 0.3 voltios aproximadamente. Bajo esas condiciones comienza la reducción del ión férrico al ión ferroso. Dado que los compuestos ferrosos son en su mayoría solubles, la capa coloidal de compuestos de hierro se disuelve. En consecuencia, los elementos que se movilizan con el ión ferroso (ej. fósforo y sílica) se tornan abundantes en las aguas hipolimnéticas. Al mismo tiempo la concentración de amoníaco también podría aumentar como consecuencia de la reducción de nitratos y un incremento en la descomposición de proteínas por microorganismos. Cuando el cuerpo de agua es afectado por cambios estacionales marcados, o por fenómenos atmosféricos que alteran la estratificación termal, se producen cambios significativos en oxigenación, pH y el potencial redox. Estos últimos, a su vez, afectan el estado de oxidación del hierro y por ende alteran sus concentraciones en la columna de agua y en los sedimentos. Es conveniente señalar que el desarrollo de condiciones anóxicas, no promueven por sí solas la solubilización del hierro, al predominar su forma reducida (Fe^{2+}). En algunos cuerpos de agua se pueden generar condiciones anaerobias y reductoras intensas (potencial redox < 0.1 voltios), donde el sulfato es reducido a sulfuro. Una porción significativa del sulfuro se convierte a sulfuro de hidrógeno y otra porción se combina con el ión ferroso para formar sulfuro ferroso (FeS). Como se señaló anteriormente, este último es insoluble y se precipita a los sedimentos, impartiendo un color negro brillante y un olor fétido típico (ej. olor a huevo podrido).

Oxidación microbiana del ión ferroso:

Muchas de las reacciones de oxireducción ligadas al hierro son mediadas por microorganismos. Bacterias quimiolitotrofas pertenecientes al grupo *Thiobacillus* - *Ferrobacillus* poseen sistemas enzimáticos que le permiten transferir electrones del ión ferroso al oxígeno (Figura 2). Esta oxidación aeróbica del ión ferroso genera energía en forma de ATP, que es utilizada en la reducción de CO₂ a materia orgánica. Las bacterias del referido grupo demuestran la capacidad de oxidar hierro a niveles bajos de pH (pH < 5). A niveles bajos de pH, la oxidación aeróbica del ión ferroso procedería muy lentamente si no fuera por las enzimas que poseen estos microorganismos quimiolitotróficos.

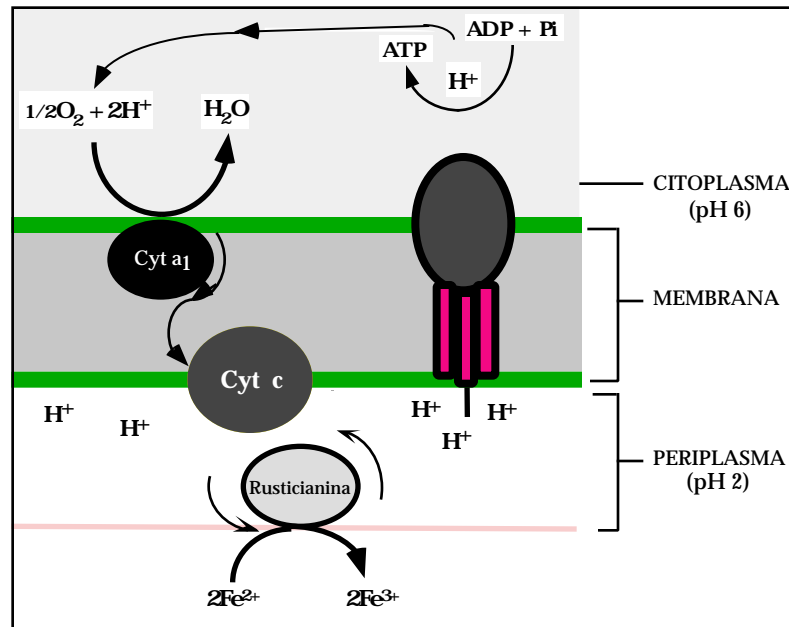
Figura 2: Oxidación aeróbica del ión ferroso.



Thiobacillus ferrooxidans es la especie bacteriana mejor conocida entre los microorganismos que exhiben la capacidad de oxidar hierro. Esta bacteria, que prolifera en ambientes acuáticos contaminados con ácidos, es capaz de crecer autotróficamente usando el ión ferroso o compuestos de azufre reducidos como donante de electrones. La oxidación de hierro por este género bacteriano produce muy poca energía por molécula oxidada. Por dicha razón, estos microorganismos deben oxidar grandes cantidades de hierro para poder crecer.

La energía que deriva *Thiobacillus ferrooxidans* de la oxidación de hierro es poca, dado el alto potencial de reducción de la pareja redox $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ (+0.77voltage). Dicho potencial está muy cerca del potencial redox de la pareja $1/2\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$ (+0.82 voltage) [recordemos que oxígeno es el aceptador final de los electrones en la oxidación de Fe^{2+}]. Esto explica el por qué la cadena de transporte de electrones que interviene en la oxidación aeróbica de hierro es una relativamente corta (Figura 3). *T. ferrooxidans* aparentemente deriva la energía que necesita para crecer del gradiente pre-existente de protones que prevalece en su hábitat y no de la cadena de transporte de electrones.

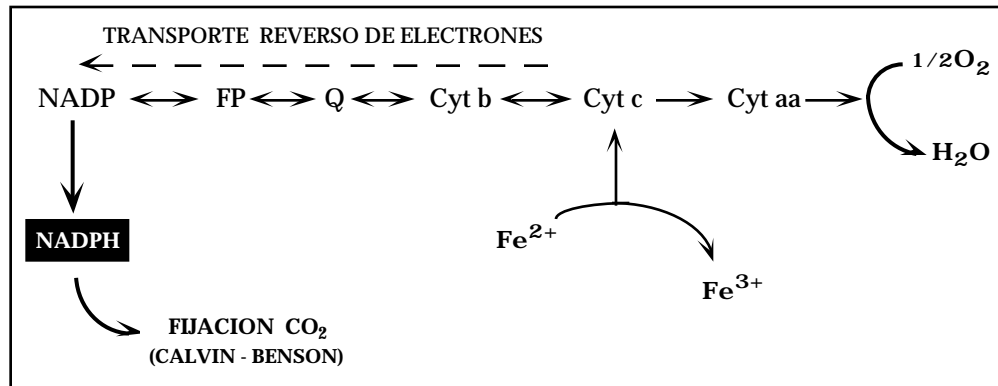
Figura 3: Cadena de transporte de electrones en *Thiobacillus ferrooxidans*.



La mayoría de las bacterias que utilizan hierro como fuente de electrones son acidófilas obligadas. Esto se debe a que el hierro (Fe^{2+}) se oxida espontáneamente a un pH neutral en ambientes aerobios. *T. ferrooxidans* y las otras especies de bacterias acidófilas mantienen por necesidad un pH intracelular cercano a la neutralidad ($\text{pH} \pm 6$). No obstante, el pH del ambiente donde viven estas bacterias es mucho más bajo, casi cercano a pH 2. La diferencia entre el pH intracelular y extracelular representa un gradiente de protones que puede ser utilizado para generar ATP (teoría quimiosmótica). La entrada de protones (H^+) a través del complejo proteico de la ATPasa generaría energía, pero al mismo tiempo estaría promoviendo la acidificación del citoplasma. La bacteria evitaría la acidificación de su ambiente intracelular a través del consumo de protones para la oxidación del hierro (Figura 2). Los estudios realizados en torno a este tema sugieren que la reacción $1/2\text{O}_2 + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}$ se desarrolla en la cara interna de la membrana citoplasmática, mientras que la reacción $\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$ ocurre cerca de la cara externa de la membrana (Figura 3). Los electrones provenientes de la oxidación del ión ferroso son aceptados por rusticianina, una proteína periplásmica, que exhibe una función óptima a pH 2. Los electrones pasan de la rusticianina a una cadena de transporte de electrones abreviada, integrada por dos elementos: citocromo c y citocromo a1. No hay síntesis de ATP derivada de la cadena de transporte de electrones. El ATP se produce de la diferencia en pH que se registra entre ambos lados de la membrana citoplasmática. La síntesis de ATP derivada del gradiente de protones se mantiene mientras esté disponible el ión ferroso (Fe^{2+}) en el ambiente extracelular.

Los electrones para la fijación autotrófica de CO_2 se obtendrían de un proceso conocido como transporte reverso de electrones, donde los electrones fluyen del ión ferroso en dirección contraria al flujo normal. El aceptador final de los electrones en este caso es el coenzimo NADP (Figura 4). La energía para dicho proceso proviene del ATP formado por el gradiente de protones.

Figura 4: Transporte reverso de electrones en *Thiobacillus ferrooxidans* para generar poder reductor para la fijación autotrófica de CO_2 .



METODOLOGIA

PROCEDIMIENTO A SEGUIR

HIERRO TOTAL: Manual análisis químico Hach

HIERRO (ión ferroso): Manual análisis químico Hach



PREGUNTAS...

1. Discuta cómo la actividad fotosintética puede afectar la solubilidad del hierro (aluda específicamente al efecto que tienen la liberación de oxígeno y el consumo de CO_2 sobre la solubilidad del hierro).

2. Describa en detalle, el impacto de un aumento en pH en el hábitat natural de la bacteria *Thiobacillus ferrooxidans* en términos de su capacidad para:
- a. oxidar el ión ferroso
 - b. generar energía
 - c. fijar CO₂ autotróficamente

TERCERA PARTE

NUTRIENTES Y GASES: NITROGENO

EL NITROGENO ES UN ELEMENTO biogénico que encontramos incorporado en moléculas orgánicas que desempeñan funciones vitales para toda célula. Este elemento es un constituyente básico de aminoácidos, ácidos nucleicos, azúcares aminadas y los polímeros que estas moléculas forman. El nitrógeno existe en la naturaleza en varias formas químicas que presentan diferentes estados de oxidación (Tabla 1).

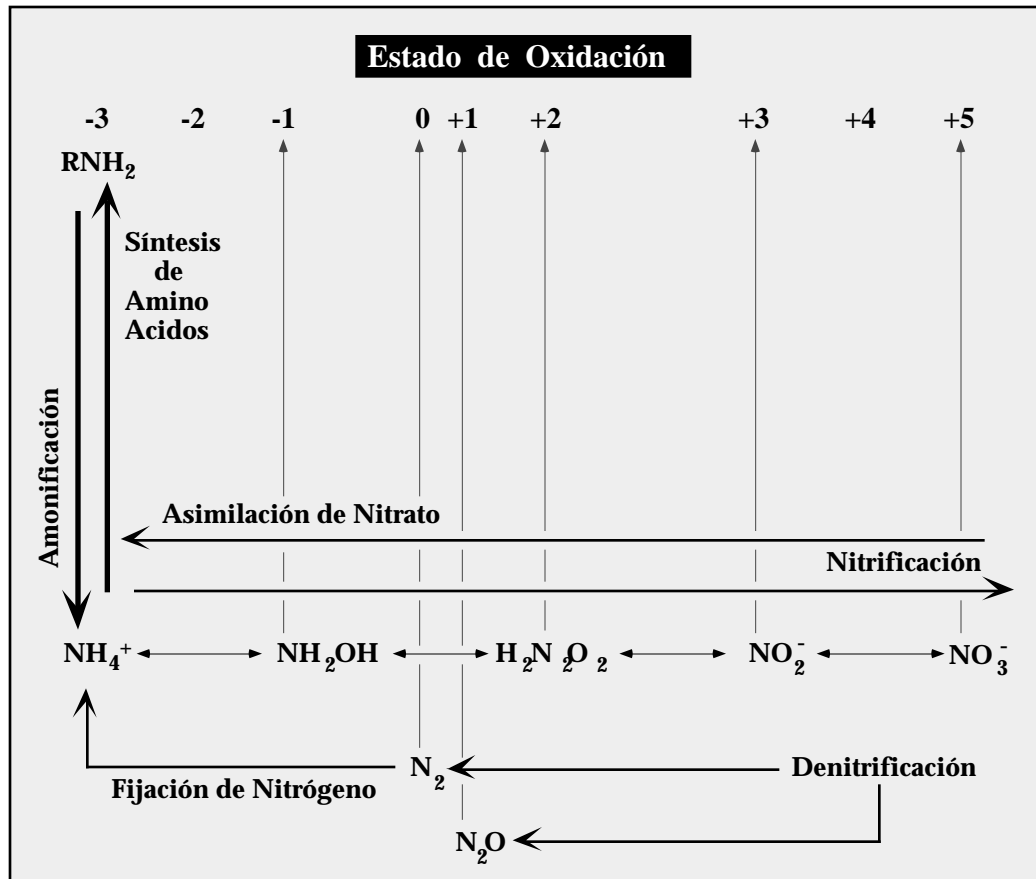
Tabla 1: Estados de oxidación de compuestos nitrogenados.

COMPUESTO	ESTADO DE OXIDACION
Nitrógeno orgánico ----- (R-NH₂)	-3
Amoniaco ----- (NH₃)	-3
Nitrógeno gaseoso ----- (N₂)	0
Oxido nitroso ----- (N₂O)	+1
Oxido de nitrógeno ----- (NO)	+2
Nitrito ----- (NO₂⁻)	+3
Dióxido de nitrógeno ----- (NO₂)	+4
Nitrato ----- (NO₃⁻)	+5

* Modificado de Brock y otros (1994).

