

Huerta del Rey:
Caracterización Edáfica de
una Zona Histórica de la
Minería del Mercurio y
Estudio de la Transferencia
del Mercurio a *Plantago*
Major

C. Suárez
L. Manero
M. J. Sierra
J. Rodríguez-Alonso
R. Millán



Huerta del Rey:
Caracterización Edáfica de
una Zona Histórica de la
Minería del Mercurio y
Estudio de la Transferencia
del Mercurio a *Plantago*
Major

C. Suárez
L. Manero
M. J. Sierra
J. Rodríguez-Alonso
R. Millán

Toda correspondencia en relación con este trabajo debe dirigirse al Servicio de Información y Documentación, Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas, Ciudad Universitaria, 28040-MADRID, ESPAÑA.

Las solicitudes de ejemplares deben dirigirse a este mismo Servicio.

Los descriptores se han seleccionado del Thesaurus del DOE para describir las materias que contiene este informe con vistas a su recuperación. La catalogación se ha hecho utilizando el documento DOE/TIC-4602 (Rev. 1) Descriptive Cataloguing On-Line, y la clasificación de acuerdo con el documento DOE/TIC.4584-R7 Subject Categories and Scope publicados por el Office of Scientific and Technical Information del Departamento de Energía de los Estados Unidos.

Se autoriza la reproducción de los resúmenes analíticos que aparecen en esta publicación.

Catálogo general de publicaciones oficiales
<http://www.060.es>

Depósito Legal: M -26385-2011
ISSN: 1135 - 9420
NIPO: 721-13-010-1

Editorial CIEMAT

CLASIFICACIÓN DOE Y DESCRIPTORES

S63

MERCURY; SITE CHARACTERIZATION; MINING; SOILS;SAMPLING;
BIOLOGICAL EFFECTS; TOXICITY

Huerta del Rey: Caracterización Edáfica de una Zona Histórica de la Minería del Mercurio y Estudio de la Transferencia del Mercurio a *Plantago Major*

Suárez, C.; Manero, L.; Sierra, M.J.; Rodríguez-Alonso, J.; Millán, R.
67 pp. 20 figs. 96 refs.

Resumen:

El principal objetivo de este informe científico-técnico es realizar una caracterización de la parcela de estudio llamada “Huerta del Rey” situada en el distrito minero de mercurio de Almadén. Para ello en el presente trabajo se ha realizado una pequeña caracterización edáfica y se ha estudiado el comportamiento del mercurio (Hg) en el suelo. De esta manera, se han evaluado las concentraciones totales y fácilmente disponibles del Hg y se ha estudiado la absorción y distribución del Hg en *Plantago major* L., especie presente en el área de estudio.

Los resultados obtenidos mostraron que la concentración de Hg total en el suelo es típica de una zona minera de Hg, estando los valores comprendidos entre $530 \pm 32 \text{ mg kg}^{-1}$ y $4300 \pm 339 \text{ mg kg}^{-1}$ llegando incluso a $12378 \pm 1051 \text{ mg kg}^{-1}$. El porcentaje de Hg soluble en el suelo es bajo, menor del 0.3 % con respecto al Hg total. Por otro lado, si tenemos en cuenta la concentración y no el porcentaje, el Hg soluble presenta valores de hasta $1.33 \pm 0.14 \text{ mg kg}^{-1}$ lo que podría suponer un riesgo potencial de contaminación de aguas subterráneas por lixiviación.

Finalmente, se hace una breve referencia de las posibles técnicas, entre ellas la fitorremediación, que podrían aplicarse en la zona para su remediación si se quisiera disminuir el nivel de Hg en el suelo.

Huerta del Rey: Edafic Characterization of a Historic Area of the Mercury Mining and Study of the Transfer of Mercury from the Soil to *Plantago Major*

Suárez, C.; Manero, L.; Sierra, M.J.; Rodríguez-Alonso, J.; Millán, R.
67 pp. 20 figs. 96 refs.

Abstract:

The main objective of this scientific-technical report is to carry out a characterization of study plot called “Huerta del Rey” in the mercury (Hg) mining district of Almadén. For this goal, an edaphic characterization has been performed and the Hg behavior in the soil study has been evaluated. Then, total Hg concentration and easily available Hg for plants have been determined and the absorption and distribution of Hg in *Plantago major* L (typical specie from the study area) have been studied.

The results showed that the total Hg concentrations in the soil ranged from $530 \pm 32 \text{ mg kg}^{-1}$ to $4300 \pm 339 \text{ mg kg}^{-1}$ even to $12378 \pm 1051 \text{ mg kg}^{-1}$. It is in accordance with the normal values measured in a Hg mining area. Otherwise, the percentage of soluble Hg in soil with respect to the total Hg concentration is low ($< 0.3 \%$) although if concentration instead of percentage is taking into account, the soluble Hg reached values up to $1.33 \pm 0.14 \text{ mg kg}^{-1}$ that could mean a potential risk of pollution of groundwater by leaching process.

Finally a brief description about different technologies for decreasing Hg concentration in the study soil, including phytoremediation, has been performed.

AGRADECIMIENTOS

Quisiéramos mostrar nuestros más sinceros agradecimientos a la *Unidad de Conservación y Recuperación de Suelos* del Departamento de Medio Ambiente del CIEMAT, por brindarnos esta enriquecedora oportunidad de integrarnos como dos más durante estos tres últimos meses.

Agradecer a nuestras tutoras del CIEMAT Rocío Millán, Nely Carreras y María José Sierra, así como a Mercedes Oliet, ya que si no fuera por ellas no podríamos haber iniciado esta andadura en la investigación que ha resultado ser una enriquecedora experiencia laboral.

Gracias muy especialmente a M^a José Sierra y Javier Rodríguez por guiarnos, enseñarnos y estar siempre en disposición de resolver cualquier duda que se planteara, facilitando todo lo que necesitáramos.

También queremos hacer una especial mención a nuestras compañeras Elena y Laura Bueno, con las que hemos compartido, además de una experiencia laboral, una filosofía de trabajo y compañerismo con alguna afortunada risa.

A nuestras familias, a Antonio y a David simplemente gracias por todo, ya que no podríamos enumerar el sin fin de razones por las que les debemos un “gracias”.

Por último, no queremos olvidarnos del resto de integrantes del departamento: Miguel Ángel, Carmen Luchi, Juan, Laura, Raúl, Javi, Julio; a todos gracias por su apoyo y ánimo.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. Introducción.....	1
1.1. El Mercurio	1
1.1.1. Propiedades fisicoquímicas del mercurio.....	2
1.1.2. Principales fuentes y su distribución	5
1.1.3. Ciclo biogeoquímico del mercurio	7
1.1.4. Factores que influyen en la movilidad y biodisponibilidad del mercurio en el suelo.....	9
1.1.5. Toxicología del mercurio y sus derivados	14
1.1.6. Legislación aplicable	15
1.2. Área de estudio.....	17
1.2.1. Situación geográfica	17
1.2.2. Climatología.....	18
1.2.3. Geología	18
1.2.4. Recursos hídricos	20
1.2.5. Características florísticas	20
1.2.6. Descripción de la planta de estudio: <i>Plantago major</i>	20
2. Objetivos	22
3. Procedimiento experimental. Materiales y Métodos	23
3.1. Recogida de muestras	23
3.2. Preparación y acondicionamiento de muestras.....	25
3.2.1. Muestras de planta	25
3.2.2. Muestras de suelo	26
3.3. Caracterización físico-química de las muestras de suelo	26
3.4. Medida de la concentración de mercurio en muestras	27
3.4.1. Funcionamiento del AMA 254.....	27
3.4.2. Medida de mercurio total en las muestras	30
3.4.3. Medida de mercurio disponible en las muestras. Extracción secuencial.....	30
3.4.4. Validación de los resultados obtenido por AMA 254	31
3.5. Procedimiento estudio estadístico con software SPSS	32
4. Resultados y discusión de los resultados	33
4.1. Parámetros físico-químicos del suelo	33
4.2. Mercurio en suelo.....	35
4.2.1. Mercurio total en el suelo	35
4.2.2. Mercurio soluble en el suelo	38
4.2.3. Mercurio intercambiable en el suelo.....	40
4.2.4. Mercurio disponible en el suelo.....	41

4.3. Presencia y distribución del mercurio en <i>Plantago major</i>	43
4.3.1. Distribución del mercurio en los distintos tejidos de <i>Plantago major</i>	43
4.3.1.1. Mercurio en parte aérea.....	43
4.3.1.2. Mercurio en raíz: Traslocación del mercurio dentro de la planta	45
4.3.2. Transferencia suelo-planta del mercurio	48
5. Técnicas de remediación	49
5.1. Fitorremediación.....	49
5.2. Enmienda para reducir la fitotoxicidad.....	52
5.3. Bioventing	52
5.4. Precipitación del mercurio	53
5.5. Electrodescontaminación	53
5.6. Solarización	54
5.7. Desorción térmica	55
5.8. Lavado de suelos	55
6. Conclusiones	57
7. Bibliografía	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo biogeoquímico del mercurio.....	7
Figura 2: Especiación del Hg (II) en función del pH y concentración de Cl ⁻	9
Figura 3: Retención de mercurio en suelos y componentes del suelo en función del pH.....	10
Figura 4: Campos de estabilidad de especies de Hg sólidos (c) y líquidos (l) a 25 ° C y 1atm.....	12
Figura 5: (A) Localización de Ciudad Real. (B) Localización de Almadén (Ciudad Real).....	17
Figura 6: Localización de Huerta del Rey (Almadén). Fuente: Instituto geográfico nacional.....	18
Figura 7: Llantén (<i>Plantago Major</i>).....	21
Figura 8: Distribución de los distintos puntos de muestreo sobre una ortofotografía de la finca Huerta del Rey.....	24
Figura 9: Analizador Avanzado de Mercurio (AMA 254).....	28
Figura 10: Esquema del AMA 254.....	29
Figura 11: Microondas.....	30
Figura 12: Montaje experimental de filtración.....	31
Figura 13: Concentración total de mercurio en suelo.....	36
Figura 14: Concentración de Hg soluble e intercambiable en rizosfera.....	42
Figura 15: Concentración de Hg soluble e intercambiable en bulk.....	42
Figura 16: Concentración de mercurio total en las distintas fracciones de <i>Plantago major</i> L.....	45
Figura 17: Ratio Hg en parte aérea / Hg en raíz en cada punto de muestreo.....	46
Figura 18: Concentración total de mercurio en parte aérea de <i>Plantago major</i> L.....	46
Figura 19: Representación de importancia relativa del BAF en cada tejido.....	48
Figura 20: Esquema de las distintas partes de la planta implicadas en fitorremediación.....	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Propiedades físico-químicas del mercurio elemental.....	3
Tabla 2: Patrones empleados en el experimento: concentraciones esperadas y obtenidas.....	32
Tabla 3: Resultado de la medida de parámetros físico-químicos en los suelos bulk muestreados.....	33
Tabla 4: Medias de concentración de Hg total en fracción bulk y rizosfera.....	37
Tabla 5: Medias de concentración de Hg soluble en fracción bulk y rizosfera.....	38
Tabla 6: Medias de concentración de Hg intercambiable en fracción bulk y rizosfera.....	40
Tabla 7: Medias de concentración de Hg disponible en fracción bulk y rizosfera.....	41
Tabla 8: Biomasa aérea, parcial y total, de los individuos de llantén recolectados.....	43

1. INTRODUCCIÓN

El suelo es un sistema abierto y dinámico que cambia con el tiempo y el espacio. En condiciones normales, todos los suelos poseen metales pesados, pero su estado, cantidad y variedad dependen de los procesos geológicos y edafogenéticos que históricamente se han desarrollado en la zona.