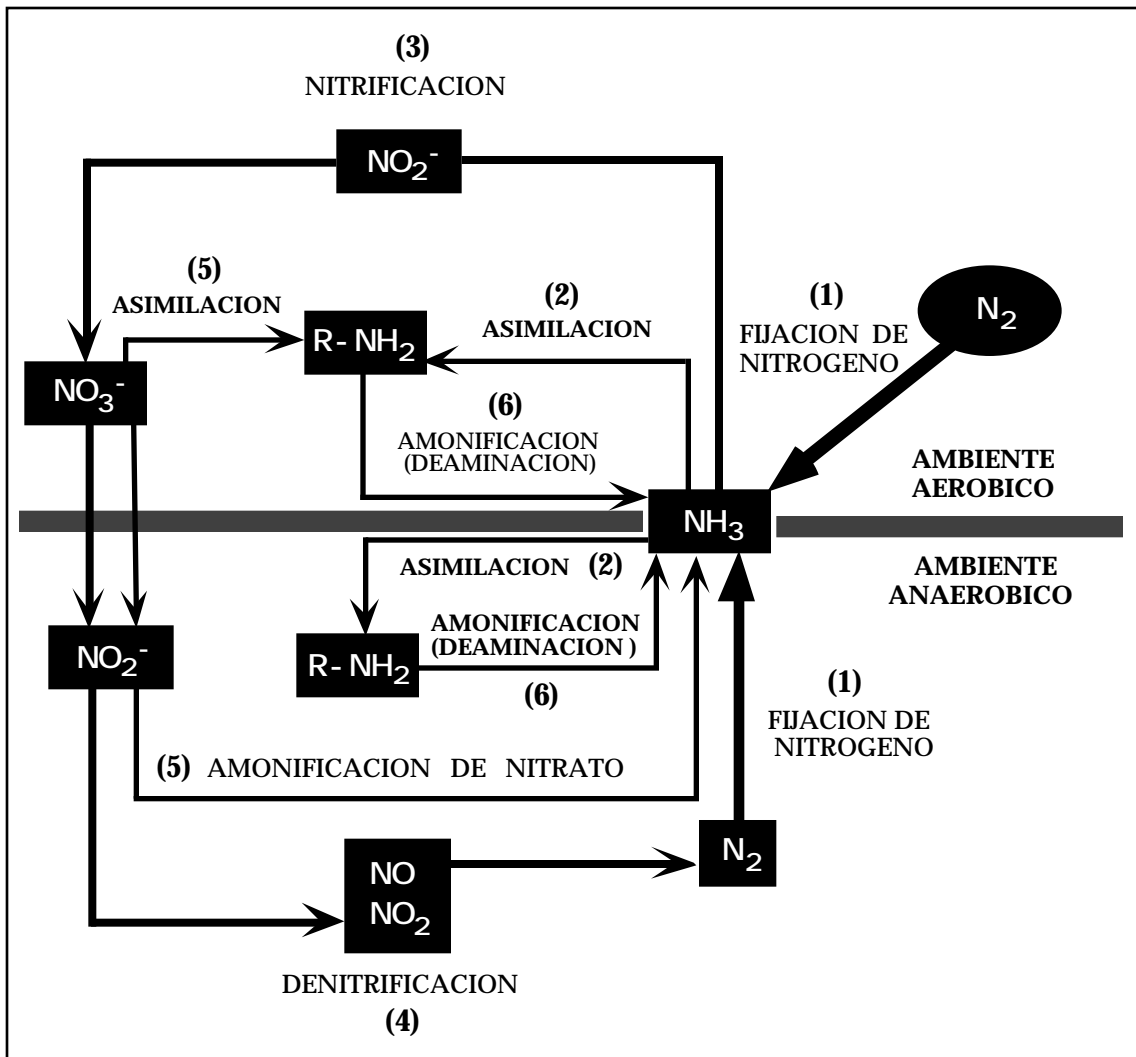
En términos termodinámicos, el nitrógeno gaseoso (N_2) es la forma más estable del nitrógeno. Las otras formas químicas del nitrógeno reierten a N_2 bajo condiciones de equilibrio. Esto explica el hecho de que el nitrógeno molecular es el principal depósito de nitrógeno para los organismos vivos. No obstante, muy pocos organismos tienen la capacidad para fijar el nitrógeno gaseoso. De hecho, solo un reducido grupo de eubacterias (fototróficas y heterotróficas) y arqueobacterias exhibe dicha capacidad. El reciclaje del nitrógeno depende entonces de las transformaciones químicas de compuestos nitrogenados más disponibles, a través de reacciones de oxi-reducción (Figura 1). El conjunto de esas transformaciones integran el ciclo biogeoquímico de nitrógeno (Figura 2).

Figura 1: Reacciones bioquímicas que regulan la distribución de compuestos nitrogenados en agua.



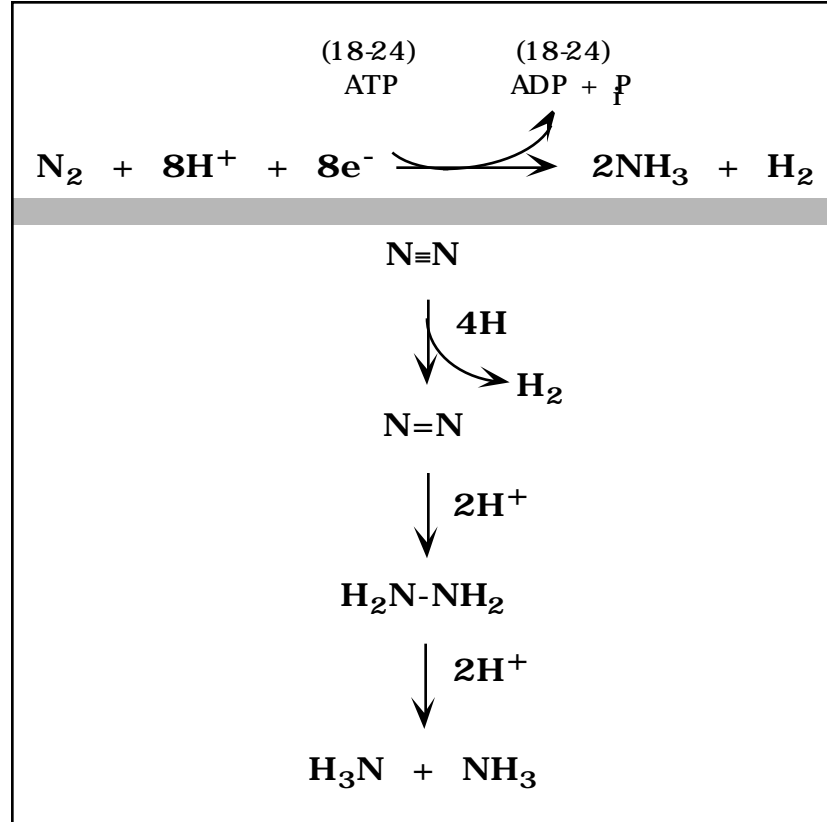
Los procesos de transformación química que intervienen en el ciclo de nitrógeno son varios: (1) fijación (reducción) de nitrógeno molecular a amoníaco, (2) asimilación de amoníaco, (3) nitrificación, (4) reducción disimilativa de nitrato (denitrificación), (5) reducción asimilativa de nitrato y (6) amonificación.

Figura 2: Ciclo redox del nitrógeno.



FIJACION DE N₂**Descripción del proceso:**

La fijación de nitrógeno puede ser resumida utilizando las siguientes reacciones:



Este proceso demanda una gran inversión de energía (18 - 24 ATP), dada la estabilidad del triple enlace N N, la cual hace del nitrógeno gaseoso una molécula extremadamente inerte. La reducción del nitrógeno molecular a amoníaco es catalizada por un complejo enzimático conocido como nitrogenasa. Este complejo catalítico consiste de dos unidades proteicas diferentes conocidas como: dinitrogenasa y reductasa de denitrogenasa.

Métodos para medir actividad de la nitrogenasa:

La actividad de la nitrogenasa puede ser medida en muestras de suelo, agua, un cultivo o un extracto celular, haciendo uso del método de reducción de acetileno. La nitrogenasa no es específica para N₂, sino que también demuestra afinidad por otras moléculas con triples enlaces, tales como cianuro (CN⁻) y acetileno. La nitrogenasa reduce el acetileno (HC CH) a etileno (H₂C=CH₂), un gas insoluble en agua, que puede ser detectado con facilidad haciendo uso de la técnica de cromatografía de gas. Esta técnica constituye un

método sensitivo, simple y rápido para medir la reducción biológica de nitrógeno molecular.

Tabla 2: Lista parcial de microorganismos que fijan nitrógeno.

AEROBIOS Y ANAEROBIOS FACULTATIVOS DE VIDA LIBRE		
Quimioorganotrofos	Fototrofos	Quimiolitotrofos
Eubacterias: <i>Azotobacter spp.</i> <i>Klebsiella</i> <i>Beijerinckya</i> <i>Bacillus polymixa</i> <i>Mycobacterium flavum</i> <i>Azospirillum lipoferum</i> <i>Citrobacter freundii</i> Methylotrofos ** <i>Azomonas</i> <i>Derxia</i> <i>Chromobacterium</i>	Cyanobacterias: <i>Anabaena</i> <i>Nostoc</i> <i>Synechococcus</i> <i>Gloecapsa</i> <i>Dermocarpa</i> <i>Xenococcus</i> <i>Myxosrcina</i> <i>Pleurocapsa</i> <i>Oscillatoria</i> <i>Calothrix</i> <i>Microcoleus</i> <i>Nodularia</i> <i>Phormidium</i> <i>Prochlorales</i>	Eubacterias: <i>Alcaligenes</i> <i>Thiobacillus**</i>
ANAEROBIOS DE VIDA LIBRE		
Quimioorganotrofos	Fototrofos	Quimiolitotrofos
Eubacterias: <i>Clostridium spp.</i> <i>Desulfovibrio</i> <i>Desulfotomaculum</i>	Eubacterias: <i>Chromatium</i> <i>Chlorobium</i> <i>Rhodospirillum</i> <i>Rhodopseudomonas</i> <i>Rhodomicrobium</i> <i>Rhodopila</i> <i>Rhodobacter</i> <i>Heliobacterium</i> <i>Heliobacillus</i> <i>Thiocapsa</i>	Arquebacterias: <i>Metanosarcina</i> <i>Metanococcus</i>
SIMBIOTES EN:		
Plantas Leguminosas	Plantas No-Leguminosas	
Eubacterias: <i>Rhizobium</i> <i>Bradyrhizobium</i>	Cianobacterias: * <i>Anabaena</i> <i>Nostoc</i>	Eubacterias: <i>Frankia</i> (Actinomiceto)

* Incluye otras cianobacterias; ** Llevado a cabo solo por algunas especies

Datos tomados de Brock y otros (1994); Atlas (1988); Atlas y Bartha (1992); Capone (1988).

Un método alternativo consiste en utilizar un isótopo pesado de nitrógeno como trazador del proceso de fijación de nitrógeno molecular. Se utiliza ^{15}N , un isótopo no radiactivo, como fuente de nitrógeno. Luego del periodo de incubación, la muestra se digiere y se procede a destilar el amoníaco producido. Posteriormente se analiza la composición isotópica del amoníaco, haciendo uso de un espectrómetro de masa. La concentración de amoníaco marcado con ^{15}N indicará el grado de actividad de la nitrogenasa.

Microorganismos que fijan nitrógeno molecular:

La reducción biológica de nitrógeno molecular es llevada a cabo únicamente por microorganismos procariotas. Entre las bacterias, la actividad de fijación de nitrógeno se encuentra distribuida entre eubacterias y arqueobacterias y entre heterótrofos y autótrofos (Tabla 2).

Factores que afectan la actividad de la nitrogenasa:

EL complejo de la nitrogenasa es inactivado por el oxígeno de forma irreversible. Los microorganismos que fijan nitrógeno en ambientes aeróbicos han desarrollado diferentes adaptaciones metabólicas y estructurales para poder llevar a cabo la fijación de nitrógeno en un ambiente oxidante. Estos microorganismos aeróbicos protegen la nitrogenasa mediante: **(1)** la remoción de oxígeno por el proceso de respiración (ej. en *Azotobacter* y *Klebsiella*, se observan cadenas de transporte abreviadas que rinden menos ATP por molécula de sustrato oxidado, generándose un aumento en el consumo de oxígeno por molécula de sustrato oxidado; o mediante asociación sinérgica con bacterias heterótroficas aerobias, como es el caso de la relación entre *Anabaena* y *Pseudomonas aeruginosa*); **(2)** la producción de capas limosas ("slime layers") que retardan la difusión de oxígeno a través de la membrana plasmática y **(3)** la localización de la nitrogenasa en células especializadas (ej. desarrollo de heteroquistes en cianobacterias). Refiérase a Brock et al, 1994 y a Atlas y Bartha, 1992, para una descripción más detallada de dichas adaptaciones y del mecanismo molecular que rige el proceso de fijación de nitrógeno.

La actividad del complejo de la nitrogenasa es también inhibida por la presencia de formas reducidas de nitrógeno en el ambiente. La presencia de altas concentraciones de amoníaco, nitrato, urea y ciertos aminoácidos inhiben la actividad de la nitrogenasa. El grado de inhibición que causan los últimos tres depende de la facilidad con que un organismo en particular pueda convertirlos a amoníaco.

Fijación abiótica del nitrógeno gaseoso:

La mayor parte de la fijación del nitrógeno molecular es de naturaleza biológica. No obstante, en la atmósfera terrestre también se lleva a cabo la fijación abiótica del nitrógeno molecular mediante electrificación y reducción fotoquímica. A diferencia de la

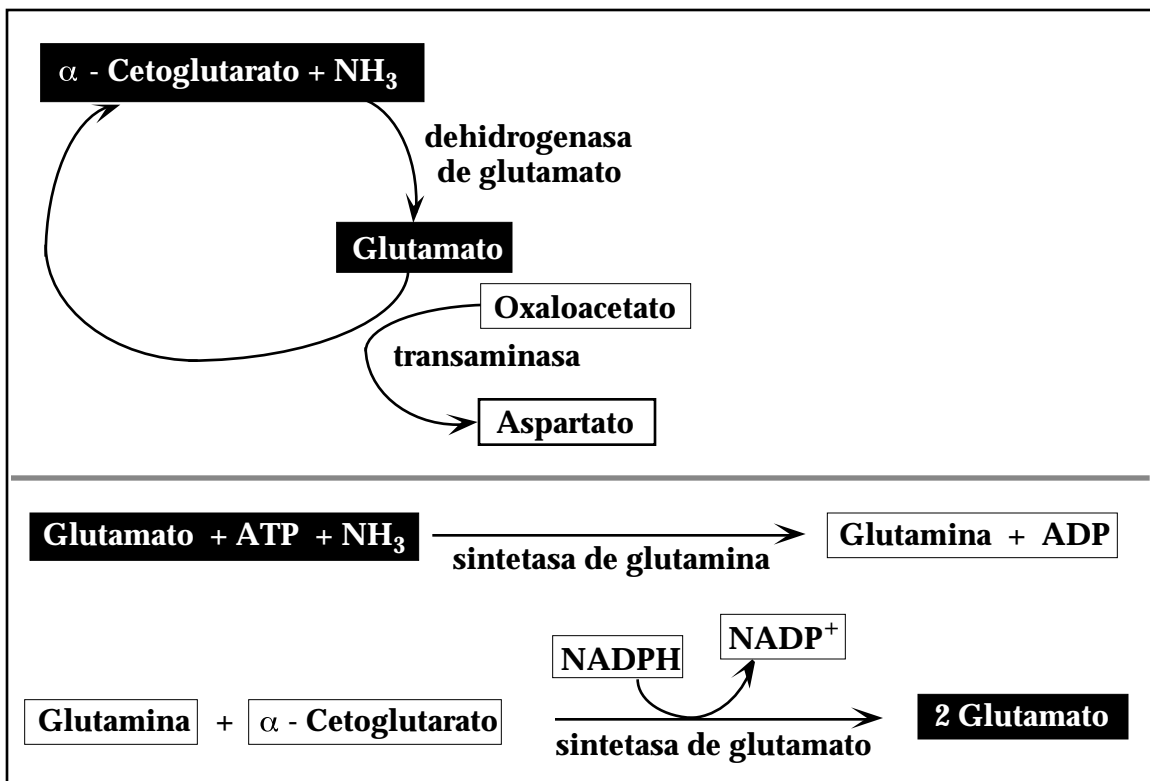
fijación de origen biológico, donde el amoniaco es el producto principal, en la fijación fotoquímica el nitrato es el producto principal. En este tipo de fijación de alta energía el nitrógeno y el oxígeno se combinan en la atmósfera para formar nitrato. Este último es arrastrado por la lluvia a la superficie terrestre y a los cuerpos acuáticos en forma de ácido nítrico (H_2NO_3). El aporte de la fijación abiótica de nitrógeno gaseoso a los depósitos de nitrógeno en agua y suelos, se ha estimado en 8.9 Kg N/ha/año, comparado con los 100 a 200 Kg N/ha/año que se derivan de la fijación biológica de nitrógeno.

ASIMILACION DE AMONIACO

Descripción del proceso:

La asimilación del amoniaco al protoplasma celular es mediada por varias enzimas (Figura 3).

Figura 3: Reacciones de asimilación de amoniaco.



Una de las enzimas más utilizada en la asimilación del amoniaco es la dehidrogenasa de ácido glutámico. Esta enzima cataliza la incorporación reductiva de amoniaco al ácido acetoglutámico para formar ácido glutámico. El grupo amino que presenta el ácido glutámico puede ser transferido a otras moléculas orgánicas mediante transaminasas. De esta forma se originan otros aminoácidos, purinas y pirimidinas. La asimilación de

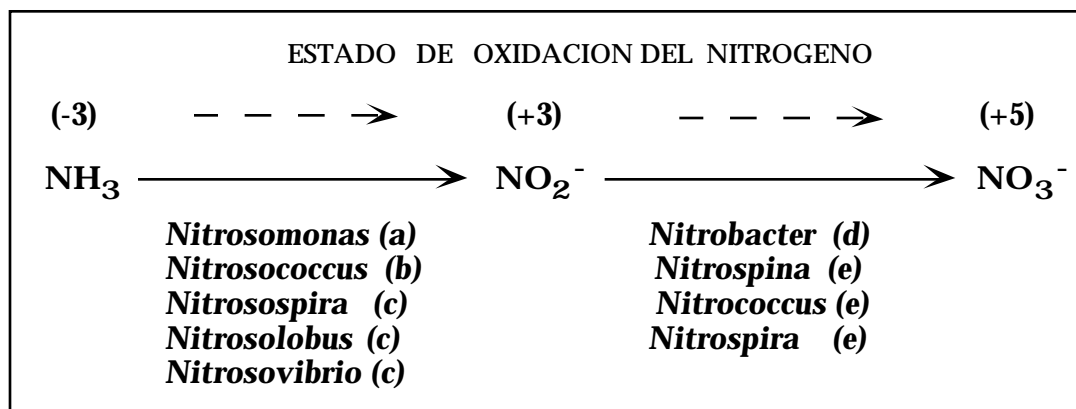
amoniaco a moléculas orgánicas puede ser mediada por otras dehidrogenasas de aminoácidos y por la sintetasa de glutamina. Esta última cataliza la adición de amoniaco al ácido glutámico para formar glutamina. En una reacción subsiguiente, la enzima sintetasa de ácido glutámico cataliza el transferimiento del grupo amida de la glutamina al ácido acetoglutárico, formándose dos moléculas de ácido glutámico.

NITRIFICACION

Descripción del proceso:

El proceso de nitrificación consiste en la oxidación de amoniaco bajo condiciones estrictamente aeróbicas. En ambientes con un potencial redox alto, el amoniaco puede ser oxidado a óxidos de nitrógeno y a nitrato. No obstante, siendo el amoniaco un compuesto estable, se requieren agentes oxidantes fuertes o agentes catalíticos para que se pueda efectuar su oxidación. En la naturaleza contamos con un grupo de bacterias aerobias estrictas que poseen los agentes catalíticos (ej. enzimas) apropiados para efectuar dicha reacción de oxidación. Estas bacterias se conocen con el nombre de **bacterias nitrificantes**. La oxidación de amoniaco por estas bacterias se observa en suelos con buen drenaje, a un pH neutral o en cuerpos de agua con un alto contenido de oxígeno disuelto y un pH neutral. Condiciones de anoxia o una alta acidez inhiben la actividad catalítica de estas bacterias. El proceso de nitrificación ocurre en dos etapas; comienza con la oxidación del amoniaco a nitritos, seguido de la oxidación del nitrito a nitrato. En cada una de estas etapas intervienen diferentes poblaciones de bacterias quimiolitotróficas (Figura 4). La oxidación de amoniaco (NH_3) a nitrito (NO_2^-) es mediada principalmente por bacterias del género *Nitrosomonas*, mientras que en la oxidación de nitrito (NO_2^-) a nitrato (NO_3^-) intervienen frecuentemente bacterias del género *Nitrobacter*. No se conoce hasta el presente de ninguna bacteria quimiolitotrófica que puede oxidar el amoniaco directamente a nitrato. Aunque existen algunas bacterias quimioorganotróficas y algunos hongos que pueden oxidar el amoniaco directamente a nitrato, la magnitud de dicha actividad se considera de escasa importancia ecológica.

Figura 4: Proceso de nitrificación.



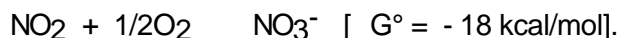
◀Hábitat natural de bacterias nitrificantes: (a) suelo, alcantarillado, agua dulce, ambiente marino, (b) agua dulce, ambiente marino, (c) suelo, (d) suelo, agua dulce, ambiente marino, (e) ambiente marino.

La fase inicial de la nitrificación envuelve los siguientes eventos de oxidación:



...donde los productos intermediarios son oxidados rápidamente, encontrándose en muy bajas concentraciones en ambientes naturales. La energía liberada durante esta fase del proceso de nitrificación es utilizada por *Nitrosomonas* y otras bacterias quimiolitotróficas (Figura 4) para la reducción de CO_2 a través el ciclo Calvin-Benson. Estas bacterias son mesofílicas, con una tolerancia amplia a variaciones en temperatura (1 - 37°C) y crecen óptimamente a un pH cercano a la neutralidad.

La segunda etapa del proceso de nitrificación conlleva la oxidación directa del nitrito a nitrato:



En esta etapa se genera menos energía en comparación con la primera etapa. Bacterias quimiolitotróficas del género *Nitrobacter* y otros tres géneros bacterianos (Figura 4) son responsables de catalizar esta fase del proceso de nitrificación. *Nitrobacter* en particular exhibe una menor tolerancia a bajas temperaturas y a niveles altos de pH, en comparación con bacterias del género *Nitrosomonas*.

Distribución de bacterias nitrificantes:

Las bacterias quimilitotróficas nitrificantes están distribuidas ampliamente en suelos y cuerpos de agua dulce y salados, aunque sus densidades son por lo general bajas. Estas alcanzan densidades altas en hábitats que presentan concentraciones altas de amoníaco, en particular en lugares donde se lleva a cabo un proceso de descomposición de proteínas (amonificación) extenso. En cuerpos de agua interiores como lagos, ríos y quebradas que reciben descargas no-tratadas e inclusive tratadas de alcantarillado sanitario, encontramos concentraciones altas de amoníaco que pueden sostener el crecimiento de las bacterias nitrificantes. No obstante, dado que la oxidación biológica de amoníaco requiere de oxígeno, observamos que el amoníaco tiende a acumularse en hábitats anaerobios, incluyendo el hipolimnio de cuerpos de agua estratificados. En lagos estratificados, las bacterias nitrificantes se pueden desarrollar bien en la región del termoclino donde convergen amoníaco y oxígeno.

Factores abióticos que afectan el proceso de nitrificación:***Oxígeno***

Si bien es correcto que el proceso de nitrificación es muy limitado o no existente en sedimentos anóxicos, es también correcto que no se requieren altas concentraciones de oxígeno disuelto para que se lleve a cabo el proceso. El proceso de nitrificación se puede registrar en ambientes acuáticos naturales con concentraciones de oxígeno disuelto mayores de 0.3 mg/L. Por debajo de esa concentración, la razón de difusión del oxígeno a las bacterias no es suficiente para sostener el proceso de nitrificación. Para el tratamiento de aguas de alcantarillado sanitario se recomienda mantener el oxígeno disuelto en valores mínimos de **2 mg/L**, lográndose economías significativas en el procesamiento de aguas usadas al reducirse los costos de aereación de la mezcla de lodos.

Materia orgánica disuelta

La presencia de altas concentraciones de materia orgánica disuelta puede inhibir de forma indirecta a las bacterias nitrificantes. Los heterotrofos aerobios y anerobios facultativos al oxidar la materia orgánica, compiten con las bacterias nitrificantes por el oxígeno disuelto disponible. Los heterotrofos presentan en términos generales una mayor afinidad por el oxígeno que las bacterias nitrificantes [$K_S(O_2)$ heterotrofos < $K_S(O_2)$ bacterias nitrificantes] (Painter, 1977).

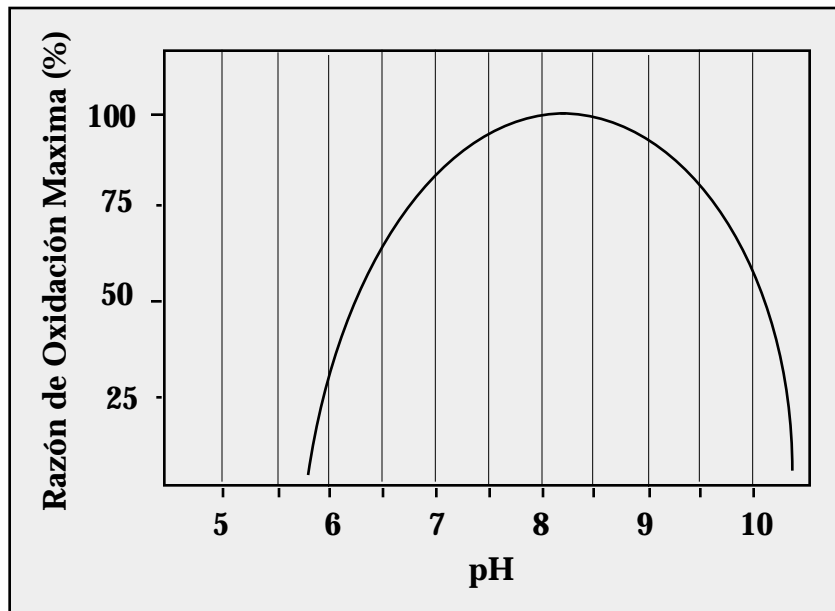
Por otro lado, el proceso de nitrificación puede ser también afectado por determinadas sustancias orgánicas disueltas en el agua. Específicamente, Rice y Panchol (1972, 1973), han reportado que las taninas y sus productos de descomposición inhiben la oxidación aeróbica de amoníaco a nitrato. No se ha descifrado aún el mecanismo que explica el efecto inhibitorio de estas sustancias húmicas sobre la nitrificación. No obstante, es común observar que el proceso de nitrificación es limitado en ambientes

acuáticos con una alta concentración de material orgánico húmico disuelto y un pH alcalino o neutral.

pH

El proceso de nitrificación es afectado por el pH. Se han reportado diferentes valores de pH óptimo para el proceso de nitrificación; no obstante, se observa una tendencia marcada a que según disminuye el pH, la razón de nitrificación también disminuye (Shammas, 1986). Generalmente el pH óptimo para este proceso oscila entre 8 y 9. Los límites de tolerancia mínimo y máximo oscilan entre 5.5 y 6.7 y entre 9.6 y 10.4, respectivamente (Figura 5).

Figura 5: Efecto del pH sobre el proceso de nitrificación.



◀En la literatura se reportan diferentes límites de tolerancia al pH, para el proceso de nitrificación. No obstante, se observa una tendencia marcada a una disminución en la actividad de nitrificación según disminuye el pH.