Sin embargo, con motivo de las acciones antropogénicas, y en concreto, a través de las explotaciones mineras del subsuelo, las cantidades de metales pesados pueden aumentar en las zonas de explotación y en sus alrededores dando lugar a grandes acumulaciones de elementos traza que ponen en riesgo la vida humana, animal y vegetal, a través de la contaminación del agua, suelo y aire que implica su presencia.

Por este motivo, en el presente estudio nos adentramos en la caracterización edáfica de una finca rústica en la que el aprovechamiento minero del mercurio en épocas pasadas, ha alterado sus características edáficas y sus posibles usos.

1.1. EL MERCURIO

Los romanos llamaron al mercurio "argenteum vivum", que significa "plata líquida", debido a que era el único elemento conocido que era líquido a temperatura ambiente. Dioscórides denominaba este elemento "agua de plata", lo que justifica el nombre latino del mercurio: hydrargyrum (Goldwater, 1971).

El mercurio es conocido desde la antigüedad y ha sido utilizado por casi todas las culturas debido a la gran variedad de aplicaciones que posee. Se encontró mercurio en túmulos egipcios del 1500 a.C., además los chinos ya usaban el cinabrio (sulfuro de mercurio) en la fabricación de tintas y pinturas. En la región del Mediterráneo, el mercurio era usado para la extracción de metales como oro, plata y estaño a través de la amalgamación. También fue usado terapéuticamente para prevenir enfermedades como reumatismo, disentería, cólicos y enfermedades de la piel entre las que destaca la sífilis, pero estos usos producen síntomas y afecciones neurológicas cuyas primeras descripciones datan del siglo XVIII. Sin embargo, los efectos tóxicos del mercurio son relatados desde mucho antes (Goldwater, 1971).

El mercurio es uno de los metales pesados más tóxicos que se conocen, considerado un contaminante a escala global. Este elemento ha dejado huella en la historia de la

humanidad, con casos muy conocidos como el de Minamata, el envenenamiento por mercurio orgánico en Iraq, o la exposición a metil-mercurio en el Amazonas (Gochfeld, 2003).

1.1.1. PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

El mercurio, con símbolo Hg, es un elemento químico que pertenece, según la clasificación de la tabla periódica, al grupo IIB de la familia de los metales de transición y se considera un metal pesado.

El mercurio es líquido a temperatura ambiente, brillante y de color blanco plateado (Adriano, 2001). Tiene un punto de fusión de $-38,4^{\circ}\text{C}$ y bulle a 357°C a presión atmosférica. De las propiedades físico-químicas del mercurio recogidas en la **Tabla 1**, destaca que la tensión superficial del mercurio líquido es seis veces mayor que la del agua, por lo que los compuestos de mercurio suelen permanecer en la fase acuosa como moléculas no disociadas.

La alta presión de vapor para ser un metal ($0,0012\text{ mmHg}$) permite generar altas concentraciones de vapores a las temperaturas en ambientes normales: una atmósfera saturada de mercurio a 20°C contiene 15 mg m^{-3} de mercurio, un valor 15000 veces mayor que 0.001 mg m^{-3} , valor medio anual establecido por la Organización Mundial de la salud para mercurio inorgánico vapor (WHO, 2007)

Además, a medida que aumenta la temperatura del ambiente, aumenta la concentración de vapores emitidos, llegando a aumentar en un 200% cuando se pasa de 0 a 20°C . Su inusual elevada volatilidad, que se incrementa al aumentar la temperatura, hace que esté presente en la atmósfera en cantidades apreciables.

El mercurio se encuentra de manera natural en el medio ambiente en una gran variedad de formas. Es un elemento constitutivo de la Tierra que por su volatilidad se separó del magma como HgS en la cristalización residual.

Hay muchos minerales de mercurio, los más comunes son el cinabrio y el metacinabrio (Adriano, 2001). Por tanto, a lo largo de la historia, los yacimientos de cinabrio han sido la fuente mineral para la extracción comercial de mercurio metálico.

Tabla 1. Propiedades físico-químicas del mercurio elemental

Número atómico	80
Peso atómico	200,59
Temperatura crítica	1.462 °C
Densidad (25°C)	13,534 g cm ⁻³
Calor de vaporización (25°C)	14,652 kcal mol ⁻¹
Tensión superficial (25°C)	484 dinas cm ⁻¹
Presión de vapor (20°C)	1,22·10 ⁻³ mm Hg
Viscosidad (20°C)	1,55 m Pa s (15,5 mili poise)
Resistividad (20°C)	95,76 μohm cm
Solubilidad en agua (25°C)	6·10 ⁻⁵ g l ⁻¹

La forma metálica se refina a partir del calentamiento del mineral de sulfuro de mercurio a temperaturas superiores a los 540° C. De forma que se vaporiza el mercurio contenido en el mineral siendo captado y enfriado para recuperarlo en forma líquida.

El mercurio tiene siete isótopos estables y tres estados de oxidación: 0 (elemental), I (mercurioso) y II (mercúrico) esto es importante porque el comportamiento del mercurio depende de su estado de oxidación.

En el estado de oxidación 0 o elemental (Hg⁰), donde se encuentra en su forma líquida plateada, es volátil y se puede liberar en forma de gas monoatómico conocido como vapor de mercurio.

El primer estado de oxidación (Hg₂²⁺), conocido como catión mercurioso, se encuentra comúnmente en la forma de calomelano o cloruro mercurioso, donde los dos átomos de mercurio están unidos originando la fórmula química Hg₂Cl₂. Es raramente estable bajo condiciones ambientales convencionales.

El segundo estado de oxidación (Hg²⁺) es una de las formas inorgánicas más estables del mercurio. El mercurio en este estado tiene un papel clave en la toxicología ya que una vez que se absorbe, por su característica de ácido blando, forma complejos con ligandos biológicos, preferentemente con átomos dadores de azufre, siendo el aminoácido preferido, la cisterna, con el cual forma un complejo estable, para su metabolización (Doadrio Villarejo, 2004).

La mayor parte del mercurio en el agua, los suelos, los sedimentos o la biota se encuentra en los estados mercurioso y mercúrico formando sales inorgánicas y complejos orgánicos. Las especies de mercurio, más comúnmente encontradas son el cinabrio (HgS),

combinado con cloro, en forma de óxidos e hidróxidos, nitratos, sulfatos o en formas orgánicas como el cloruro de metilmercurio, dimetilmercurio o fenilmercurio.

Al igual que en su forma elemental, algunas formas de mercurio tales como los derivados de metil y metilmercurio tienen una elevada presión de vapor a temperatura ambiente: así la del cloruro de metilmercurio es 0,0085 mmHg y la del dimetilmercurio varias veces mayor.

La solubilidad en agua difiere mucho de unos compuestos a otros y aumenta en el siguiente orden: mercurio elemental, cloruro de metilmercurio y cloruro mercúrico. Estas diferencias de solubilidad en agua unidas a la reactividad química de los gases inorgánicos de mercurio divalente hacen que su deposición sea mucho más rápida que la del mercurio elemental. Esto significa que el tiempo de vida en la atmósfera de los gases de mercurio divalentes es mucho más corto que la del gas de mercurio elemental. Este hecho se refleja en los valores de las constantes de distribución entre aire y agua de los distintos compuestos de mercurio, siendo el mayor el correspondiente a Hg^0 (0,29), unos cuatro órdenes de magnitud superior al resto de los compuestos, por lo que es mucho más probable encontrarlo en la atmósfera que al resto. La volatilidad es una de las principales características de interés toxicológico del mercurio.

Cabe destacar la formación de derivados de mercurio que son los compuestos organometálicos que se caracterizan por la unión del mercurio con uno o dos átomos de carbono mediante un enlace covalente, para formar moléculas del tipo RHg-X y R-Hg-R' , donde R y R' representan los grupos orgánicos. Su gran importancia toxicológica está relacionada con la solubilidad ya que son muy poco solubles en agua pero muy solubles en los lípidos, lo que facilita su absorción y distribución por los tejidos del organismo.

Además, el mercurio es capaz de reaccionar con HNO_3 y H_2SO_4 caliente, sin embargo, no lo hace con HCl, ni con H_2SO_4 frío o álcalis. Reacciona con disoluciones de amoníaco en presencia de aire para generar Hg_2NOH y se combina con azufre a temperatura ambiente. Además, reacciona explosivamente con tetracarbonil-níquel (con agitación); ácido peroxifórmico; dióxido de cloro (con agitación); 3-bromo-propino; metil-silano y oxígeno (con agitación) y disoluciones concentradas de perclorato de plata con 2-pentino o 3-hexino. Algunos metales como el cobre, el hierro o el zinc, precipitan el metal de disoluciones neutras o ligeramente ácidas de sales de mercurio.

Por último otra característica del mercurio importante a destacar, que ha sido esencial en la historia de la humanidad, es su capacidad para formar amalgamas con algunos metales como son el oro, plata, platino, uranio, cobre, plomo, sodio y potasio.

1.1.2. PRINCIPALES FUENTES Y SU DISTRIBUCIÓN

El mercurio se encuentra naturalmente en bajas concentraciones en prácticamente todos los ambientes geológicos. Se estiman concentraciones medias de $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ en la corteza terrestre y, aunque su distribución es muy irregular, se acumula en grandes bolsas, donde la concentración de mercurio es muy elevada.

La manipulación del mercurio por el hombre en los más diferentes procesos y sectores industriales ha generado una importante contaminación del medio ambiente, habiendo hecho que se haya roto el ciclo biogeoquímico natural y en alguno casos introduciéndose en la cadena trófica (Bautista, 1999).

Las fuentes de mercurio pueden ser naturales o antropogénicas. Las reservas de mercurio se estiman en 30.000 millones de toneladas. El mercurio emitido, tanto de origen natural como antropogénico, está en forma inorgánica, predominantemente en forma de vapor de mercurio metálico (Hg^0).

Fuentes naturales

Se consideran fuentes naturales de emisión de mercurio aquellas que originan la movilización del mercurio de la corteza terrestre de forma natural distribuyéndolo en el medio aéreo, terrestre y acuático, suponiendo menos de un 50% de la liberación total. Puede darse por la actividad volcánica, erosión de las rocas, incendios forestales o evaporación de los océanos. La fuente natural de contaminación más importante es la sublimación del propio Hg metal que crea una vía de entrada a las cadenas tróficas por inhalación.

La contribución global de las fuentes geológicas a la atmósfera se ha estimado en 34865 t/año de las que la mayor parte (21 000 t) procede de la evaporación de los océanos. Esta fuente no supone ningún peligro para la supervivencia exceptuando casos puntuales como el de alguna erupción volcánica (1290 t/año) (Gaona Martínez, 2004).

Fuentes antropogénicas

Son consideradas liberaciones antropogénicas de mercurio aquellas asociadas con la actividad humana. El mercurio aportado al ciclo atmosférico por las actividades del hombre es mucho mayor en los países industrializados que en los no industrializados, lo que conlleva un elevado riesgo de toxicidad donde se desarrollan estas actividades.

Las tres principales fuentes de emisión antropogénica de mercurio son: la minería, la agricultura y la industria química, que juntos emiten unas 20 000 t/año, y son las responsables del aumento de las concentraciones de mercurio atmosférico en el último siglo (Gaona Martínez, 2004).

La minería se considera la principal fuente antropogénica de mercurio con un 50% del total. El mercurio se extrae en forma de cinabrio mayoritariamente, habiendo minas por casi todo el mundo. Las minas de mayor producción de mercurio considerando su actividad extractora han sido las de Almadén (España), Idrija (Eslovenia) y Monte Amaiata (Italia), las tres ya cesadas. Sin embargo, las existentes en China, Kirguistán y Argelia aun continúan con la explotación. También se considera importante la emisión de mercurio a partir de la minería del oro (y plata) en pequeña escala, actividad que usa el mercurio para la formación de amalgamas entre ambos metales con objetivo de separar el metal precioso. Las emisiones de vapor de mercurio por este proceso, aunque pequeñas, son localmente importantes en los sitios de minería a cielo abierto.