El proceso de nitrificación es muy reducido en ambientes ácidos ($\text{pH} < 5$) [ej. pantanos ácidos]. La primera fase del proceso de nitrificación (ej. oxidación de amoníaco a nitrito) conduce a la acidificación del ambiente como resultado de la acumulación de ácido nitroso (HNO_2). Este último es reconocido como un agente mutagénico. En plantas de tratamiento de efluentes domésticos es común observar un cese temporal en la nitrificación cuando la mezcla de lodos alcanza valores de $\text{pH} \approx 5$. Mientras mayor es la concentración inicial del amoníaco mayor es la concentración del ácido nitroso producido. En pantanos ácidos, el ácido nitroso generado durante la primera fase de la nitrificación

es posteriormente oxidado a nitrato. Este último es probablemente asimilado tan pronto es producido, dando lugar a que generalmente, su concentración sea muy baja.

Metales

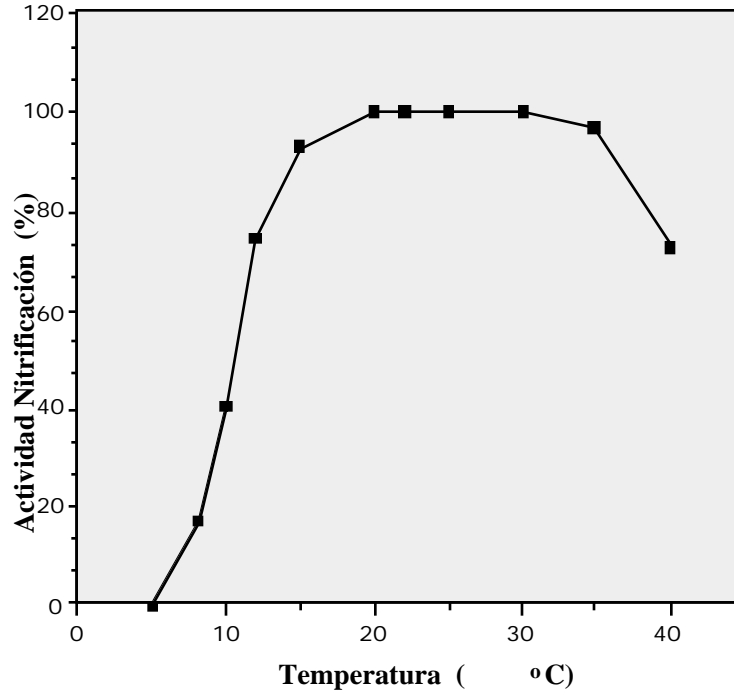
Aún cuando metales tales como cobre, mercurio y cromo tienen un efecto inhibitorio sobre cultivos puros de bacterias nitrificantes, dicho efecto se reduce significativamente en escenarios naturales y plantas de tratamientos. Para que un metal genere los mismos niveles inhibitorios reportados para cultivos puros de bacterias nitrificantes, en las poblaciones de bacterias nitrificantes presentes en sistemas de tratamiento de aguas usadas, se requiere aumentar su concentración entre 10 y 100 veces. Por otro lado, se ha reportado que concentraciones no inhibitorias de cobre y mercurio cancelan el efecto de otros inhibidores de la nitrificación, como thiourea y mercaptobenzothiazole (Painter, 1977).

Temperatura

La razón de nitrificación es afectada por la temperatura (Figura 6). La actividad máxima de nitrificación se registra a lo largo de un rango amplio de temperaturas, que por lo general se extiende de 15 a 35°C. Cuando la temperatura desciende de los 15°C, la razón de nitrificación cae abruptamente, reduciéndose a un 50% cuando la temperatura baja a 12°C.

Efectos del proceso de nitrificación sobre actividad agrícola:

Aún cuando el nitrato es asimilado fácilmente por los productores primarios fototróficos, éste no logra estimular la productividad primaria con igual efectividad que el amoníaco. El nitrato es una molécula muy soluble en agua, que es arrastrada por la lixiviación, en suelos que reciben lluvias fuertes. En consecuencia, la nitrificación no es un proceso beneficioso para la agricultura. Este proceso de oxidación transforma una fuente de nitrógeno de naturaleza catiónica (NH_4^+), que se absorbe fuertemente al material particulado cargado negativamente en arcillas, en una fuente de nitrógeno aniónica (NO_3^-) que es arrastrada fácilmente por escorrentías o que es trasladada a los depósitos de aguas subterráneas. El transferimiento de iones de nitrito y nitrato de suelos superficiales a suministros de aguas subterráneas es un problema crítico por dos razones: (1) representa una pérdida importante de nitrógeno del suelo, donde es necesario para sostener el crecimiento de plantas superiores y (2) la presencia de altas concentraciones de nitrito y nitratos en los suministros de agua potable plantea un serio riesgo para la salud humana. Para reducir la actividad de nitrificación en suelos dedicados a la agricultura, se utiliza con frecuencia amoníaco anhidro (NH_3) como fertilizante nitrogenado, en combinación con inhibidores específicos del proceso de nitrificación (ej. nitrapyrin).

Figura 6: Efecto de la temperatura sobre la actividad de nitrificación.

* Datos tomados de Shammas (1986).

Efectos del proceso de nitrificación sobre salud humana:

La presencia de altas concentraciones de nitrito y nitrato en los depósitos de agua potable (aguas subterráneas, aguas superficiales) plantean un serio problema de salud pública. El nitrito es tóxico para los humanos, dado que se combina con la hemoglobina bloqueando el intercambio normal de gases con oxígeno. En adición los nitritos pueden reaccionar con compuestos aminados para formar nitrosaminas carcinogénicas. Bajo condiciones ácidas el nitrito se convierte en ácido nitroso, el cual es un reconocido agente mutagénico, como indicamos anteriormente.

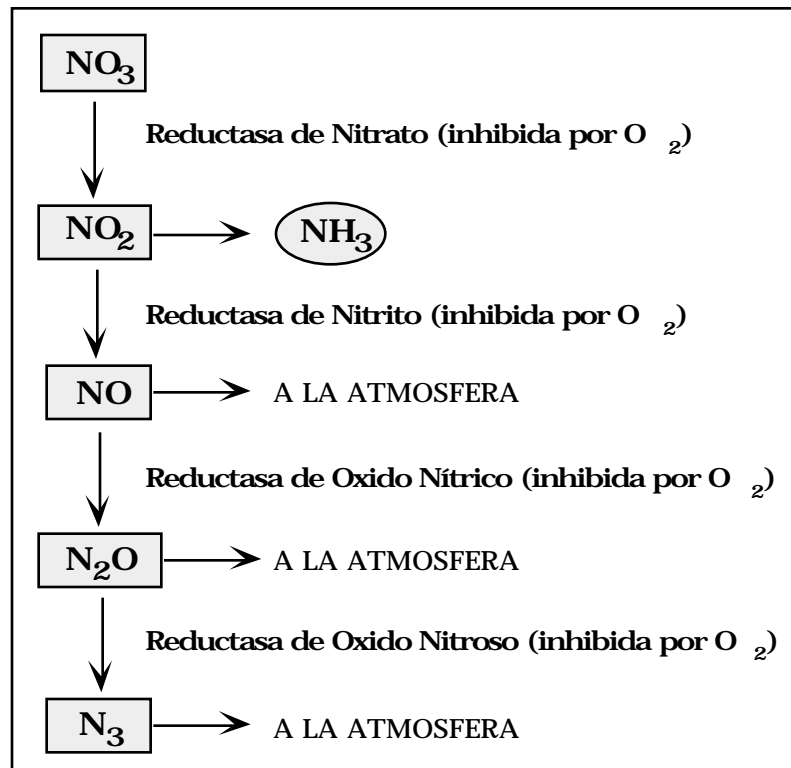
Aunque el nitrato no es altamente tóxico por sí solo, el mismo puede ser reducido a nitrito por la flora microbiana del tracto gastrointestinal de infantes, causando el síndrome de **bebé azul** ("blue baby"). La reducción de nitrato a nitrito no se produce normalmente en adultos, dado el bajo pH que se registra en su tracto gastrointestinal.

DENITRIFICACION

Descripción del proceso:

La denitrificación es un proceso de respiración anaerobia, donde el nitrato es utilizado como aceptador alternativo de electrones en lugar de oxígeno, reduciéndose a óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N_2O) o nitrógeno molecular (N_2) (Figura 7). Dado que estos compuestos nitrogenados son gases poco solubles, los mismos no se incorporan al material celular, sino que escapan a la atmósfera. Este proceso, también conocido como trayecto disimilativo de nitrato, es llevado a cabo exclusivamente por eubacterias. Los siguientes géneros bacterianos contienen especies que demuestran la habilidad de llevar a cabo el proceso de denitrificación: *Bacillus*, *Chromobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Spirillum*, *Hypomicrobium*, *Achromobacter*, *Moraxella*, *Paracoccus*, *Alcaligenes* y *Aquifex*. Este último género corresponde a bacterias hipertermofílicas y quimiolitotróficas obligadas.

Figura 7: Trayecto disimilativo de nitrato (denitrificación).



⚡ Hay algunas bacterias (ej. *Clostridium*) que no reducen nitrato, pero que sí pueden reducir nitrito a amoníaco. Este puede representar un mecanismo de detoxificación, dado que el nitrito puede ser tóxico bajo condiciones ácidas.

El retorno del nitrógeno a la atmósfera mediante el proceso de denitrificación completa el ciclo biogeoquímico del nitrógeno. Este proceso acarrea una pérdida de nitrógeno en ambientes naturales, por lo que resulta ser un proceso detrimental para la actividad agrícola. Por otro lado, el proceso de denitrificación es utilizado bajo condiciones controladas en sistemas de tratamiento terciario de aguas usadas, para reducir la concentración de nitrógeno en los efluentes.

Factores abióticos que afectan el proceso de denitrificación:

Oxígeno

La síntesis de las enzimas que participan en el proceso de denitrificación es reprimida por la presencia de oxígeno. El grado de represión del oxígeno varía de una especie bacteriana a otra y varía con la concentración de oxígeno. La información acumulada hasta el presente indica que el oxígeno no afecta la actividad de las reductasas, sino su síntesis. La aereación de suelos a través de las prácticas de arado y volteo mecánico tienen como una de sus finalidades reducir la actividad de las bacterias denitrificantes, reduciendo así la pérdida de fertilizantes nitrogenados.

pH

El pH del ambiente aparentemente afecta la naturaleza y concentración del producto final en el proceso de denitrificación. En estudios realizados con una flora bacteriana mixta se encontró que la reducción de nitrato a óxido nitroso es más abundante a valores de $\text{pH} < 7$ (Painter, 1977).

Temperatura

El rango de temperaturas a los cuales se produce la denitrificación es amplio, según lo revela el hecho de que se han aislado bacterias psicrófilas, mesófilas y termófilas que llevan a cabo dicho proceso. No obstante, en cada uno de estos grupos observamos que la reducción disimilativa de nitrato opera dentro de un rango definido de temperaturas.

AMONIFICACION

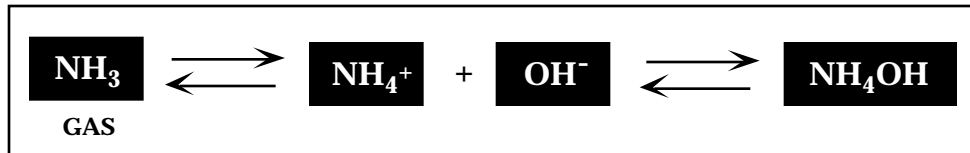
Descripción del proceso:

El proceso de amonificación consiste en la generación de amoníaco como producto principal en la descomposición de materia orgánica nitrogenada (ej. proteínas, bases nitrogenadas, urea, etc.). Dicho proceso es llevado a cabo por muchos microorganismos, así como también por plantas y animales. Enzimas conocidas como deaminasas son las responsables del transferimiento del nitrógeno de moléculas orgánicas a otras moléculas orgánicas. La descomposición de la materia orgánica nitrogenada se produce bajo condiciones aerobias y anerobias.

Efecto de factores abióticos sobre la amonificación:

El amoniaco en agua existe principalmente como el ión amonio (NH_4^+) y como hidróxido de amonio (NH_4OH) (Figura 8). Este último es altamente tóxico para muchos organismos, especialmente para los peces. Las proporciones de NH_4^+ a NH_4OH en ambientes acuáticos son determinadas por el efecto que ejercen el pH y la temperatura sobre su razón de disociación. El efecto del pH sobre la disociación del amoniaco (NH_3) en agua está descrito en la Tabla 2.

Figura 8: Disociación de amoniaco en agua.



El ión amonio se absorbe fuertemente a material particulado y coloidal, especialmente en cuerpos de agua alcalinos, que contienen altas concentraciones de materia orgánica disuelta de naturaleza húmica. Aunque el NH_4^+ constituye una buena fuente de nitrógeno para las plantas, muchas algas y macrófitas localizadas en ambientes eutróficos crecen mucho mejor a expensas de nitrato, aún cuando se requiere que el nitrato sea reducido posteriormente a amoniaco. Esto se debe en gran medida a la toxicidad del NH_4OH producido a pH altos, como son los valores de pH que se observan durante periodos de alta actividad fotosintética en ambientes eutróficos.

Tabla 2 Efecto de pH en la disociación del NH_3 en agua.

pH	$[\text{NH}_4^+]$	$[\text{NH}_4\text{OH}]$
6	3000	1
7	300	1
9	30	1
9.5	1	1

Distribución del amoniaco en agua y suelos:

La distribución del amoniaco en cuerpos de agua dulce puede variar a lo largo del tiempo y espacio, dependiendo de la productividad del cuerpo de agua y la magnitud de los aportes alocótonos (foráneos) de materia orgánica. Aún cuando es difícil establecer generalizaciones absolutas, es común encontrar que los niveles de amoniaco son bajos en cuerpos de agua oligotróficos y en la cima trofógena de la mayor parte de los cuerpos acuáticos. El amoniaco tiende a aumentar en la zona del hipolimnio de lagos

estratificados con la entrada de altas cantidades de materia orgánica. La acumulación del amoníaco en dicha zona se acelera cuando el hipolimnio se torna anóxico. Bajo condiciones anaeróbicas la nitrificación se reduce y puede cesar cuando el potencial redox alcanza valores menores a 0.4 V. Al mismo tiempo, con el desarrollo de condiciones anóxicas desaparece la microzona oxidada en la interfase de agua y sedimentos. Esto ocasiona que la capacidad de absorción de los sedimentos se reduzca significativamente y como resultado se produce una liberación del amoníaco atrapado en los sedimentos.

En suelos, una gran parte del amoníaco (NH_3) producido por la amonificación es reciclado rápidamente y convertido a aminoácidos en las plantas. Dado que el amoníaco (NH_3) es volátil, una parte de éste se puede perder por vaporización (particularmente en suelos que presentan una alta alcalinidad). Dicha pérdida es cuantiosa en áreas donde residen grandes cantidades de animales (ej. hatos de ganado).

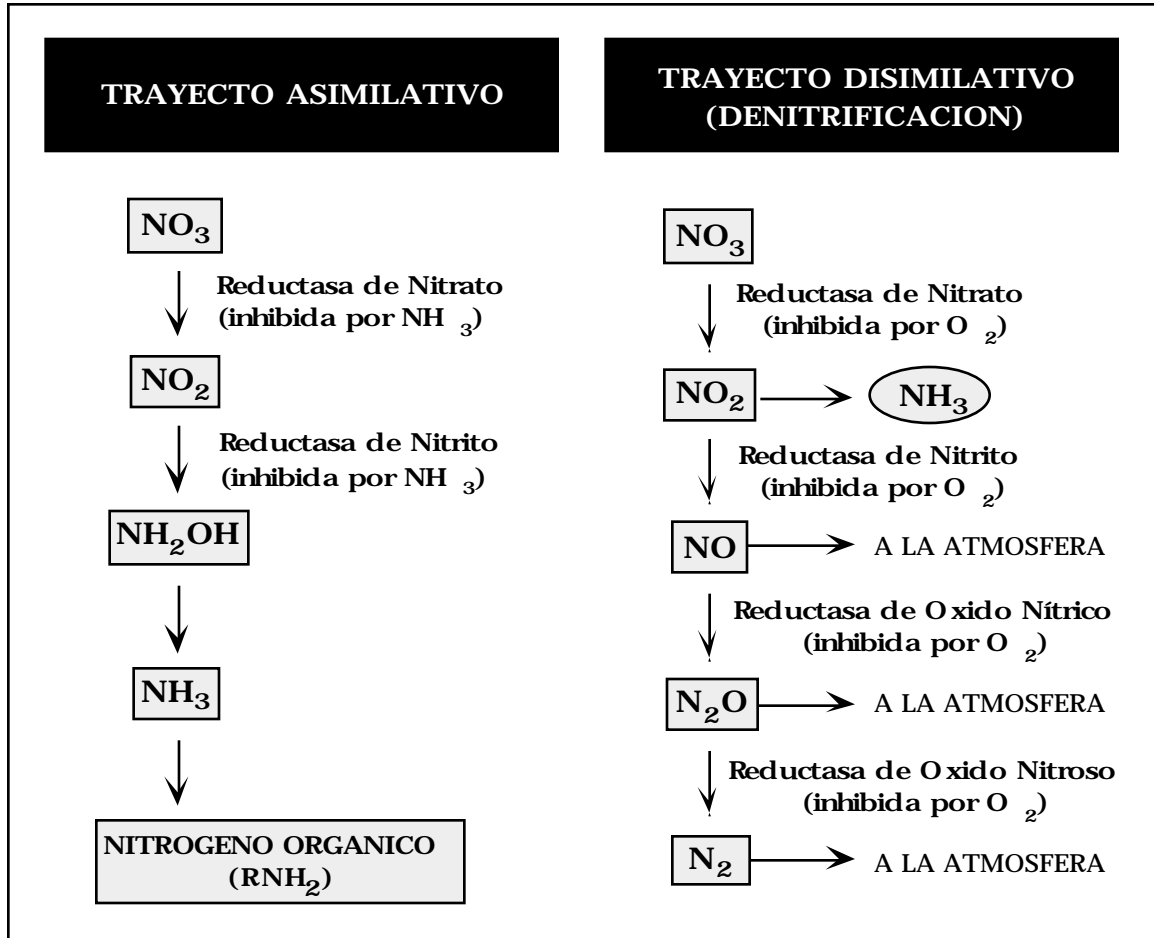
AMONIFICACION DE NITRATO (Trayecto asimilativo de nitrato)

Descripción del proceso:

El nitrato (NO_3^-) es **asimilado** cuando el mismo es reducido para utilizarse como nutriente. Dicho proceso de reducción es conocido como metabolismo asimilativo. Es importante enfatizar que el metabolismo asimilativo de nitrato es muy diferente al proceso de denitrificación, donde el nitrato es utilizado como aceptador final de electrones en un proceso dirigido a generar energía (respiración anaerobia). Nos referimos al proceso de denitrificación como un trayecto disimilativo, mientras que el proceso de amonificación de nitrato es un trayecto asimilativo. La figura 9 presenta una comparación entre ambos trayectos reductivos de nitrato.

A diferencia del proceso de denitrificación, que resulta en la pérdida de nitrógeno de ambientes naturales, la amonificación de nitrato, tiene como producto principal al amoníaco. Este es posteriormente incorporado al material celular mediante las reacciones de asimilación que presentamos en una sección anterior. Las reductasas de nitrato que intervienen en el trayecto asimilativo son proteínas solubles que no son afectadas por el oxígeno, mientras que su contraparte en el trayecto disimilativo son proteínas ligadas a la membrana citoplasmática cuya síntesis es reprimida por oxígeno. El trayecto asimilativo de nitrato es llevado a cabo por plantas, hongos y algunas bacterias, mientras que la denitrificación es un proceso que llevan cabo sólo bacterias. La amonificación de nitrito que se observa en el trayecto disimilativo es llevada a cabo por organismos *fermentativos* que utilizan los electrones del coenzimo NADH para reducir nitrito en lugar de reducir a un compuesto orgánico, por lo tanto, no es un caso de respiración aerobia.

Figura 9: Metabolismo de nitrógeno.

**Entrada de nitrógeno a ambientes naturales:**

Generalmente, la entrada de nitrógeno proveniente de fuentes atmosféricas a cuerpos acuáticos ha sido considerada menor a la aportación proveniente de escorrentías terrestres. No obstante, esa percepción ha ido cambiando según se han magnificado los aportes de nitrógeno derivados de la contaminación atmosférica. En algunas corrientes alpinas oligotróficas que transcurren a lo largo de cuencas de granito, una fuente principal del nitrógeno lo son las diferentes formas de precipitación (lluvia, nieve, granizo) que se producen en el área (Likens y Bormann, 1977). La cantidad de nitrógeno que aportan las diferentes formas de precipitación varía con las condiciones meteorológicas, la localización del hábitat con respecto a las fuentes de contaminación industrial y el patrón de vientos imperantes. El nitrógeno puede entrar a un ambiente natural en las siguientes formas: N_2 , HNO_3 , y NH_4^+ disueltos; como NH_4^+ adherido a materia particulada y como materia orgánica disuelta o adherida a materia particulada.

Otras fuentes de entrada del nitrógeno a ambientes naturales lo son la fijación biológica de nitrógeno, la cual discutimos anteriormente, y los aportes provenientes de escorrentías terrestres y aguas subterráneas. Estos últimos cargan el nitrógeno proveniente de fuentes de contaminación (efluentes industriales y domésticos), fertilizantes nitrogenados y otros compuestos nitrogenados (ej. pesticidas, excremento de animales) que son utilizados o se generan en suelos dedicados a la agricultura y la ganadería.

Pérdida de nitrógeno en ambientes naturales:

En adición a la pérdida de nitrógeno que acarrea el proceso de desnitrificación, se pueden producir pérdidas de nitrógeno en ambientes naturales como resultado de los procesos de nitrificación y amonificación. En ambientes acuáticos la sedimentación también genera una pérdida de nitrógeno orgánico e inorgánico para las formas de vida que viven en la columna de agua.

RECICLAJE DE NITROGENO: CONSIDERACIONES AMBIENTALES

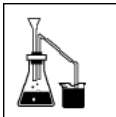
Deposición de nitrógeno y liberación de gases del efecto invernadero:

Probablemente antes de la presente era de industrialización existía un balance entre la cantidad de nitrógeno fijado biológicamente y el retorno del nitrógeno molecular mediante el proceso de desnitrificación. Dicho escenario cambió dramáticamente una vez los seres humanos desarrollamos la capacidad de reducir el N_2 industrialmente, utilizando presiones altas (cientos de atmósferas) y temperaturas elevadas ($> 500^\circ C$). La producción industrial anual de nitrógeno inorgánico reducido (NH_3 y NO_3^-) excede los 50 millones de toneladas, una cantidad extra de sustrato que difícilmente las bacterias desnitrificantes pueden metabolizar en el mismo lapso de tiempo. Estudios recientes revelan que muchas áreas de bosque en Europa aparentemente están saturándose de nitrógeno (Sullivan, 1993). Es motivo de preocupación el enriquecimiento nitrógeno en áreas boscosas que al mismo tiempo experimentan cambios climáticos notables, como es el aumento en calentamiento. El reciclaje del nitrógeno en dichas áreas se puede alterar como resultado de un aumento en la actividad de mineralización y nitrificación en suelos que se tornan más cálidos. El aumento en la deposición de nitrógeno tiene como consecuencias: (1) un aumento en las emisiones de N_2O provenientes de suelos en áreas boscosas y (2) una posible reducción en asimilación de metano (CH_4). Esto genera, a su vez, un aumento en la concentración de gases en la atmósfera que causan el efecto invernadero.

Razón N/P y calidad de agua:

El nitrógeno ha sido identificado como el nutriente limitante crítico en aguas costaneras (Ryther y Dunstan, 1971). Se considera que las concentraciones de fósforo que se

reciben de los aportes de aguas de alcantarillado y de escorrentías terrestres es adecuado para el crecimiento del plancton. En cambio, el nitrógeno resulta escaso en dichos ambientes debido a: (1) la razón de nitrógeno a fósforo en aguas de alcantarillados y en aguas producto de otras escorrentías es baja y (2) la regeneración de fósforo es más rápida que la regeneración de amoníaco a partir de la descomposición de materia orgánica (amonificación). En consecuencia, se piensa que la entrada de fósforo a un ecosistema acuático provoca que el nitrógeno se convierta en nutriente limitante, aún cuando su concentración inicial supere a la del fósforo. La fertilización de cuerpos de agua con nitrógeno y fósforo provoca un aumento en la tasa fotosintética, sin cambios aparentes en la composición de especies fototróficas. Sin embargo, la fertilización con fósforo solamente provoca el sobrecrecimiento de cianobacterias que fijan nitrógeno y que afectan la calidad del agua. A partir de estos estudios se ha planteado que los programas de control de la contaminación dirigidos a reducir la concentración de nitrógeno en efluentes, podría tener efectos adversos sobre la calidad de las aguas.



METODOLOGIA

PROCEDIMIENTO A SEGUIR

AMONIACO :	Manual análisis químico Hach
NITRITO :	Manual análisis químico Hach
NITRATO :	Manual análisis químico Hach
NITROGENO TOTAL :	Manual análisis químico Hach



PREGUNTAS...

1. Describa los procesos de transformación química del nitrógeno que integran el ciclo biogeoquímico de nitrógeno, los organismos que participan en dichas transformaciones y la repercusión de cada transformación para la productividad primaria y para la salud de los seres humanos y los animales no racionales.
2. Explique bajo qué condiciones los procesos de amonificación y nitrificación pueden acarrear una pérdida de nitrógeno para un ambiente natural.

TERCERA PARTE

NUTRIENTES Y GASES: OXIGENO DISUELTO

EL OXIGENO DISUELTO HA SIDO uno de los constituyentes no-conservativos (su concentración es variable) más estudiados en ecosistemas acuáticos (Packard, et al., 1969). Este es un requisito nutricional esencial para la mayoría de los organismos vivos, dada su dependencia del proceso de respiración aeróbica para la generación de energía y para la movilización del carbono en la célula. Además, el oxígeno disuelto es importante en los procesos de: fotosíntesis, oxidación-reducción, solubilidad de minerales y la descomposición de materia orgánica. Los niveles de oxígeno disuelto necesarios para sostener la vida de organismos acuáticos varían de una especie a otra. La truchas, por ejemplo, requieren concentraciones mayores a 4.0 mg/L para permanecer saludables, mientras que muchas especies de crustáceos pueden vivir y reproducirse en ambientes acuáticos donde la concentración de oxígeno disuelto oscila entre 2.0 y 0.1 mg/L. Por otro lado, existe una gran variedad de microorganismos (bacterias, hongos y protozoarios) para los cuales el oxígeno no es indispensable (anaerobios facultativos), otros no lo utilizan, siendo indiferentes a su presencia (aerotolerantes) e incluso, para algunos el oxígeno resulta ser tóxico o inhibitorio para el crecimiento (anaerobios estrictos).

La distribución del oxígeno en cuerpos de agua naturales está determinada por el intercambio gaseoso a través de la superficie del agua, la producción fotosintética, el consumo respiratorio y por procesos físicos de advección (movimiento horizontal del aire causado principalmente por variaciones de la presión atmosférica cerca de la superficie) y difusión. Siendo el oxígeno un requisito nutricional esencial para la mayoría de los

organismos, es importante medir las variaciones por unidad de tiempo de los procesos bióticos (fotosíntesis y respiración celular) y abióticos que se desarrollan *in situ*, que afectan su concentración y distribución. Es conveniente conocer dichas variaciones, si nos interesa construir modelos dinámicos del funcionamiento de comunidades acuáticas.