En las plantas metalúrgicas los concentrados de sulfuros contienen una media de 100-300 ppm de mercurio lo que anualmente supone unas 2000 t. El mercurio, presente en los concentrados como HgS, se volatiliza como mercurio vapor.

La industria química es la segunda fuente de emisión de mercurio más importante, debido a su gran variedad de usos en los más diferentes sectores. Dentro de ella, con diferencia, la industria de cloro-álcali son las que más emiten ya que son responsables de casi el 55% del aporte total de mercurio

Las emisiones de mercurio en la agricultura son pequeñas cuando se comparan con el total. Son importantes debido a la utilización en agricultura de fungicidas, herbicidas y conservantes de semillas que contienen mercurio en formas orgánicas que son las más tóxicas.

El resto de las fuentes de mercurio deriva fundamentalmente del uso de los combustibles fósiles.

1.1.3. CICLO BIOGEOQUÍMICO DEL MERCURIO

El mercurio, en general, es muy inestable en el medio ambiente ya que está sujeto a múltiples reacciones químicas, biológicas y fotoquímicas (Adriano, 2001). Los dos tipos de reacciones principales que transforman el mercurio en el suelo son las de óxido-reducción y las de metilación-desmetilación.

El ciclo del mercurio en la naturaleza está marcado por dos procesos diferenciados influenciados por las características propias de este elemento de elevada presión de vapor y alta afinidad por la materia orgánica. Ambos procesos están representados en la **Figura 1**.

Por un lado se diferencia el ciclo global, que está dominado por las emisiones antropogénicas y naturales de gases de mercurio (Hg^0) a la atmósfera y su transporte a largas distancias a través de ella. Por otro lado, el ciclo de carácter local, tiene como principal fuente la actividad antropogénica y depende del proceso de metilación del mercurio inorgánico. Por tanto, la cantidad y forma de mercurio dependerá de las fuentes de emisión y de los procesos de transporte en la biosfera.

En el *ciclo global*, el mercurio es emitido a la atmósfera desde fuentes naturales en forma de vapor elemental por procesos de volatilización de los océanos o a través de fuentes antropogénicas como la minería del mercurio o la combustión de combustibles fósiles (Krishnan *et al.*, 1994).

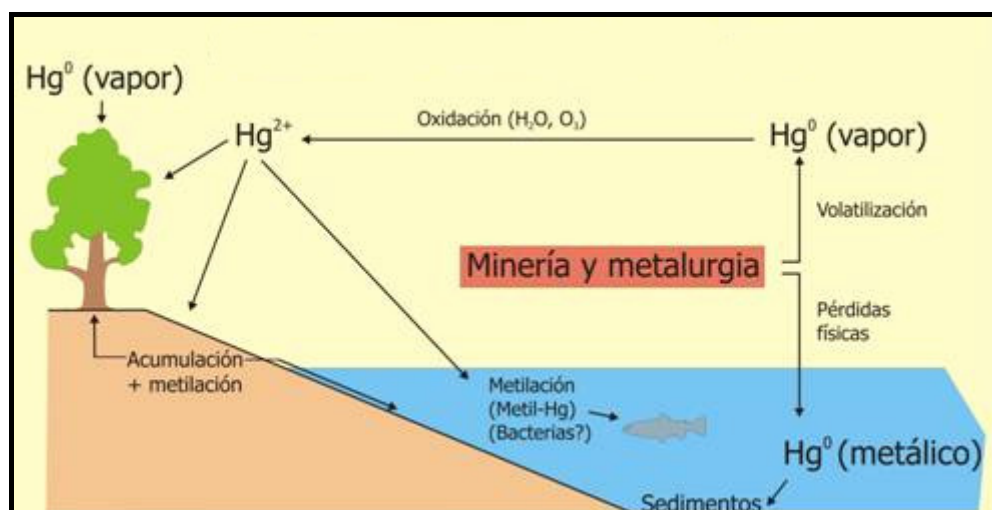


Figura 1: Ciclo biogeoquímico del mercurio

Fuente: (http://www.ucm.es/info/crismine/HTML_Almaden/Almaden_contaminacion.htm)

El mercurio metálico en la atmósfera es arrastrado por el viento y puede transformarse por procesos de foto-oxidación compleja a una forma hidrosoluble, Hg^{2+} , que retorna a la tierra y los océanos por precipitación con la lluvia.

El tiempo de residencia del vapor de mercurio en la atmósfera es de hasta 3 años mientras que el de las formas solubles es solamente de unas pocas semanas.

El mercurio Hg^{2+} puede ser reducido otra vez a Hg^0 y volver a la atmósfera o incorporarse a los sedimentos oceánicos, donde puede unirse a iones sulfuro formando el cinabrio. Además, existe una deposición seca de partículas y mercurio gaseoso sobre suelos y vegetación.

En contraposición, el *ciclo local* del mercurio se basa en la hipotética circulación de los compuestos de dimetilmercurio. En este caso, el mercurio emitido a partir de la actividad antropogénica se puede transformar a Hg^{2+} en los ecosistemas acuáticos y en presencia de oxígeno. Este compuesto, en una primera reacción llevada a cabo por bacterias del género *Pseudomonas*, puede reducirse para dar mercurio metálico en un ambiente anaeróbico.

La segunda reacción ocurre en aguas continentales o litorales, transformándose el Hg^{2+} en las formas metiladas del mercurio (orgánico) y desarrollándose este proceso tanto por vía aerobia como anaerobia.

La metilación anaerobia se lleva a cabo a partir de derivados de la metilcobalamina, presentes en ambiente acuático y terrestre, que son producidos por bacterias metanogénicas. Por esta vía la formación de metilmercurio es escasa ya que en medio reductor también se forma sulfuro de mercurio que no queda disponible para la metilación al ser insoluble en medios anaerobios. Sin embargo, en medios aerobios, este sulfuro de mercurio se combina con el oxígeno y forma sulfatos y sulfitos, dejando al mercurio en forma soluble (Figuerola, 1990).

Por vía aerobia, el mercurio que está unido a la homocisteína se metila por los procesos celulares que normalmente dan lugar a la formación de metionina.

Si la metilación del mercurio inorgánico ocurre en ambiente terrestre, el MeHg forma complejos con las partículas orgánicas presentes en el suelo, lo que favorece su absorción por plantas y animales invertebrados.

En las partículas de sedimento que se encuentran suspendidas en el agua, la metilación por vía anaeróbica, forma dimetilmercurio que pasa a la atmósfera, al ser muy volátil e insoluble en agua. Después, esta forma orgánica podrá ser recogida por las lluvias y

transformada, si éstas son ácidas, en metilmercurio, el cual retornará al medio acuático completando el ciclo y podrá integrarse en la cadena trófica.

1.1.4. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA MOVILIDAD Y BIODISPONIBILIDAD DEL MERCURIO EN EL SUELO

La dinámica y disponibilidad del mercurio están muy influenciadas por el estado físico-químico de los suelos como el pH y el potencial redox, y por los constituyentes orgánicos e inorgánicos del suelo que son los que en gran medida condicionan los mecanismos de retención de metales por adsorción, complejación y precipitación fundamentalmente.

Además, las plantas y los microorganismos (bacterias y hongos) del suelo también pueden interactuar con los metales mediante diversos mecanismos.

A continuación se describen los factores que afectan a la movilidad y biodisponibilidad del mercurio.

- **pH**

El pH es una propiedad química esencial de los suelos que determina el comportamiento de sus componentes del suelo.

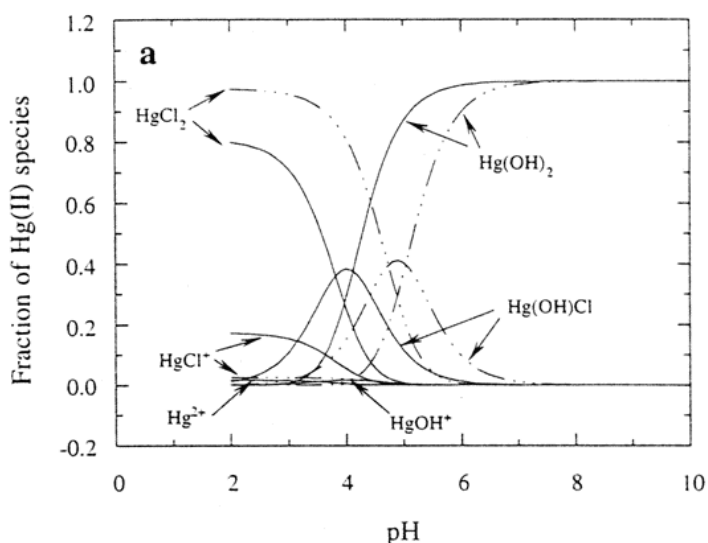


Figura 2: Especiación del Hg (II) en función del pH y concentración de Cl^- (Yin Y. *et al.*, 1996)

El pH afecta a la especiación y estabilidad del mercurio. Por un lado el Hg (II) es estable en solución acuosa a pH neutro. El Hg(II) se encuentra frecuentemente en forma gaseosa, en soluciones acuosas y forma complejos sencillos con Cl^- a pH 7 produciendo HgCl^+ soluble, y HgCl_2 incluso a bajas concentraciones de Cl^- . El Hg^{2+} a pH neutro y básico, forma

complejos fuertes con OH^- , Cl^- y compuestos orgánicos, pero está presente únicamente en cantidades traza en la mayor parte del medio ambiente (Davis *et al.*, 1997), (**Figura 2**).

Se ha demostrado que cuando el pH aumenta el $\text{Hg}(\text{OH})_2$ aparece como especie dominante, el $\text{Hg}(\text{OH})\text{Cl}$ aparece como especie en transición y el HgCl disminuye (Adriano, 2001). Los valores de pH más elevados están relacionados con las mayores concentraciones de mercurio, ya que se ve favorecida la retención de éste en forma de cinabrio (HgS). En suelos con calizas o margas a los que se les añade HgCl_2 , se ve incrementada la reducción de las sales de mercurio a Hg^0 y, por tanto, aumentan las pérdidas de mercurio por volatilización

cuando el pH aumenta de 5,3 a 6,4 (Frear y Dills, 1967).

También la adsorción del mercurio por minerales de la arcilla está condicionada por el pH. Según Farrah y Pickering (1978), la adsorción de mercurio por la illita y la caolinita oscila con el pH. A $\text{pH} > 7,8$ se favorecen las cargas negativas en superficie y se absorben cationes (**Figura 3**).

Otro factor importante a tener en cuenta del mercurio es su complejación con el carbono orgánico disuelto, cuya concentración se incrementa cuando el pH también los hace (Kendorff y Schnitzer, 1990).

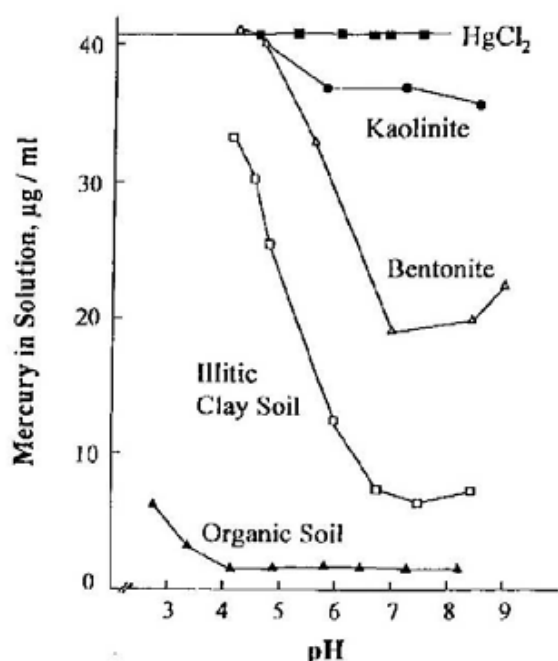


Figura 3. Retención de mercurio en suelos y componentes del suelo en función del pH.

Fuente: Adriano (2001)

La sorción de mercurio por los distintos minerales de arcilla y los materiales del suelo está determinada por el pH (**Figura 3**). En el intervalo de pH entre 3 y 5, el mercurio se fija en la materia húmica, mientras que fuera de este margen, aumenta la cantidad de Hg asociado a la materia mineral (Jonasson, 1970) ya que la materia orgánica está saturada con Ca^{2+} a un pH mayor de 5,5 (Andersson, 1979).

- **Potencial redox**

Las condiciones de óxido-reducción determinan el comportamiento de los elementos químicos que tienen varias valencias y rigen el funcionamiento biológico de las raíces y de los microorganismos.

Las condiciones de óxido-reducción de un suelo se pueden representar gráficamente mediante un **diagrama Eh-pH (Figura 4)**, en el que el Eh indica la capacidad de un medio para ceder electrones a un agente oxidante, o de captar electrones de un agente reductor.

El medio de óxido-reducción de los suelos se encuentra limitado por la estabilidad del agua líquida de tal forma que, cuando sube mucho el Eh, el agua se descompone desprendiendo O_2 ; y al contrario, cuando baja se forma H_2 . Por lo que el Eh también determina si el medio es aerobio o anaerobio.

Las reacciones de oxido-reducción controlan la mayoría de las transformaciones esenciales del suelo, como la descomposición de materia orgánica, las reacciones correspondientes al ciclo del nitrógeno o las del ciclo del azufre.

El Hg (II) forma complejos fuertes con el Cl^- en ambiente oxidante, intensificando la solubilidad, mientras que en ambientes reductores muestra una alta afinidad por los sulfuros formando HgS insoluble.

En condiciones naturales de potencial redox y pH, la solubilidad del mercurio está principalmente determinada por $Hg(OH)_2$, Hg^0 y HgS (Carrasco *et al.*, 2008).

Por encima de pH 5 y en condiciones moderadamente oxidantes, la especie de mercurio en solución que predomina es el Hg^0 , cuya solubilidad es relativamente baja (56 ng g^{-1}) y en condiciones ligeramente reductoras, el Hg^0 precipita como HgS, cuya solubilidad es menor ($0,002 \text{ ng g}^{-1}$). En condiciones de reducción muy fuertes, su solubilidad aumenta por conversión del ión mercúrico a metal libre o por existencia de HgS^{2-} estable a pH elevados (Wollast *et al.*, 1975).

El mercurio alcanza sus mayores solubilidades en ambientes muy bien oxigenados (350 a 400 mV), ya que el Hg(II) es un precursor de compuestos más solubles y de mayor biodisponibilidad como $HgCl_2$, $Hg(OH)_2$ y CH_3Hg^+ , tiene una fuerte tendencia a asociarse con hidróxidos e iones cloruro (Adriano, 2001).

En condiciones oxidantes, los hidróxidos de hierro y manganeso son excelentes captadores de mercurio, el cual es adsorbido en la superficie de los mismos (Cooker WB, 1995).

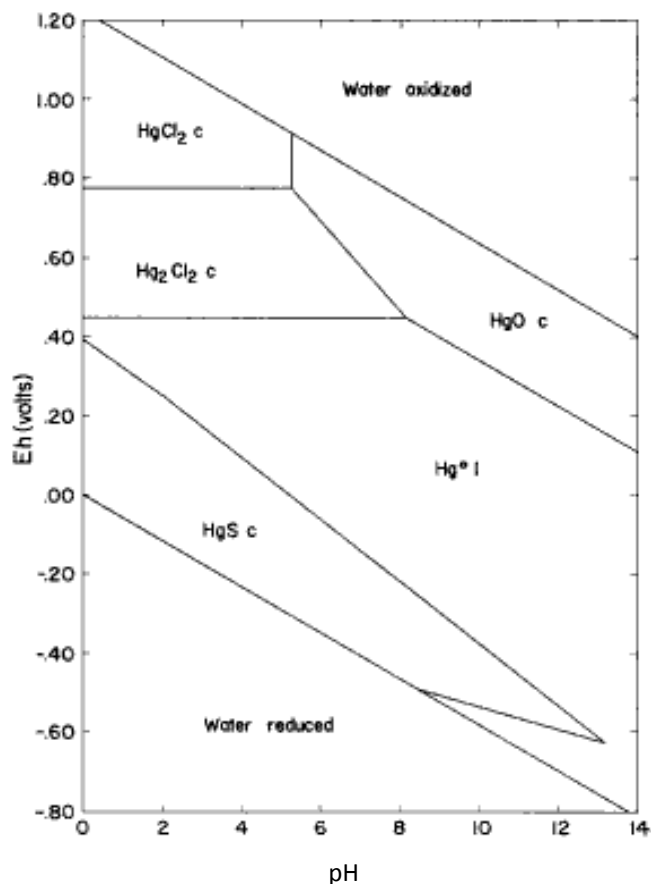


Figura 4: Campos de estabilidad de las especies de mercurio sólidos (c) y líquidos (l) a 25° C y 1 atmósfera de presión. (Fuente: Adriano, 2001)

Al descender el valor del potencial de oxidación-reducción en condiciones anaeróbicas se favorece el metabolismo del azufre por parte de las bacterias sulfato-reductoras, cuyos productos principales son, el HgS altamente insoluble y el CH₃Hg, altamente tóxico (Fernández, 2006).

En los sedimentos, son necesarias las condiciones de reducción para la formación óptima de metilmercurio aunque se ha demostrado que la formación de metilmercurio se produce a mayor velocidad en un sistema acuoso óxico que en uno con condiciones reductoras. Además, las pérdidas de metilmercurio en suelos y sedimentos pueden ser mayores en condiciones aerobias que en condiciones anaerobias (Rogers, 1976).

• **Materia orgánica**

Los principales mecanismos de retención de metales son: precipitación, acumulación en la superficie, oclusión en otros precipitados, adsorción e incorporación a los biosistemas.

La materia orgánica puede ser considerada como el factor más importante que influye en la sorción y en la formación de complejos metálicos por su capacidad de quelación. Se ha comprobado que los ácidos húmicos y fúlvicos son los mayores responsables de la inmovilización del mercurio por la materia orgánica ya que tienen constantes de gran estabilidad con el mercurio al formar complejos con los átomos de azufre que contienen. Esta

capacidad de acomplejación está determinada por el porcentaje de carbono orgánico, pH, potencial redox, temperatura y la especiación del mercurio.

La formación de complejos controla la concentración de mercurio en solución presente en el suelo lo cual se ha reflejado en estudios, ya que generalmente los suelos con elevados contenidos en materia orgánica o arcillas poseen más mercurio (Warren *et al.*, 1966) y sus pérdidas de mercurio por volatilización son menores (Landa, 1978).

En general, el mercurio se acumula en los horizontes superficiales del suelo, de manera que existe un perfil de concentración de mercurio decreciente en los 20 cm de suelo que termina estabilizándose con la profundidad (Millán *et al.*, 2008).

Cabe destacar la movilidad del mercurio arrastrado/lixiviado por las precipitaciones. Mateilainen *et al.* (2001) sostiene que como resultado de procesos de lixiviación, hay suelos cuya concentración de mercurio en la capa superficial disminuye y en las capas más profundas aumenta. El mismo efecto se observa debido a lixiviaciones ácidas que produce la disminución del contenido de materia orgánica en el suelo. En este caso, las superficies inorgánicas quedan más expuestas y dado que presentan una menor afinidad y menor área superficial que las capas de materia orgánica, también se produce una disminución del contenido de Hg(II) adsorbido en los suelos (Yin Y. *et al.*, 1996).

Se ha determinado que la illita es la arcilla que presenta mayor capacidad de sorción de mercurio en el suelo, en contraposición, la caolinita es la que tiene menor capacidad de sorción (Fang, 1978). En ausencia de ligandos, la sorción en illita y caolinita cambia poco con el pH; sin embargo, en montmorillonita la sorción de mercurio disminuye al aumentar el pH (Farrah *et al.*, 1978).

Como se ha visto, todos estos factores, que afectan a la biodisponibilidad del mercurio, son decisivos para determinar la contaminación del suelo por mercurio y la posible transferencia al sistema radicular de la planta y la persistencia del contaminante. Para evaluar esta posible transferencia se ha definido el *Factor de bioacumulación (BAF)* que expresa la relación entre la concentración del contaminante en cada uno de los tejidos de la planta respecto a la concentración de elemento en suelo. Si se utiliza el valor de concentración total en suelo, los factores de transferencia son muy bajos, y representan la porción del elemento total del suelo que la planta puede extraer. Estos valores, si bien permiten una comparación a nivel general, pueden no ser muy realistas, debido a la mayor o menor capacidad de ese elemento total para pasar a disposición de la planta. De ahí que en este trabajo se utilicen los valores de elemento fácilmente disponible en suelo.

La existencia de niveles altos de mercurio disponible en el suelo, pueden resultar fitotóxicos, provocando efectos que pueden ir desde la muerte del ejemplar hasta efectos de carácter subletal (U.S. EPA, 1997). De este modo, tanto la fotosíntesis, la transpiración foliar, y la toma de agua se ve reducida ante exposiciones altas de mercurio (Boening, 2000).

1.1.5. TOXICOLOGÍA DEL MERCURIO Y DE SUS DERIVADOS

Como ya se ha citado, el mercurio es un metal muy tóxico siendo la especiación química la variable más importante que influye en la ecotoxicología del mercurio (Jiménez, 2009).

El mercurio puede entrar en contacto con el ser humano por medio de tres vías:

- Por inhalación: el vapor de mercurio inhalado penetra fácilmente a través de la membrana alveolar hasta la sangre donde queda retenido por oxidación. Se trata de una forma muy dañina.
- Por contacto cutáneo: algunas formas orgánicas pueden ser muy dañinas por esta vía.
- Por ingestión: el mercurio elemental aunque puede absorberse vía gastrointestinal lo hace muy lentamente, por lo que no resulta extremadamente tóxico en comparación con el 95% del metilmercurio que se absorbe.

En general, los derivados orgánicos del mercurio son los más peligrosos ya que son muy estables dentro del organismo, tienen una velocidad de eliminación baja y se fijan en el sistema nervioso central, cerebro y riñones. Sus efectos en los casos más graves son irreversibles porque destruyen las neuronas. El metilmercurio es la forma más nociva de los derivados mercuriales por el hecho de ser absorbida y almacenada de forma acumulativa en los tejidos biológicos. Atraviesa rápidamente la barrera placentaria y la barrera hematoencefálica por lo que los efectos más graves se observan en los tejidos de formación y en el desarrollo del cerebro.

Si la metilación del mercurio inorgánico ocurre en ambiente terrestre, el MeHg forma complejos con las partículas orgánicas presentes en el suelo. Este proceso favorece su absorción por plantas y animales invertebrados, ampliando, de esta manera, la contaminación de la cadena trófica terrestre, especialmente en animales herbívoros y sus predadores.

1.1.6. LEGISLACIÓN APLICABLE

El mercurio, a pesar de ser un compuesto con características nocivas hacia el medio ambiente y la biosfera, ha recibido una legislación tardía.