Fuentes de oxígeno en ambientes acuáticos:

La entrada de oxígeno al agua envuelve dos procesos: la entrada de oxígeno atmosférico y la generación de oxígeno dentro del cuerpo de agua por la actividad de organismos fotosintéticos. Para el primer proceso es necesario un gradiente apropiado basado en las diferencias entre las presiones parciales de oxígeno en la atmósfera y en el agua. La dirección y velocidad de transferencia del oxígeno al agua dependen de tres factores:

- (i) la magnitud del gradiente de concentración
- (ii) el grosor de la película superficial [la razón de difusión molecular de oxígeno a 24°C es de sólo 2.3×10^{-5} cm²/segundos, requiriéndose años para que trazas de oxígeno logren penetrar 5 metros a través de la superficie]
- (iii) la turbulencia [ej. en áreas de cascadas y represas la alta presión de la corriente de agua lleva a solución los gases atmosféricos]

El aporte de oxígeno al agua a través del proceso de fotosíntesis constituye la otra fuente primaria de oxígeno en el agua. La mayor parte del oxígeno lacustre (referente a los lagos) y de otros cuerpos lóticos proviene de la actividad fotosintética. El oxígeno derivado del proceso de fotosíntesis se produce como resultado de la fotólisis del agua.



Las diferencias en la concentración de oxígeno disuelto entre diferentes hábitats acuáticos, puede explicarse a base de los siguientes criterios:

- a. diferencias en la magnitud de la actividad respiratoria de plantas, animales y microorganismos.
- b. influencia de la morfología del fondo en el perfil vertical de oxígeno (mientras mayor es la irregularidad del fondo, mayor es el área superficial de los sedimentos ricos en materia orgánica que demandan oxígeno).
- c. diferencias en la penetración de luz y por ende, en la actividad fotosintética.
- d. diferencias en la temperatura del agua.
- e. entrada de minerales solubles (aumento en salinidad).
- f. aumento en concentración de minerales a consecuencia de evaporación de agua.
- g. entrada de grandes cantidades de materia orgánica oxidable.

Solubilidad de oxígeno:

Aunque la abundancia de oxígeno en la atmósfera es relativamente alta, su solubilidad es baja al compararla con la solubilidad del bióxido de carbono (Tabla 1). A pesar de la naturaleza gaseosa del oxígeno, rara vez se expresa su concentración o solubilidad en centímetros cúbicos u otra medida apropiada de volumen. Generalmente, las medidas de oxígeno disuelto se expresan en mg O₂/L, siendo dicha expresión mayor por un factor de 1.4 a la concentración expresada en volumen (la densidad de oxígeno a 0°C y 1 atmósfera de presión es de 1.4276 mg/L).

Tabla 1: Abundancia de gases más comunes en aire no-contaminado y su solubilidad en agua.

GASES	Abundancia Relativa en Aire (%)	Solubilidad * (ml/L)	Contenido Total Gas Disuelto a 0°C (mg/L)
Nitrógeno (N ₂)	78.084	23.3	20
Oxígeno (O ₂)	20.946	49	14.6
Argón (Ar)	0.934	---	---
Bióxido de Carbono (CO ₂)	0.033	1710	1.10

* Datos tomados de Cole (1983).

La concentración de oxígeno disuelto se puede expresar también en términos del por ciento de saturación de oxígeno en agua. A menudo éste parámetro es utilizado para describir cualitativamente la calidad de cuerpos de agua, siempre y cuando no estén presentes compuestos tóxicos, tales como metales pesados y pesticidas (Tabla 2).

Tabla 2: Calidad del agua en función del % saturación de oxígeno.

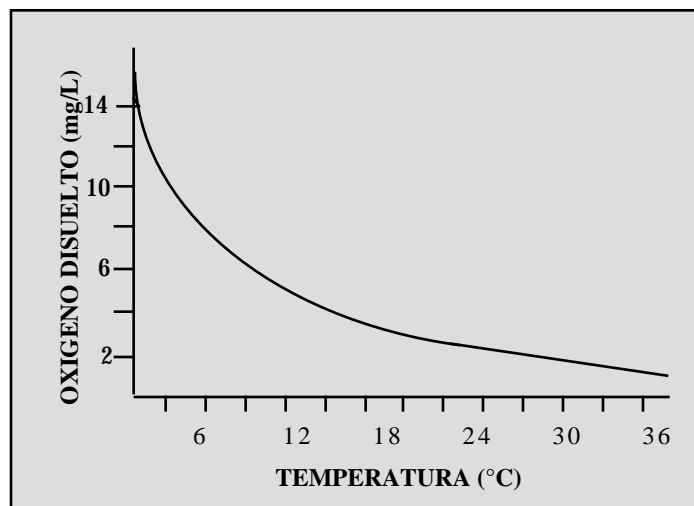
Calidad	% Saturación de Oxígeno (a la temperatura y salinidad prevaletientes en el ambiente)
Buena	90
Regular	89 - 75
Dudosa	74 - 50
Contaminada	< 50

* Datos tomados de Lynch y Poole (1979).

En ocasiones se pueden registrar valores que indiquen que un cuerpo de agua está saturado con oxígeno a una temperatura, salinidad y altitud dadas. En ambientes acuáticos naturales la sobresaturación puede ser producida por una alta tasa de actividad fotosintética. Un signo de la supersaturación es la formación de burbujas sobre superficies sumergidas o dentro del sistema vascular y los tejidos de organismos

acuáticos. La supersaturación de gases puede afectar adversamente la vida acuática y puede también interferir con los procesos de tratamiento de aguas usadas. Se han reportado niveles de sobresaturación letales para organismos acuáticos en manantiales, ríos, pozos, lagos, estuarios y agua de mar (áreas de praderas de *Thalassia*) [APHA, 1992]. Por otro lado, medidas de oxígeno por debajo del nivel de saturación pueden indicar contaminación con materia orgánica o una alta tasa de actividad respiratoria provocada por procesos naturales (ej. la caída de hojas en cuerpos acuáticos durante el otoño).

Figura 1: Efecto de la temperatura sobre las concentraciones de oxígeno disuelto en agua.



* Modificada de Horne y Goldman (1994).

Los valores indicados son representativos de agua pura a nivel del mar a una presión de 760 mm Hg.

EFFECTO FACTORES ABIOTICOS SOBRE LA SOLUBILIDAD DE OXIGENO

Temperatura:

La cantidad de oxígeno presente en el agua es afectada por la temperatura, la salinidad y la presión atmosférica. La concentración de oxígeno en agua es inversamente proporcional con la temperatura (Figura 1). Si elevamos la temperatura del agua a su punto de ebullición generamos una solución libre de oxígeno. Podemos generalizar que a cualquier presión atmosférica, aguas frías saturadas con oxígeno contienen una mayor cantidad de oxígeno disuelto que aguas tibias o calientes. No obstante, la relación inversa entre temperatura y la concentración de oxígeno disuelto puede verse alterada en ambientes naturales por efecto de los procesos de fotosíntesis y respiración.

Los cambios estacionales generan alteraciones significativas en la temperatura de los cuerpos de agua. Dichas alteraciones en temperatura tendrán, a su vez, un efecto sobre los niveles de oxígeno disuelto. Aumentos en la temperatura del agua traen como consecuencia una disminución en los niveles de oxígeno disuelto. Algunos incidentes de mortandad masiva de peces en cuerpos de agua interiores, durante la época de verano, se pueden relacionar con una reducción en los niveles de oxígeno. De forma inversa, en cuerpos de agua no-contaminados se registran aumentos en los niveles de oxígeno disuelto durante el periodo de invierno.

Salinidad:

La presencia de algunos minerales en una solución reducen la solubilidad de los gases. Las sales disueltas en agua reducen los espacios intermoleculares disponibles para la disolución del oxígeno. La Tabla 3 nos ilustra el efecto combinado de la temperatura y la salinidad sobre el oxígeno disuelto. El efecto de la exclusión de oxígeno en función de la concentración de sales disueltas es mínimo excepto en ambientes hipersalinos, tales como los salitrales.

Tabla 3: Solubilidad de oxígeno en función de la temperatura y la salinidad.

Temperatura °C	Solubilidad De Oxígeno (mg/L)					
	Salinidad (‰)					
	0.030	9.055	18.080	27.105	36.130	45.155
0.0	14.621	13.728	12.888	12.097	11.355	10.657
5.0	12.770	12.024	11.320	10.656	10.031	9.441
10.0	11.288	10.656	10.058	9.493	8.959	8.454
15.0	10.084	9.541	9.027	8.540	8.079	7.642
20.0	9.092	8.621	8.174	7.749	7.346	6.964
25.0	8.263	7.850	7.457	7.083	6.728	6.390
30.0	7.559	7.194	6.845	6.513	6.100	5.806
35.0	6.950	6.624	6.314	6.017	5.734	5.464
40.0	6.412	6.121	5.842	5.576	5.321	5.078
45.0	5.927	5.665	5.414	5.174	4.944	4.724
50.0	5.477	5.242	5.016	4.799	4.591	4.392

* Datos tomados del Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 1992); la salinidad promedio del agua de mar es de 35‰.

Presión atmosférica:

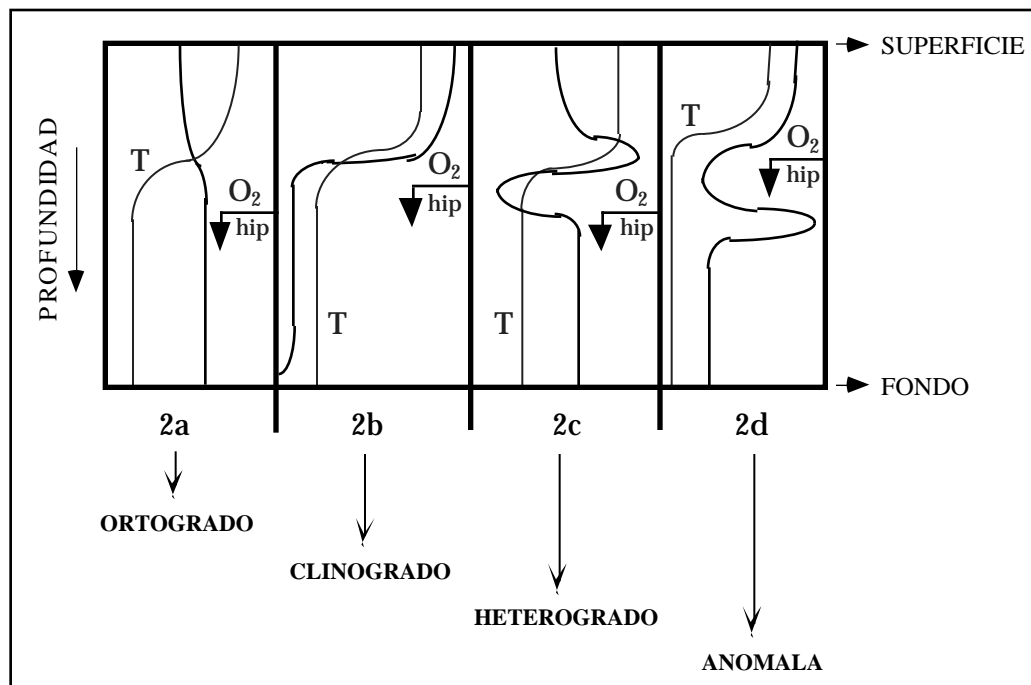
La solubilidad de un gas está determinada por su presión parcial (p) [Ley de Henry]. A su vez, la presión parcial de un gas es afectada por cambios en altitud (cambios en presión atmosférica). Observamos que en cuerpos de agua no contaminados la

concentración de oxígeno disminuye con la altitud. Es conveniente aclarar que dicha relación puede ser alterada por los procesos de fotosíntesis y respiración. La relación entre los niveles medidos de oxígeno disuelto, el por ciento de saturación de oxígeno en agua, la temperatura del agua y la altitud se interpretan tradicionalmente utilizando un nomograma.

Distribución vertical de oxígeno en cuerpos de agua estratificados:

Se reconocen cuatro (4) patrones de distribución de oxígeno en cuerpos de agua que presentan una estratificación termal (Figura 2). En cuerpos de agua oligotróficos (presentan una baja actividad fotosintética y por ende, una baja productividad), la distribución del oxígeno a lo largo de la columna de agua varía en función de la temperatura. Este patrón se conoce como distribución **ortogrado** (Figura 2a). No se observan cambios apreciables en la concentración de oxígeno disuelto a lo largo del perfil de profundidad.

Figura 2: Perfiles de distribución de oxígeno en cuerpos de agua estratificados.



* Modificada de Horne y Goldman (1994).

T=temperatura; O₂=oxígeno; hip=hipolimnio

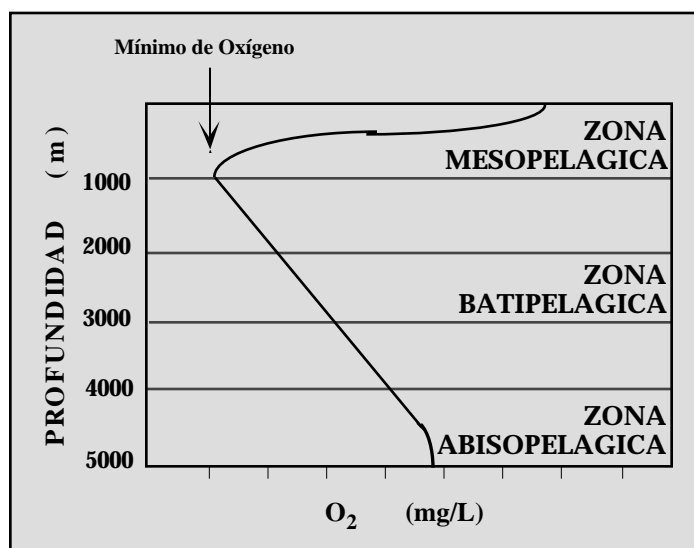
La curva **clinogrado** (Figura 2b) se caracteriza por un contenido relativamente mayor de oxígeno cerca de la superficie, donde se desarrolla la actividad fotosintética. Este patrón de distribución vertical de oxígeno se observa en cuerpos de agua estratificados,

con una alta productividad. Se produce una reducción significativa de oxígeno en el hipolimnio, como resultado de la descomposición aeróbica de la materia orgánica generada por los fototrofos.