Desde el año 2005 la Unión Europea ha promovido la *Estrategia Comunitaria sobre el Mercurio* para regular los niveles de mercurio ya que prevé reducir las emisiones y la utilización del mercurio tanto a nivel comunitario como a nivel mundial, evitando que el mercurio entre en el flujo de residuos. Por lo tanto, la Unión Europea establece la supresión progresiva de las exportaciones de mercurio, introduce restricciones a la comercialización de determinados equipos de medición y control que contienen dicho metal, y se prevé la elaboración de un sistema europeo de almacenamiento seguro.

De esta estrategia surge el *Reglamento (CE) 1102/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo*, de 22 de octubre de 2008, relativo a la prohibición de la exportación de mercurio metálico y ciertos compuestos y mezclas de mercurio y al almacenamiento seguro de mercurio metálico, donde se fijó la fecha del 15 de marzo de 2011 para que quedara totalmente prohibida la exportación de mercurio en toda la Comunidad Europea exceptuando fines médicos o científicos.

Por otro lado, la organización mundial de la salud (WHO) en el 2007 publicó un informe sobre los riesgos en la salud de los metales pesados por la contaminación transfronteriza de largo alcance, en el que se indica los niveles de mercurio en los distintos medios.

Además, existen disposiciones varias relacionadas con la regulación del mercurio, como por ejemplo:

- El *Reglamento (CE) n° 466/2001*, de 8 de Marzo de 2001, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios.
- La *Directiva 91/157/CEE*, del Consejo, de 18 de Marzo de 1991, relativa a las pilas y a los acumuladores que contengan determinadas materias peligrosas por la que la Comunidad Europea limita el empleo de mercurio en las pilas y los acumuladores.
- La *Directiva 2000/76/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 4 de Diciembre 2000 relativa a la incineración de Residuos*, por la que la CE ha establecido un límite para las emisiones de mercurio de $50\mu\text{g Nm}^{-3}$ (Carlos, M., 2009)

- La *Resolución de 28 de Abril de 1995*, de la Secretaria de Estado de Medio Ambiente y Vivienda, por la que se aprueba el Plan Nacional de Recuperación de Suelos Contaminados.

Debido a la dificultad de unificación de criterios para establecer unos límites máximos de mercurio admisibles en suelo, no existe una legislación específica estatal y las competencias sobre la materia han sido transferidas a las Comunidades Autónomas, como así determina el *Real Decreto 9/2005, de 14 de Enero*, que establece la relación de actividades potencialmente contaminantes del suelo y los criterios y estándares para la declaración de suelos contaminados, haciendo que las Comunidades Autónomas tengan que determinar los niveles genéricos de referencia de cada contaminante en el suelo. La comunidad de Castilla la Mancha, a la que pertenece la zona de estudio del presente trabajo, todavía no ha establecido los niveles de referencia. Por esta razón, para poder evaluar los valores de Hg en los suelos muestreados se ha recurrido a niveles establecidos en otras comunidades autónomas y también a los establecidos por la normativa holandesa (NMHPPE, 2000) la cual es referente en muchos casos. Todo esto siempre teniendo en cuenta que la zona que nos ocupa presenta una anomalía geoquímica.

Por último es interesante señalar que al hablar de contaminación de suelos hay que tener en cuenta que ésta puede afectar a las aguas subterráneas o superficiales por procesos de lixiviación o escorrentía. En el caso del presente trabajo para evaluar este aspecto se va a utilizar la Directiva 2008/105/CE del Parlamento Europeo y del Consejo relativa a las normas de calidad ambiental en el ámbito de la política de aguas y los niveles de referencia y de intervención para aguas subterráneas establecidos por la normativa holandesa (NMHPPE, 2000).

1.2. ÁREA DE ESTUDIO

1.2.1. SITUACIÓN GEOGRÁFICA

El distrito minero de Almadén se localiza en el centro-sur de España a unos 300 km de Madrid. En concreto, se encuentra en la Comunidad Autónoma de Castilla La Mancha, al suroeste de la provincia de Ciudad Real, de forma que queda muy cerca del límite oeste de Badajoz y del norte de Córdoba (**Figura 5**).

Esta área está considerado la mina de mercurio más grande del Planeta. El distrito minero tiene una superficie de 300 km² del que se ha extraído alrededor de un tercio del mercurio total que se ha utilizado en toda la historia del mundo. Almadén se encuentra sobre un yacimiento natural de mercurio con una mineralogía simple siendo el cinabrio dominante (HgS) aunque también se puede encontrar en forma de mercurio elemental.



Figura 5. (A) Localización de Ciudad Real en España. (B) Localización de Almadén (Ciudad Real).

Fuente: Elaboración propia a partir de Euroempresas.es y DeAlmadén.com

La zona de estudio se localiza en una finca particular llamada Huerta del Rey. Ésta ocupa unas 8,8 ha de extensión y se halla al noroeste del núcleo urbano del pueblo de Almadén (aproximadamente a 1,5 km de su centro), y en frente de la antigua mina del pueblo así como del cerco de buitrones donde se llevaron a cabo procesos metalúrgicos en los famosos hornos de alaudeles u hornos de bustamante (**Figura 6**). En la finca existen vestigios de una antigua escombrera y una antigua boca de la mina de Almadén.



Figura 6. Croquis de localización de la finca Huerta del Rey (Almadén).

Fuente: Elaboración propia a partir de las bases cartográficas del Instituto Geográfico Nacional.

1.2.2. CLIMATOLOGÍA

El área de Almadén está definida dentro de un clima Mediterráneo semiárido, con inviernos fríos y húmedos y veranos suaves y secos (Millán *et al.*, 2005). Según datos recogidos durante 30 años en la estación meteorológica de Almadén, la temperatura media es de 16 °C y la precipitación media de 587 mm (Carrasco *et al.*, 2001, Schmid *et al.*, 2003).

La evaporación potencial media anual es de 963 mm alcanzando su máximo en los meses de verano (Schmid *et al.*, 2003) de forma que el suelo típicamente permanece seco durante los meses del estío, hasta el comienzo del otoño.

1.2.3. GEOLOGÍA

La zona objeto de estudio se caracteriza por estar sobre un yacimiento metalífero de características muy singulares. El yacimiento de Almadén se formó aproximadamente hace 370 millones de años. Está situado sobre el sector meridional de la zona Centroibérica del macizo Hespérico.

Se caracteriza morfológicamente por estrechos valles con tendencia W-NW aproximadamente de 5 km de ancho (Millán *et al.*, 2006).

El depósito se formó sobre una anomalía geológica llamada “sinclinal de Almadén”. Este yacimiento está caracterizado por una sucesión paleozoica fundamentalmente detrítica, la cual fue objeto de una serie de movimientos tectónicos hercínicos que crearon de este a oeste, la sinclinal de Almadén (Higueras *et al.*, 2006a; Sierra *et al.*, 2008a).

Además de los materiales detríticos mayoritarios en la sucesión, también se encuentran representadas rocas magmáticas, fundamentalmente rocas máficas de carácter volcánico y subvolcánico (basaltos y diabasas), junto con otras minoritarias de carácter más diferenciado (andesitas, traquitas y riolitas) (Higueras *et al.*, 2000).

Las dos variedades de rocas más importantes desde un punto de vista minero son las cuarcitas en diferentes estados de mineralización y la “Roca Frailesca”, que son rocas piroclásticas de tamaño lapilli y composición basáltica (Higueras *et al.*, 2000). Dichas rocas aparecen ligadas a los yacimientos de mercurio, aunque también se pueden encontrar en otros puntos del área sinclinal (Higueras *et al.*, 2004).

A rasgos generales, se puede decir que existen dos tipos de yacimientos en Almadén. Por un lado, estarían los primarios, que se caracterizan por tener una mineralización monomineral, donde predomina el cinabrio. Éstos se observan en las minas de Almadén y el Entredicho. Y en segundo lugar, los yacimientos secundarios en la que la mineralización se encuentra rellenando fracturas, por lo que, además de cinabrio, se puede encontrar pirita. Este fenómeno se observa en las minas de Las Cuevas, Nuevo Entredicho y Nueva Concepción (Lominchar *et al.*, 2010; López-Tejedor *et al.*, 2010).

Los suelos de la zona son principalmente entisoles, caracterizados por prescindir de horizontes de diagnóstico exceptuando el horizonte A, debido a que son de neoformación. Además también es muy común encontrar inceptisoles, alfisoles y, en zonas de mucho desarrollo humano, los suelos son antrosiles, típicamente caracterizados por el impacto de las actividades humanas (Higueras *et al.*, 2005; Soil Survey Staff, 1999).

1.2.4. RECURSOS HÍDRICOS

Almadén se encuentra dentro de la cuenca hidrográfica del Guadiana. De este a oeste discurre el río Valdeazogues que es el principal curso de agua que cruza el distrito minero de Almadén junto al río Alcudia. El río Valdeazogues se caracteriza porque en él desembocan numerosos arroyos que también atraviesan la zona minera. Muchos de estos arroyos suelen contener sedimentos con mercurio que se terminan incorporando al río.

La parcela de Huerta del Rey es atravesada por el arroyo de Fuente Vieja, que comúnmente se encuentra seco en cuánto las precipitaciones empiezan a escasear.

1.2.5. CARACTERÍSTICAS FLORÍSTICAS

La vegetación predominante en la finca objeto de estudio es el pastizal, en cuya composición florística destacan, por su abundancia, el llantén (*Plantago major*), el cardo mariano (*Silybium marianum*) y el jaramago (*Diplotaxis virgata*). Otras especies que destacan por su presencia son el marrubio (*Marrubium vulgare*) y el espárrago (*Asparagus officinalis*), así como otras de la familia de las leguminosas o de las gramíneas, típicas de estos pastos mediterráneos.

Por último, en la zona más húmeda del paraje, coincidiendo con el arroyo que atraviesa la parcela (arroyo de Fuente Vieja) se pueden observar algunas individuos arbóreos de hoja caduca, como los olmos (*Ulmus minor*).

1.2.6. DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA DE ESTUDIO: *Plantago major*

La planta objeto de estudio es el llantén (*Plantago major* L.) (**Figura 7**), y pertenece a la familia Plantaginaceae. Esta planta es generalmente perenne, tiene una altura de entre 7 y 60 cm, y tallos herbáceos muy pequeños o nulos.

En la parte aérea de la planta se pueden distinguir unos pedúnculos generalmente de 3 a 24 cm, acabados en inflorescencias en forma de espiga, en las cuales se insertan pequeñas flores amarillentas. Siguiendo con la parte aérea, las hojas son ovadas, dispuestas en roseta basal, con una longitud que generalmente oscila entre 5 y 25 cm.

El margen folial es entero o irregularmente dentado, y la consistencia del limbo es de herbáceo a algo carnosillo, con pelos de hasta 0,5 mm.



Figura 7. Llantén (*Plantago major*). Fuente: <http://wisplants.uwsp.edu/scripts/detail.asp?SpCode=PLAMAJ>

Las flores del llantén florecen en primavera y en verano. De la planta se recolecta hojas, tallo, flor y raíz para usos medicinales, ya que se les reconoce diversas propiedades curativas tanto para afecciones respiratorias, de la boca o alergias.

Esta planta está distribuida por toda Europa, Norte y Centro de Asia y Norte de África, y en concreto en España se localiza por toda la Península y en las islas Baleares. En

general se puede encontrar fácilmente ya que soporta cualquier clima a excepción de los extremadamente fríos, en zonas con elevada materia orgánica y buen drenaje, aunque suele aparecer en herbazales antrópicos.

En el estudio que nos ocupa, su mayor interés reside en que es una especie autóctona, muy abundante en la finca, así como por sus cualidades forrajeras, pese a su baja biomasa y su baja palatabilidad.

2. OBJETIVOS

Los principales objetivos de este trabajo de investigación en Huerta del Rey realizado en la Unidad de Conservación y Recuperación de suelos del Departamento de Medio Ambiente del CIEMAT son:

- Determinación de la concentración de mercurio total y fácilmente disponible para las plantas en las distintas fracciones de suelo (bulk y rizosférico) mediante la aplicación del método de extracción secuencial desarrollado por Sánchez *et al.* (2005) para suelos de Almadén en el CIEMAT.
- Evaluación del comportamiento del mercurio y del grado de transferencia de mercurio del suelo a la vegetación mediante el cálculo del Factor de Bioacumulación para los distintos tejidos de la planta y de la ratio de Hg en parte aérea / Hg en raíz tomando como indicador la especie *Plantago major*.
- La Evaluación de las posibles estrategias de actuación para recuperar el suelo contaminado de esta parcela de Almadén y, en su caso, evaluación de los posibles usos del mismo.

3. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL. MATERIALES Y MÉTODOS

El procedimiento experimental seguido en este proyecto de investigación del CIEMAT consta de varias fases de actuación, desde la preparación y acondicionamiento de las muestras de suelo y planta recogidas de la zona de estudio, Huerta del Rey, hasta el análisis del contenido de mercurio en el suelo de esta parcela, determinando además, la transferencia de dicho contaminante desde el suelo hacia la vegetación. Para esto último, se ha tomado como planta indicadora, por los motivos ya indicados, el llantén.

3.1. RECOGIDA DE LAS MUESTRAS

Las muestras objeto de estudio fueron tomadas durante el mes de mayo de 2010. Se tomaron muestras de llantén, suelo bulk y suelo rizosférico en diez puntos de muestreo dentro de la parcela de estudio. Dichos puntos estaban distribuidos formando una red constituida por cuatro líneas paralelas entre sí y paralelas al cauce temporal del arroyo (**Figura 8**). La primera línea está constituida por los puntos 1-5-10; la segunda por los puntos 9-2; la tercera, la más próxima al cauce, por los puntos 8-3-6; y, la cuarta por los puntos 4-7. La posición del punto de muestreo 2 coincide con un monolito vestigio de una antigua escombrera donde la heterogeneidad de la zona puede ser grande debido a la mezcla de escombros y suelo.



Figura 8: Distribución de los distintos puntos de muestreo sobre una ortofotografía de la finca Huerta del Rey.
Fuente: Elaboración propia a partir de imágenes del Instituto Geográfico Nacional.

Cuando se habla de suelo bulk se refiere a las muestras de suelo tomadas en la zona circundante a la planta, mientras que cuando se habla de suelo rizosférico se refiere al suelo que se encuentra en contacto directo con el sistema radicular y/o bajo su influencia e interacción mutua.

Las muestras de suelo bulk en cada punto de muestreo están formadas por mezclas compuestas de cuatro puntos: uno central y tres circundantes, a una distancia fija.

Los puntos muestreados quedan fijados mediante el registro de su posición a través de un GPS para facilitar la localización de los mismos en futuros muestreos.

Una vez recogidas, las muestras de planta y suelo se guardaron en sobres de papel y bolsas de plástico, respectivamente, se etiquetaron, y se llevaron al laboratorio para proceder a su acondicionamiento y posterior análisis, punto de partida de nuestro trabajo de investigación.

3.2. PREPARACIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE LAS MUESTRAS

En cuanto a la preparación y acondicionamiento de las muestras, se debe diferenciar entre el procedimiento seguido para las muestras de planta y el seguido para las muestras de suelo.

3.2.1. MUESTRAS DE PLANTA

En el caso de las muestras de *Plantago major*, en primer lugar, se separan las distintas partes de la planta con ayuda de unas tenacillas y se pesan por separado. Las fracciones que se han obtenido del *Plantago major* son: tallo florífero, hoja e inflorescencia.

Para lavar las muestras, se deposita cada fracción vegetal en un vaso de precipitados y se lava con agua destilada en un baño de ultrasonidos con cuatro ciclos de 10 minutos, volteando su contenido cada vez para asegurar la limpieza completa de cada parte de la planta. Esta etapa de lavado es de suma importancia, dado que si no se elimina el mercurio adherido externamente, se falsearán las posteriores medidas de concentración de mercurio en la planta debida a absorción y no serán representativas para obtener conclusiones.

Una vez lavadas correctamente las distintas fracciones de la planta, se dejan secar a temperatura ambiente durante varios días y, posteriormente, se procede a su molienda con ayuda de un molino específico o de un mortero, cuando se precise.

El conjunto de muestras lavadas de hoja, tallo y flor está constituido por 27 muestras, una para cada punto de muestreo a excepción del punto 9 en el que no había presencia de llantén.

Otra fracción de la planta que se acondicionó fue la raíz, de la cual se obtuvo la fracción de suelo rizosférico, a partir de las partículas edáficas pegadas a ella. Para la preparación de estas muestras, se sometieron a un tratamiento de lavado análogo al expuesto anteriormente pero constituido por seis ciclos de lavado, debido a la mayor dificultad existente en desprender las partículas de suelos adheridas a las raíces frente a la que presentaban las distintas partes de la fracción aérea. Una vez lavadas, al igual que en los casos anteriores, se trituraron en molino específico obteniéndose un total de 9 muestras de raíz preparadas ya para ser analizadas.

3.2.2. MUESTRAS DE SUELO

En cuanto a las muestras de suelo, es necesario diferenciar entre muestras de suelo adherido a las raíces, denominado suelo rizosférico, y muestras de suelo alrededor del punto de muestreo, pero no directamente bajo la influencia radicular, denominado suelo bulk. El primero es el que nos ofrece información más consistente de la transferencia de mercurio suelo-planta y la comparación de ambos, en cuanto a la concentración de mercurio se refiere, nos ofrece si existe cambio en la disponibilidad del contaminante por acción de la atmósfera de la raíz.

El acondicionamiento de las muestras de suelo se inicia con el secado de los mismos en un secadero de bandejas metálicas durante varios días a temperatura ambiente, habiendo vertido previamente el contenido de la bolsa traída del muestreo de la parcela sobre unas bandejas hechas de papel de filtro.

Seguidamente, los suelos ya secos se tamizan para conseguir tamaños de partícula menores de 2 mm adecuados para los análisis físico-químicos edafológicos, y por último, se toma una submuestra de ese suelo para molerlo con mortero de ágata y así obtener una muestra fina y homogénea, apta para la determinación de su concentración en mercurio.

3.3. CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LAS MUESTRAS DE SUELO

Para caracterizar el suelo bulk del área de estudio se evalúan cuatro parámetros: pH, materia orgánica, conductividad eléctrica y carbonatos.

- **Medida de pH**

La medición del pH se realizó con una relación suelo/agua destilada de 1:2,5 utilizando un pH-metro marca CRISON, modelo ECMETER BASIC 30+.

- **Determinación de la materia orgánica**

La materia orgánica que presenta un suelo se determina aplicando el método *Walkey-Black*, que consiste en una oxidación previa de la materia orgánica del suelo con dicromato

potásico 1N, en medio ácido, seguido de una valoración del exceso de dicromato con sulfato ferroso amónico (sal de Mohr).

- **Conductividad eléctrica**

Para determinar la conductividad eléctrica (CE) se midió la relación suelo/agua destilada de 1:2,5 y 1:5, mediante el mismo instrumento con el que se midió el pH. Esta medida permite establecer cuantitativamente la cantidad de sales que contiene el suelo.

- **Determinación cualitativa del contenido de carbonatos**

La determinación de carbonatos presente en el suelo se determina cualitativamente evaluando la posible aparición de efervescencia sobre la superficie de la muestra al adicionar unas gotas de ácido clorhídrico.

Esta determinación cualitativa caracteriza a la muestra asignándole una puntuación: 0, si la efervescencia es nula y, por tanto, la muestra no contiene carbonatos; 1, si la efervescencia es muy débil y, 2, si es débil.

3.4. MEDIDA DE LA CONCENTRACIÓN DE MERCURIO EN MUESTRAS

Para medir tanto la cantidad total de mercurio como la que hay en las distintas fracciones del suelo, se empleó el Analizador Avanzado de Mercurio (AMA 254).

3.4.1. FUNCIONAMIENTO DEL AMA 254

El Analizador Avanzado de Mercurio (AMA 254) es el instrumento que se ha empleado para medir el mercurio de las distintas muestras preparadas (**Figura 9**).

Se trata de un espectrofotómetro de absorción atómica específico para determinar concentraciones de mercurio directamente de las muestras ya sean sólidas o líquidas sin

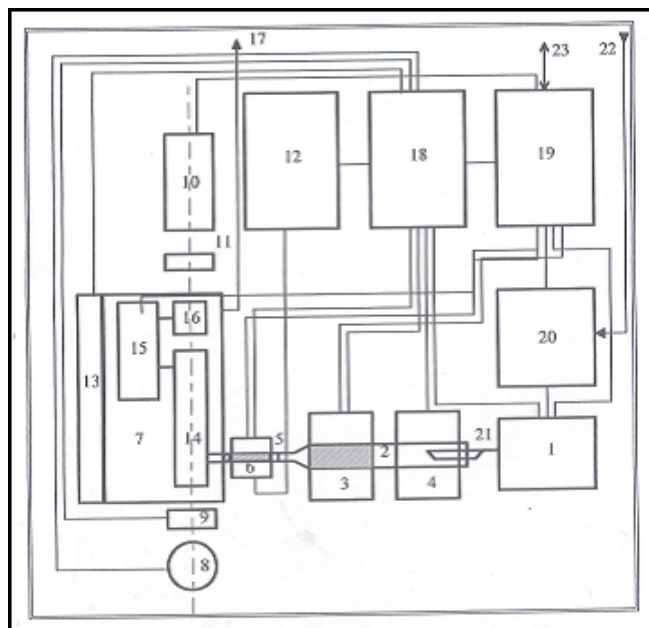
previo acondicionamiento. En la **Figura 10** se muestra un esquema del AMA 254 en el que se indica de las partes que lo forman.

El equipo tiene una navecilla (21) donde se coloca la muestra de peso conocido. En el momento en el que la navecilla entra, atraviesa un tubo catalítico (3) por medio del dosificador (1). A continuación lo primero que se hace es aplicarle calor a la muestra para deshidratarla, una vez completado esto se le sigue aplicando calor hasta descomponerla térmicamente, donde se generarán unos vapores de mercurio. Este vapor se conduce por una corriente de oxígeno a la segunda parte del tubo de descomposición donde se encuentra un catalizador. En este momento se finaliza la oxidación y los halógenos y óxidos de nitrógeno/azufre son retenidos.



Figura 9: Analizador Avanzado de Mercurio (AMA 254)

El resto de productos que hay en ese vapor que se ha creado contiene unos productos de descomposición que se van a llevar al amalgamador de oro (5) que está sobre un soporte inerte para que seleccione el mercurio y quede retenido en él, luego este mercurio se puede liberar utilizando el otro horno (6). Los demás compuestos se conducen con la corriente de oxígeno al exterior. Para evitar que el vapor se vuelva a condensar, la navecilla y el amalgamador se mantienen a 120° C, una vez que se ha estabilizado el amalgamador a esta temperatura es cuando mide la cantidad de mercurio contenida en la muestra. Previa medida del mercurio se debe de ajustar el cero automático.