La curva **heterogrado** (Figura 2c) exhibe una pendiente irregular a lo largo del perfil de profundidad. Se puede producir una distribución heterogrado negativa (disminución O_2 disuelto) como resultado de la acumulación de organismos heterotróficos que lleve a que la respiración domine sobre la actividad fotosintética. De igual forma se podría producir una distribución heterogrado positiva como resultado de la acumulación de organismos fototróficos.

Se pueden producir patrones **anómalos** en la distribución vertical del oxígeno disuelto como resultado del asentamiento de aguas superficiales frías, ricas en oxígeno (Figura 2d). El mismo fenómeno puede también producirse por la estratificación a profundidades intermedias de afluentes que tienen una concentración de oxígeno diferente.

Figura 3: Perfil de oxígeno en aguas oceánicas.



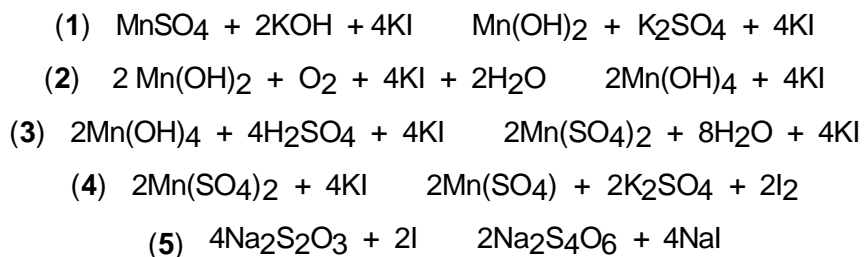
En ausencia de períodos de mezcla estacionales de la columna de agua y de perturbaciones atmosféricas que generen vientos fuertes o una precipitación intensa, los cuerpos de agua lénticos en ambientes tropicales tienden a mantener su estratificación termal. Bajo esas condiciones, dichos cuerpos de agua presentan un déficit de oxígeno hipolimnético perenne. En consecuencia, en el hipolimnio prevalecen condiciones anóxicas y altas concentraciones de metano (CH_4) o sulfuro de hidrógeno (H_2S). Dicho tipo de ambiente se caracteriza por presentar una curva clinogrado.

En ambientes oceánicos, la zona epipelágica es la única porción de la columna de agua, donde hay suficiente luz para sostener el proceso de fotosíntesis. Una vez penetramos a la zona mesopelágica (profundidad > 200 m) la concentración de oxígeno disuelto comienza a disminuir significativamente. Dicha reducción se produce como consecuencia de la disminución en la densidad de fototrofos y el consumo de oxígeno por parte de descomponedores. Dentro de la zona mesopelágica se registra el **mínimo de oxígeno disuelto** (zona ubicada entre 700 y 1000 m). El contenido de oxígeno disuelto aumenta por arriba y por debajo del área del mínimo (Figura 3).

Determinación de oxígeno disuelto por el método Winkler:

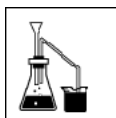
Existe una técnica sencilla y al mismo tiempo eficiente, para medir oxígeno disuelto en agua. La misma fue desarrollada por Winkler varias décadas atrás. La técnica consiste en la adición de una solución de manganeso divalente (MnSO_4) [sulfato manganoso] a una muestra de agua, seguida de la adición de una base fuerte (ioduro de potasio alcalino), generándose un precipitado de hidróxido manganoso. El oxígeno disuelto en la muestra oxidará una cantidad equivalente del hidróxido manganoso a hidróxido mangánico. En la presencia de iones de yoduro y la acidificación de la muestra con ácido sulfúrico, el manganeso oxidado revierte al estado divalente, liberándose al mismo tiempo una cantidad de yodo equivalente al contenido original de oxígeno disuelto en la muestra. Finalmente el yodo liberado es cuantizado mediante una titulación con tiosulfato (Figura 4).

Figura 4: Secuencia de reacciones en la determinación de oxígeno por el Método Winkler.



Las reacciones 3 y 4 ocurren simultáneamente. La prueba descansa sobre dos hechos: (1) MnSO_4 se oxida fácilmente a Mn(OH)_4 y (2) las sales mangánicas [$\text{Mn(SO}_4)_2$] son inestables en soluciones ácidas conteniendo yoduros (KI), revirtiendo a sales manganosas [MnSO_4] y liberando yodo (I_2).

Existen varias modificaciones al método Winkler dirigidas a minimizar la interferencias causadas por la presencia de agentes oxidantes o reductores en la muestra de agua o por la presencia de compuestos orgánicos que obstaculizan la sedimentación del precipitado mangánico y que dificultan la determinación del punto final de equivalencia en la titulación iodométrica. La modificación ácida remueve eficientemente la interferencia causada por nitritos (NO_2), los cuales representan la interferencia más común en efluentes tratados biológicamente y en determinaciones de demanda bioquímica de oxígeno (DBO). La modificación de permanganato reduce la interferencia del ión ferroso. Cuando la concentración del ión férrico en la muestra excede los 5 mg/L se añade fluoruro de potasio como el primer reactivo en la modificación ácida o después del tratamiento de permanganato para remover el ión ferroso. También se puede eliminar la interferencia del ión férrico (Fe^{3+}) utilizando ácido fosfórico (H_3PO_4) en lugar de ácido sulfúrico (H_2SO_4), en la fase de acidificación de la muestra. Refiérase a APHA, 1992 para los detalles de algunas de estas modificaciones.



METODOLOGIA

Modificación Ácida

Reactivos:

- Solución sulfato manganeso (MnSO_4)
- Solución ioduro alcalino ácida ($\text{KOH} - \text{KI} - \text{N}_3$)
- Acido sulfúrico concentrado (H_2SO_4)
- Solución almidón
- Solución standard de tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) (0.0250 N)

(*Refiérase al manual "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater" [APHA, 1992] para obtener la fórmula de preparación de estos reactivos. Los mismos se pueden obtener ya preparados de conocidas compañías comerciales dedicadas a la manufactura y venta de reactivos químicos.)

Materiales:

- Botellas de oxígeno disuelto de 300 mL con tapón de cristal esmerilado
- Pipetas de 1 mL
- Matraces cónicos de 250 mL
- Buretas con su base y soporte
- Cilindros graduados de 200 mL

Procedimiento (Figura 5):

1. Si toma las muestras de agua sumergiendo las botellas de muestreo directamente en el cuerpo de agua, asegúrese de sumergirla cerrada. Remueva el tapón de cristal esmerilado debajo del agua y mueva la botella de lado a lado tratando de remover toda burbuja de aire atrapada en la botella. Cuando utiliza botellas de muestreo (Kemmerer o VanDorn) para llenar sus botellas de oxígeno disuelto, asegúrese de llenar esta última hasta que se desborde, de tal forma que su volumen sea reemplazado por lo menos tres (3) veces.
2. Añada a la muestra **2.0 mL** de $MnSO_4$, introduciendo la punta de la pipeta dentro de la muestra de agua (**asegúrese de lavar la pipeta o de utilizar una pipeta nueva cuando tome otra alícuota de la solución de sulfato manganoso**).
3. Añada inmediatamente y de igual forma **2.0 mL** de ioduro alcalino ácida (KOH - KI - N_3) (**asegúrese de lavar la pipeta o de utilizar una pipeta nueva cuando tome otra alícuota de la solución de ioduro alcalino ácida**).
4. Cierre la botella con su tapón de vidrio esmerilado evitando atrapar burbujas de aire e invierta **suavemente** varias veces (10 veces) para mezclar las soluciones contenidas en la botella. Los pasos 2, 3 y 4 deben realizarse inmediatamente después de tomar la muestra, para así fijar el oxígeno disuelto contenido en la botella. En el caso de que no pueda continuar con el resto del procedimiento inmediatamente, coloque las botellas en frío, protegidas de la luz.
5. Deje la botella en reposo, permitiendo que el precipitado se asiente hasta que la porción de líquido claro ocupe la mitad de la botella. Repita el paso 4 (la inversión de la botella) dejando asentar el precipitado nuevamente hasta la mitad de la botella.
6. Añada **2.0 mL** de H_2SO_4 concentrado **dejándolos correr por el cuello interno de la botella de oxígeno disuelto**. Tape la botella y mezcle por inversión suave (10 veces). Utilice guantes resistentes al ácido para realizar esta operación. Deje la botella en reposo por 3 a 5 minutos. La muestra acidificada presentará un color amarillo oro.
7. Transfiera **203 mL*** de la muestra acidificada a un matraz cónico de 250 mL y titule la solución anterior con tiosulfato de sodio ($Na_2S_2O_3$) 0.0250N hasta que se produzca un color amarillo pálido. Recuerde agitar su matraz cónico frecuentemente mientras lleva a cabo la titulación.
8. Añada **1.0 ml** de la solución de almidón a la muestra. Mezcle, agitando en forma circular su matraz. La solución adquirirá ahora un color azul opaco. Continúe la

titulación con tiosulfato hasta que desaparezca el color azul. Ignore cualquier retorno a un color azulado, luego de haber alcanzado el punto final de la titulación.

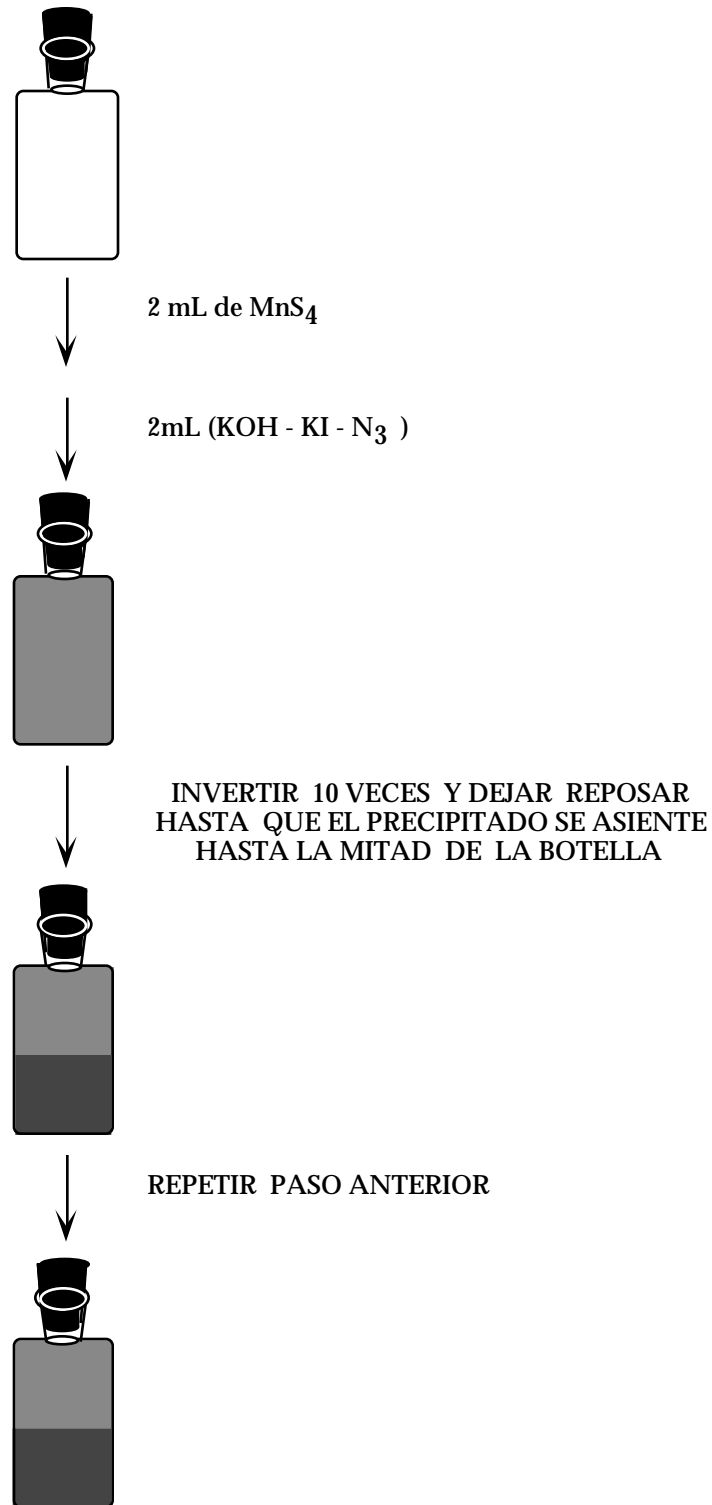
9. **Cálculos:** El oxígeno disuelto en la muestra será igual al volumen total de tiosulfato utilizado en la titulación de la muestra. Para 200mL de la muestra original:

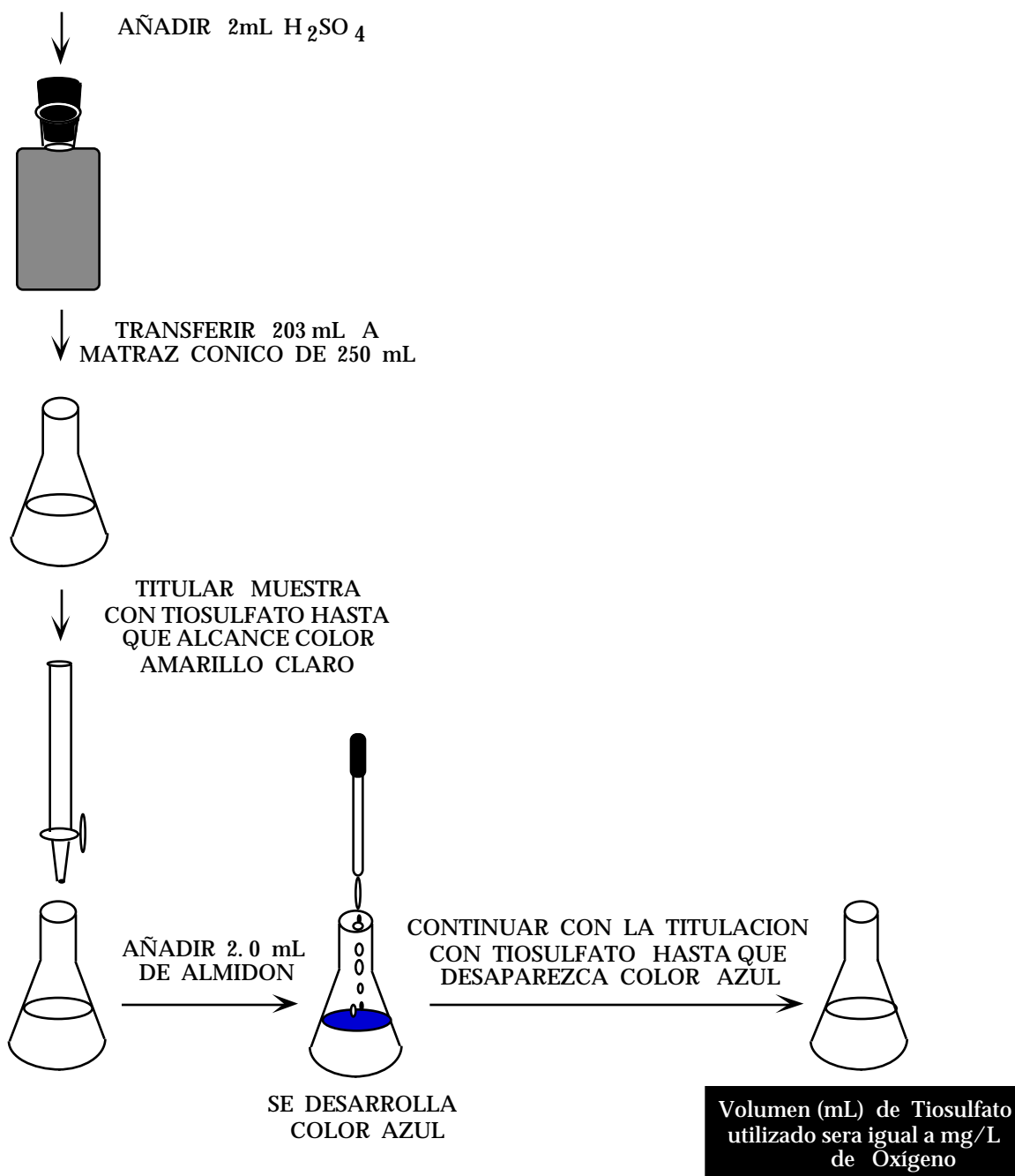
1 mL de tiosulfato de sodio = 1 mg/L de oxígeno disuelto

***Nota:** La muestra a titularse debe corresponder a 200mL de la muestra original de agua. Se titulan 203 mL de la muestra acidificada para corregir por el volumen de muestra desplazado por los 2mL del sulfato manganoso y los 2 mL del yoduro alcalino ácida que se añadieron a la muestra.

$$200 \times 300 / (300 - 4) = 203 \text{ mL}$$

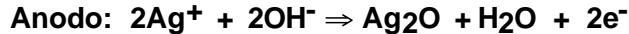
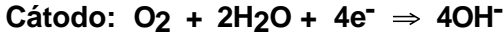
Figura 5: Flujograma para la determinación de oxígeno disuelto por el Método Winkler.





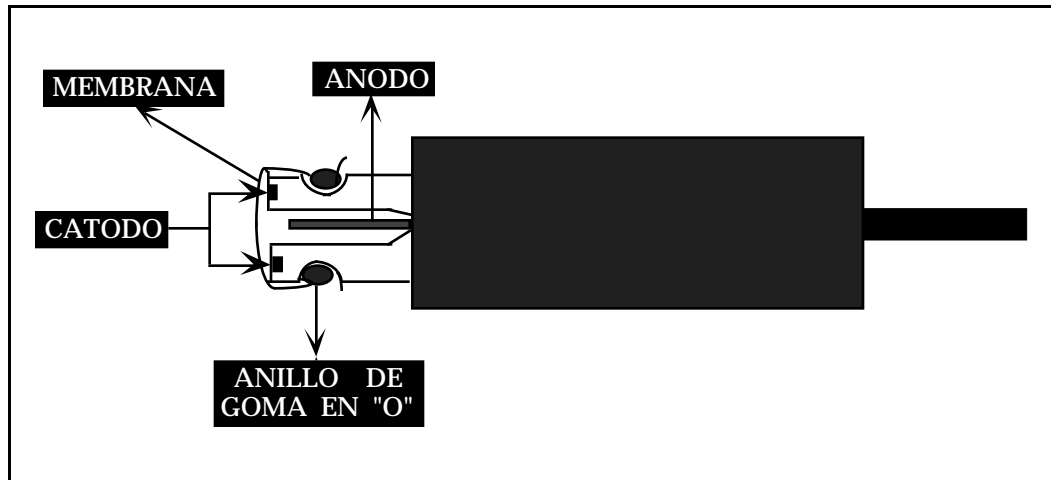
Determinación de oxígeno disuelto utilizando un Metro de Oxígeno Polarográfico:

El metro polarográfico emplea un cátodo de platino u oro y un ánodo de plata sensitivo a electrones. Una fuente de energía externa causa la reducción de oxígeno, creando un flujo de electrones entre los electrodos. El cátodo se mantiene a 0.8 voltios con respecto al ánodo. La reducción de oxígeno se produce de acuerdo a las siguientes reacciones:



El sensor que sumergimos en el agua contiene los dos electrodos (ánodo y cátodo) fijos en una matriz de epoxy cilíndrica y conectados entre sí por una solución de cloruro de potasio (KCl) (Figura 6). Los electrodos quedan separados del agua por medio de una membrana tipo Clark hecha de una lámina de teflón muy fina. El oxígeno presente en el agua se reduce (gana electrones) según se difunde a través de la membrana de teflón. La corriente resultante es proporcional a la presión parcial de oxígeno en la muestra. El instrumento viene calibrado para traducir las medidas de presiones parciales a medidas de concentración en mg/L. Hoy día los metros de oxígeno polarográficos proveen la opción de un termistor integrado a la sonda para compensar las medidas de oxígeno por diferencias en la temperatura del agua. También se provee la opción de corregir manualmente las medidas de oxígeno por diferencias en salinidad.

Figura 6: Sensor polarográfico para oxígeno disuelto.



La deteminación de oxígeno disuelto por métodos elecrométricos brinda varias ventajas: rapidez del análisis, el instrumento es portátil, se puede realizar un monitoreo continuo con la ayuda de equipo de grabación de señales y el método enfrenta menos interferencias que los métodos químicos. Por otro lado, el uso de metros polarográficos también presenta desventajas: se requiere de calibraciones frecuentes del instrumento (basadas en el método Winkler) y la presencia de otros gases disueltos en el agua (CO_2 y H_2S) puede generar interferencias.

PROCEDIMIENTO A SEGUIR

OXIGENO DISUELTO: **Método Winkler**
 (según se describe en esta unidad)

Metro de Oxígeno
 (vea instrucciones de operación)

**PREGUNTAS...**

1. Discuta cómo la temperatura, la altitud, la salinidad y la actividad biológica afectan la concentración de oxígeno disuelto en cuerpos de agua naturales.
2. Realizamos una determinación de oxígeno disuelto por el método Winkler y observamos que luego de la acidificación no se produce un color amarillo oro en la muestra. Le añadimos almidón a la muestra acidificada y tampoco se desarrolla el color azul, quedando la muestra incolora o blancuzca. ¿Cómo explicaría usted este resultado?

TERCERA PARTE

NUTRIENTES Y GASES: SILICA

EL SILICIO ES EL SEGUNDO elemento de mayor abundancia en la litosfera. Es un nutriente esencial para las diatomeas quienes lo utilizan para formar sus frústulas. Este mineral es también esencial para el crecimiento de otras algas tales como *Dinobryon*, *Uroglena* y *Mallomonas*. Estas algas utilizan el silicio para la construcción de estructuras extracelulares conocidas como placas y escamas.

La fuente primaria del silicio en cuerpos acuáticos proviene de la meteorización o desgaste de feldspatos. Estos últimos constituyen el grupo más importante de minerales petrográficos. Están formados por aluminosilicatos de potasio, sodio, calcio y en raras ocasiones de bario. Su fórmula general es: $W(ZO_2)_4$, donde $W = Na^+, K^+, Ca^{2+}$ ó Ba^{2+} ; $Z = Si^{4+}, Al^{3+}$ (la relación Si : Al varía de 3:1 a 1:1).

Abundancia:

La concentración del silicio en aguas interiores varía entre 0.1 y 4,000 mg/L. En ríos y lagos particularmente, la concentración del silicio, medida como sílice (SiO_2), oscila entre 0.2 y 60 mg/L. Estos valores podrían aumentar con el aporte de sílice y silicatos (SiO_4^{4-} y SiO_3^{2-}) provenientes de descargas industriales y domésticas. Ambos derivados del silicio se añaden al agua con varios propósitos. Estos forman parte de inhibidores de corrosión y de detergentes. Por otro lado, el silicio es un nutriente escaso en el ambiente marino, promediando valores alrededor de 5 mg/L. El alto consumo del silicio por radiolarios, silicoflagelados, esponjas silíceas y diatomeas parece explicar su baja

concentración en agua de mar. En ambientes salobres y en los salitrales se registran concentraciones de sílice mayores a 1000 mg/L. La solubilidad de la sílice aumenta con la temperatura, razón por la cual se registran concentraciones más altas de este nutriente en manantiales termales y en los géiser.

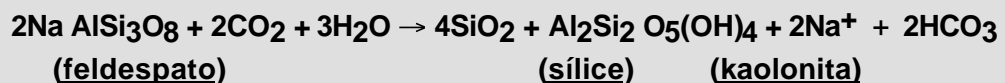
Rol como nutriente limitante:

Estudios sobre el rol del silicio como nutriente esencial para el crecimiento de diatomeas revelan una relación inversa entre la densidad de diatomeas y la concentración del sílice soluble. También se ha demostrado que algunos sobrecrecimientos ("blooms") de diatomeas agotan las concentraciones de sílice, hasta que esta última alcanza niveles de deficiencia. Cuando el sobrecrecimiento de diatomeas colapsa, se observa a continuación un aumento en la concentración del sílice soluble. No obstante, no todo el sílice incorporado en las frústulas de las diatomeas se reintegra a la fase soluble, ya que una porción significativa de las frústulas se deposita en los sedimentos. Dicha fracción del silicio queda inmovilizada por periodos de tiempo que cubren milenios. Finalmente, el silicio debe considerarse un nutriente limitante para el crecimiento de diatomeas dado que: (1) el contenido de sílice en diatomeas representa de un 25 a un 60% del peso seco de estas algas, (2) no hay mecanismo de almacenaje para este nutriente en ningún organismo vivo y (3) su reciclaje en la naturaleza es mínimo. Estudios realizados con cultivos de laboratorio indican que las diatomeas no pueden reproducirse si la concentración de sílice es menor de 0.5 mg/L (Brock, 1966).

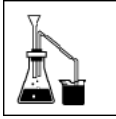
Movilización del silicio en la naturaleza:

El ciclo biogeoquímico del silicio es relativamente sencillo, cuando se le compara con los ciclos de nitrógeno, fósforo o hierro. Básicamente se conocen sólo dos fuentes primarias de silicio en los ambientes acuáticos: (1) el aporte de sílice y silicatos proveniente de los sedimentos y (2) el aporte alocótono (exógeno) de sílice y silicatos. El aporte de los sedimentos se deriva de la meteorización de depósitos minerales (feldespatos), de la liberación de sílice y silicatos de sedimentos anóxicos en cuerpos de agua eutróficos (material absorbido a arcillas) y finalmente, algunas especies de diatomeas liberan hasta un 15% de la sílice incorporada en sus frústulas (Cole, 1983). El reciclaje del silicio por parte de la ictiofauna se considera insignificante.

Las rocas que contienen silicio componen cerca de 70% de la corteza terrestre, siendo así la principal fuente de silicio para los cuerpos de agua superficiales y las aguas subterráneas. La lluvia, los manantiales y los lixiviados de suelos contienen una alta concentración de CO₂. Este último, mineraliza las rocas silíceas liberando sílice (SiO₂) de acuerdo con la siguiente reacción :



Por otro lado, Hutchinson (1957) reportó la disolución de minerales en arcillas por diatomeas absorbidas a dicho sustrato. Las diatomeas liberan la sílica y la utilizan para la síntesis de sus frústulas por un mecanismo aún desconocido. La alúmina queda como un producto secundario insoluble que se precipita.



METODOLOGIA

La determinación de las formas solubles de silicio se basa en la reacción del ácido ortosilícico (H_4SiO_4) con el molibdato para generar la molécula del ácido silicomolibdénico. Cuando este producto es reducido se genera un compuesto de color azul intenso. Finalmente, medimos la absorbancia a 650 nm para determinar la concentración de silicio.

PROCEDIMIENTO A SEGUIR

SILICA:

Manual análisis químico Hach



PREGUNTAS...

1. La concentración de sílice en aguas oceánicas tiende a aumentar debajo de la zona eufótica. Provea una explicación para este hecho.