1 dosificador	9 obturador	17 emisión de oxígeno
2 tubo catalítico	10 detector	18 electrónica analógica
3 horno de catálisis	11 filtro de interferencias	19 microprocesador 8051
4 horno de descomposición	12 bomba de frío	20 regulador del caudal de oxígeno
5 amalgamador	13 calentador	21 navecilla de muestra
6 horno de emisión	14 cubeta de medida de mayor tamaño	22 entrada de oxígeno
7 bastidor de cubetas de medida	15 nave de retardo	23 conexión con el equipo informático
8 lámpara de mercurio	16 cubeta de medida de menor tamaño	

Figura 10. Esquema del AMA 254. Fuente: Altec (2000)

Para liberar del amalgamador el mercurio y dejarlo limpio para las próximas muestras, hay que elevar la temperatura de forma que el mercurio se vuelve a transferir hacia una cubeta de mayor tamaño (14) mediante un flujo de gas que a su vez depositará el mercurio en la navecilla de retardo (15) para finalmente enviarlo a la navecita de menor longitud (16). Como se ha visto, la concentración se mide dos veces con diferencia de sensibilidad ya que pasa por dos tipos de cubeta distintas (14 y 16) de forma que tiene capacidad para medir un rango de

mercurio de entre 0,05 a 600 ng. Estos datos son transferidos al equipo informático a través de un módulo del microprocesador 8051 (19).

Desde aquí se libera el mercurio al exterior. Para poder medir la siguiente muestra se debe de enfriar la nave y el amalgamador mediante una bomba de enfriamiento (12).

Este equipo tiene un límite de detección de 0,01 ng de Hg.

3.4.2. MEDIDA DEL MERCURIO TOTAL EN LAS MUESTRAS

Se midieron tanto muestras líquidas como sólidas utilizando el equipo AMA-254. Las muestras sólidas se molieron hasta conseguir la mayor homogeneidad posible ($< 125 \mu\text{m}$).

Las muestras de suelo presentaban contenidos de Hg fuera del rango del equipo (> 600



Figura 11. Microondas

ng). Para evitar la saturación del equipo AMA-254, dichas muestras se sometieron a una digestión ácida siguiendo el método EPA 3052 (US EPA, 1996) utilizando un microondas marca ETHOS 1 (Milestone SRL) (Figura 11). Este método consiste en atacar con tres ácidos; HF, HNO₃ y HCl de forma que todo el mercurio presente en la muestra se transfiera a la disolución ya que tanto la matriz silíceas como la orgánica son digeridas. El líquido resultante de la digestión se midió con el AMA 254.

3.4.3. MEDIDA DEL MERCURIO DISPONIBLE EN LAS MUESTRAS.

El estudio de las formas en las que se encuentra distribuido el mercurio en las distintas fracciones del suelo resulta de especial importancia en las investigaciones relacionadas con los sistemas suelo-planta. El método elegido en nuestro caso es el de la extracción secuencial desarrollada específicamente para los suelos que contienen mercurio de Almadén por Sánchez *et al.* (2005). Existen otros procedimientos de extracción secuencial pero no tan específicas

para el caso que nos atañe como la de Tessier *et al.*, 1999 o la BCR-SES de Quevauviller *et al.*, 1997).

En el caso del presente estudio, solo se efectuaron las dos primeras fases de la extracción secuencial bajo el protocolo antes citado, para conocer la fracción soluble y la intercambiable del mercurio contenido en el suelo. Se analizaron 26 muestras puesto que los 10 puntos se hicieron por duplicado y además se midió un patrón y un blanco por duplicado también.



Figura 12: Montaje experimental de filtración

3.4.4. VALIDACIÓN DE LAS MUESTRAS OBTENIDAS CON AMA 254

Para conocer si los valores que el AMA 254 está proporcionando son fiables y precisos y no existe ninguna contaminación externa ni desajuste del aparato, se deben analizar patrones de concentración conocida y comprobar si la concentración que se estima es la correspondiente. En el caso tratado, los patrones que se utilizaron fueron sólidos y líquidos.

Los patrones sólidos utilizados fueron vegetales, edáficos y de polvo de leche, éstos están certificados por el Community Bureau of Reference (BCR) actualmente llamado Standard Measurements and Testing, garantizando una muestra homogénea y de concentración exacta y conocida, pudiendo realizar repeticiones de medidas exactas. El único patrón líquido que se empleó fue de concentración 10 ug l^{-1} , este patrón se ha elaborado en el laboratorio de química analítica del CIEMAT. En la **Tabla 2** se muestran los patrones sólidos y líquidos que se han empleado, la concentración esperada y la obtenida por el AMA 254.

Tabla 2. Patrones empleados en el experimento: concentraciones esperadas y obtenidas

Patrón	Tipo de patrón	Concentración esperada	Concentración obtenida
Genérico	Patrón líquido elaborado en el laboratorio de Química Analítica del CIEMAT	$10 \pm 0,5 \mu\text{g kg}^{-1}$	$0,8 \pm 0,1 \mu\text{g kg}^{-1}$
BCR-151	Polvo de leche desnatada	$0,101 \pm 0,010 \text{ mg kg}^{-1}$	$0,105 \pm 0,009 \text{ mg kg}^{-1}$
CRM-027	Suelo contaminado procedente del oeste de EE.UU.	$3,80 \pm 0,65 \text{ mg kg}^{-1}$	$4,45 \pm 0,57 \text{ mg kg}^{-1}$
CRM-051	Suelo contaminado procedente de un área de EE.UU.	$29,90 \pm 5,96 \text{ mg kg}^{-1}$	$28,87 \pm 3,47 \text{ mg kg}^{-1}$

3.5. PROCEDIMIENTO ESTADÍSTICO CON SOFTWARE SPSS

Para llevar a cabo el análisis de los resultados se ha hecho un estudio estadístico mediante el software SPSS Statistics 15.0. En concreto, los datos obtenidos se han sometido a dos pruebas estadísticas. Por un lado, se realizó una comparación de medias para ver si existían diferencias significativas entre las distintas categorías de las distintas variables contempladas; y, por otro lado, se llevaron a cabo estudios de correlación para conocer, de entre las distintas variables, las posibles relaciones y sus diferentes intensidades.

Previamente a la comparación de medias, se realizó la evaluación de la homogeneidad de varianzas con un nivel de significación de 0,05, para lo cual se ha utilizado el Test de Levene. Cuando hubo homogeneidad de varianzas se utilizó el análisis de varianzas (ANOVA) de un factor. Cuando el test de Levene rechazó la homogeneidad de varianzas, se utilizó el método no paramétrico de Welch, un estadístico que representa una robusta alternativa al estadístico F del ANOVA en los casos de heterocedasticidad.

Las pruebas *post hoc* o comparaciones a posteriori se realizaron mediante el test de Tukey y Games-Howell, para el ANOVA y el test de Welch respectivamente. Todos los análisis y pruebas se llevaron a cabo con niveles de significación de 0,05.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los siguientes apartados se muestran y discuten los resultados obtenidos en el presente estudio.

4.1. PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DEL SUELO

Los resultados de la medida de los parámetros físico-químicos: pH, conductividad eléctrica (CE), cantidad de materia orgánica (MO) y determinación cualitativa de CaCO_3 de las muestras de suelo bulk, se recogen en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Resultado de la medida de parámetros físico-químicos en los suelos bulk muestreados

P. Muestreo	pH (1:2,5)	CE ($\mu\text{S cm}^{-1}$) (1:2,5)	% MO	Presencia CaCO_3 (cualitativo 0-4)
1	6,8	276	2,0	0
2	6,5	459	6,0	0
3	7,0	397	3,7	1
4	5,7	107	2,3	0
5	5,8	144	2,5	0
6	7,0	243	2,3	0
7	7,1	567	3,3	0
8	7,3	372	2,6	2
9	6,0	131	2,3	0
10	6,0	162	2,5	0

En cuanto al pH, los valores obtenidos, para las 10 muestras de suelo bulk de la parcela de Huerta del Rey, indican que el pH en general está en el rango de la neutralidad, el cual la sitúa entre 6,5 y 7,5 (Jones, 2000). A pesar de esto existen cuatro excepciones (punto 4, 5, 9 y 10) que presentan un pH en rango ácido.

La parcela por su carácter neutro presenta unas condiciones adecuadas para el desarrollo de las plantas ya que la biodisponibilidad de los nutrientes necesarios es, en principio, adecuada y, en este rango de acidez, los efectos tóxicos son mínimos (Porta, *et al.*, 1999). En cuanto a los carbonatos presentes en el suelo, el rango de efervescencia varía entre nula y débil, por lo que se puede asumir que en estos suelos no existen.

Los puntos comprendidos en el intervalo de pH entre 5,6-6 de acuerdo con Porta, *et al.*, (1999) se definen como medianamente ácidos. Además dichos puntos presentan un rango de pH en el que se ve favorecida la pérdida de mercurio por volatilización ya que, según Frear y Dills (1967), la volatilización de este elemento se incrementa cuando el pH está entre 5,3 y 6,4.

Por otro lado, se debe de tener en cuenta que, dado que el suelo presenta unas buenas condiciones de aireación, la forma de mercurio elemental puede evolucionar a Hg^{2+} mediante reacciones de oxidación. El mercurio bivalente es una forma más soluble y está más disponible para que pueda ser absorbida por la planta.

En lo que se refiere al contenido de materia orgánica, según Porta *et al.* (1999), los suelos agrícolas de secano cultivados bajo un clima semiárido, a los que en parte pueden asemejarse los suelos de la zona de Almadén, presentan un valor medio de materia orgánica entre 1-2%. De acuerdo a esto, la finca globalmente supera este rango, pero hay que tener en consideración que la finca está sometida a un aprovechamiento ganadero de oveja que favorece el incremento de materia orgánica.

Los suelos con tasas de materia orgánica inferiores al 2% tienen un bajo contenido de agregados y una baja porosidad, lo que puede conducir a más erosionabilidad y a suelos más sensibles a la compactación (Seoánez *et al.*, 1999).

Según Millán *et al.* (2007), en los suelos neutros o con poca materia orgánica la solubilidad estaría dominada por los óxidos de hierro y los minerales de arcilla en lugar de por complejos con materia orgánica, y la movilidad del mercurio aumentaría al disminuir el pH.

La conductividad eléctrica del suelo presenta valores por debajo de $500 \mu\text{S cm}^{-1}$ tal y como se esperaba debido a que la geología del área no es salina (Porta *et al.*, 1999). Existe una excepción, el punto 7 está ligeramente por encima del rango esperado, es decir, en este punto existe una cantidad anómala de sales disueltas que pueden proceder de las actividades antropogénicas (Schmid *et al.*, 2005).

El nivel de sales solubles encontradas en la solución del suelo determina la conductividad eléctrica. Las sales incluyen cationes como el Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} NH_4^+ , y aniones como el Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} y CO_3^{2-} , éstas contribuyen a la conductividad en la solución de un suelo.

De la discusión de los resultados de los parámetros físico-químicos cabe destacar el punto de muestreo 7 como un punto excepcional, con vistas a un futuro estudio. Dicho punto

presenta elevados valores de pH, CE y % MO, correlacionado, como se verá más adelante, con un valor de concentración de Hg total en suelo bulk y en raíz significativamente más alto que en el resto de puntos.

4.2. MERCURIO EN SUELO

4.2.1 MERCURIO TOTAL EN EL SUELO

La concentración de mercurio total del suelo se ha determinado tanto en la fracción de suelo rizosférico como en la fracción de suelo bulk.

Dado que la concentración de mercurio en las muestras de suelo superan el límite máximo de detección del equipo (600 ng de Hg), es preciso someterlas previamente a un ataque ácido tal y como se ha comentado anteriormente. De esta manera, la concentración real de mercurio total en el suelo viene dada por la ecuación [1]; donde, m , es el peso de la muestra de suelo que se lleva a digestión, y, V , es el volumen del reactor utilizado en el proceso de digestión. El peso de la muestra de suelo debe ser de 0,1g según viene dado por el procedimiento de digestión EPA Method 3052 (1995).

$$[Hg]_{TOTAL_REAL} = \frac{[Hg]_{TOTAL_MEDIDA} - [Hg]_{TOTAL_BLANCO}}{m(g)} * V(ml)$$

[1]

En el AMA 254 se han llevado a cabo 3 replicados de cada muestra para obtener resultados representativos.

Las concentraciones de mercurio total real determinadas, tanto para fracción bulk como para fracción rizosférica, se muestran en la **Figura 13**.

La concentración de mercurio total de las muestras de suelo rizosférico está comprendida entre 180 -1180 mg kg⁻¹, a excepción del punto de muestreo 3 y 7 en los que se alcanzan valores de 5086 mg kg⁻¹ y 2363 mg kg⁻¹, respectivamente. En estos puntos, los

valores más elevados de mercurio total en rizosfera coinciden con los de mayor concentración de Hg en la parte aérea vegetal.

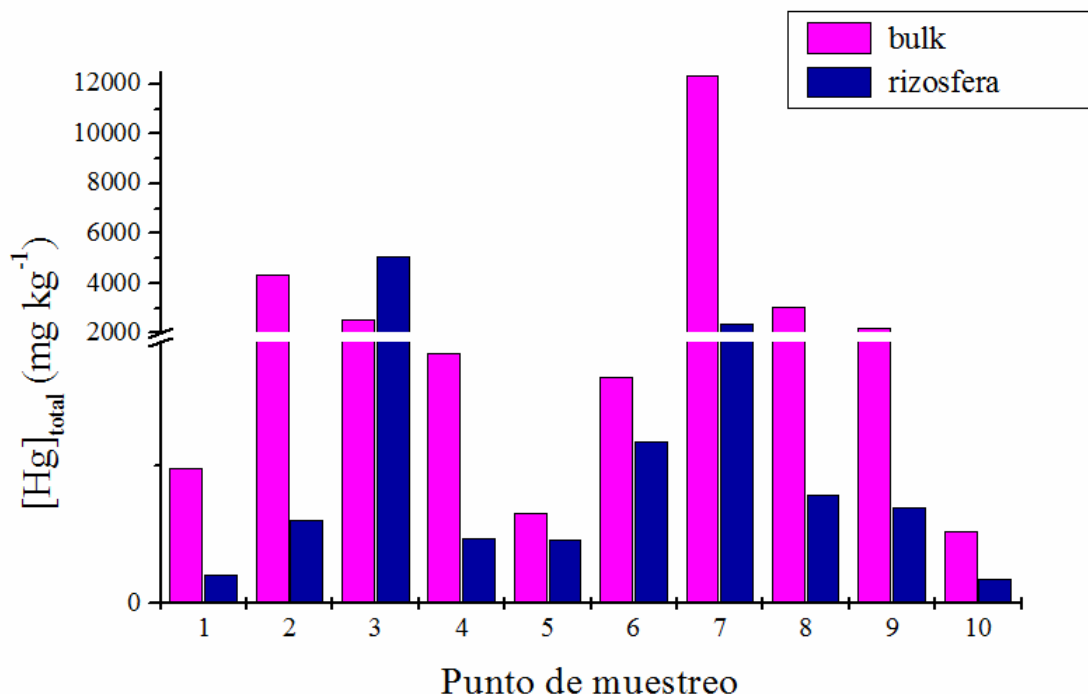


Figura 13. Concentración total de mercurio en suelo.

Para el suelo bulk, las concentraciones de mercurio determinadas se mueven en un rango superior, comprendido entre 530 - 4300 mg kg⁻¹, llegando incluso a un valor de 12 378 mg kg⁻¹ en el punto de muestreo 7. Cabe indicar que dicho punto, en la caracterización físico-química del suelo bulk, es el que presenta los valores más elevados de pH, conductividad eléctrica y porcentaje de materia orgánica.

Vistos los resultados, la parcela Huerta del Rey, además de estar situada sobre una formación geológica atípica, puede considerarse como un área impactada por la explotación y el aprovechamiento del mercurio, pues en ella se alcanzan valores superiores a 100 mg kg⁻¹ (Adriano, 1986). Además, existen normativas como la de Andalucía (CMAJA, 1999), que fija un nivel de intervención para Hg total en suelos de áreas industriales (zona poco restrictiva), de 30 mg kg⁻¹ que son 6 veces más bajos que la concentraciones de Hg total más baja obtenida en el presente trabajo. Por otro lado, si tomásemos niveles de referencia más restrictivos que los anteriores, por ejemplo los dados para la Comunidad de Madrid para “otros usos del suelo”, tendríamos que considerar la cifra de 5 mg kg⁻¹ de Hg (ORDEN

2770/2006) y, de esta forma, los valores de Hg total para los suelos del presente estudio superarían este valor hasta 560 veces.

Millán *et al.*, (2006) muestran datos de concentraciones de mercurio total desde 5,03 mg kg⁻¹ en un paraje llamado "Fuente del Jardinillo" de Almadén, hasta 1710 mg kg⁻¹ en la propia mina de Almadén.

Por su parte, Molina *et al.*, (2006), también en la zona de Almadén, encontraron valores de concentración de mercurio que variaban entre 0,13 y 2695 mg kg⁻¹. Dentro de este último intervalo se encuentran los niveles detectados en la fracción rizosférica de la parcela Huerta del Rey, considerados valores normales para una región con abundantes depósitos ricos en mercurio y sujeta a una intensa y prolongada actividad minera (Higueras *et al.*, 2004; Gray *et al.*, 2004 y Molina *et al.*, 2006).

La altas concentraciones de mercurio total en suelo bulk de la parcela de Huerta del Rey, se encuentran dentro del intervalo de concentración de Hg total de 5 - 40 000 mg kg⁻¹ registrados en Almadenejos, una zona con características similares a la parcela estudiada donde hubo hornos minero metalúrgicos (Millán *et al.*, 2011).

De acuerdo con los contrastes de medias, se determina que existe una diferencia significativa entre éstas para la concentración de Hg total de la fracción rizosférica y de la zona de bulk, siendo el contenido total en mercurio en bulk entre dos y tres veces mayor que en la fracción rizosférica (**Tabla 4**).

En cuanto a los estudios de correlación realizados, existe correlación positiva entre el contenido de mercurio en las dos fracciones.

Tabla 4. Medias de concentración de Hg total en fracción bulk y rizosfera.

FRACCIÓN DE SUELO	MEDIA [Hg] total (mg kg ⁻¹)
RIZOSFÉRICA	1002 ± 153
BULK	2805 ± 601

4.2.2. MERCURIO SOLUBLE EN EL SUELO

El mercurio soluble del suelo es aquel que está en la solución del suelo y, por tanto, junto con el intercambiable, es el que está en forma fácilmente disponible para la planta.

El mercurio soluble, tanto en suelo bulk como en rizosfera, se ha obtenido aplicando la primera etapa del procedimiento de extracción secuencial desarrollado por Sánchez *et al.*, 2005). De esta manera, la concentración de mercurio soluble real medida en cada muestra viene dada por la ecuación [2]; donde, m , es el peso de la muestra de suelo, y V es el volumen final.

$$[Hg]_{SOLUBLE_REAL} = \frac{[Hg]_{SOLUBLE_MEDIDA} - [Hg]_{TOTAL_BLANCO}}{m(g)} * V(ml) \quad [2]$$

Las concentraciones de Hg soluble de cada punto de muestreo en suelo rizosférico y en suelo bulk aparecen representadas en la **Figuras 14** y **Figura 15**, respectivamente. Cabe destacar que la mayor concentración de Hg soluble en rizosfera se obtiene en el punto de muestreo 7, punto en el que, como se ha comentado anteriormente, también aparecen valores máximos en los parámetros de caracterización físico-química analizados y de concentración de Hg total en suelo bulk. Esta relación se corrobora con los resultados obtenidos en los análisis de correlación, ya que se ha determinado una relación significativamente estadística entre la concentración de mercurio soluble en rizosfera y el pH. El punto 7 coincide, además, con uno de los tres valores más elevados de Hg en parte aérea.

Los análisis de correlación determinan correlaciones positivas pero estadísticamente no significativas tanto para el caso de la concentración de Hg en parte aérea del llantén respecto a la concentración de Hg disponible en rizosfera, como para aquella fracción y la concentración de Hg disponible en la fracción bulk.

Tabla 5. Medias de concentración de Hg soluble en fracción bulk y rizosfera

FRACCIÓN DE SUELO	MEDIA [Hg] soluble (mg kg ⁻¹)
RIZOSFERA	0,380 ± 0,073
BULK	0,880 ± 0,079

En cuanto al análisis de comparación de medias para las variables concentración de Hg en las fracciones solubles del suelo bulk y del suelo rizosférico, el resultado ha mostrado diferencias significativas entre ambas. Cabe destacar que, según los resultados obtenidos, en promedio (**Tabla 5**), el contenido de mercurio soluble en el suelo rizosférico es menos de la mitad que el soluble en el área fuera de la influencia de la raíz del vegetal (suelo bulk). Sería interesante medir el pH en la rizosfera, compararlo con el obtenido en el suelo bulk y evaluar posibles estrategias por parte de la planta.

La fracción de mercurio soluble es un indicador del mercurio lixiviable, fracción potencialmente contaminante de aguas subterráneas. En este estudio el mercurio soluble supone menos de un 0,11% del Hg total en rizosfera, siendo la concentración máxima de 1,84 mg kg⁻¹ en el punto 7, y menos de un 0,28 % del Hg total en bulk, con una concentración máxima de 2,76 mg kg⁻¹ en el punto 1. El porcentaje de mercurio soluble menor de un 3 % determinado en la zona de Almadenejos (Millán *et al.*, 2010), con características similares a Huerta del Rey, se encuentra dentro del rango determinado en este estudio. A pesar de que el Hg soluble representa una pequeña fracción del mercurio total, supone concentraciones muy altas comparadas incluso con los niveles de referencia para Hg total en suelos (NMHPPE. 2000; BWRHABTGG, 1995). Por otro lado, el Hg soluble puede trasladarse a otro compartimento ambiental como son las aguas subterráneas o superficiales. En la Directiva 2008/105/CE se marca una concentración máxima admisible en aguas superficiales de 0,07 µg l⁻¹ de Hg y el nivel de intervención fijado por la normativa holandesa para aguas subterráneas es de 0,3 µg l⁻¹ de Hg. Teniendo en cuenta estos valores y nuestros resultados, parece razonable pensar que exista un riesgo potencial de contaminación de las aguas.

En cuanto al estudio estadístico, se han analizado las posibles diferencias significativas entre la concentración de mercurio soluble en bulk y entre los distintos puntos de la parcela. La interpretación de dichos resultados se hace en función de la situación de los puntos en dicha parcela. Así, se observa que en la línea de los puntos 2 y 9 no existen diferencias significativas entre ambos puntos, por lo que se espera que en esta línea la concentración de Hg sea similar. Sin embargo, en la línea de los puntos 4 y 7 sí existen diferencias significativas, siendo la concentración de Hg en el punto 7 muy superior. Igualmente, la línea virtual que pasaría por los puntos 3-6-8 presenta diferencias significativas entre los puntos 3-6 y 6-8, siendo mayor el Hg en el punto 6. Resulta interesante el hecho de que los puntos 6 y 7, con mayores concentraciones y con diferencias significativas con el resto de puntos de su línea, estén próximos entre sí. Una posible justificación puede ser la historia minera de la

parcela Huerta del Rey, ya que se sabe que en algún punto de dicha parcela hubo hornos mineros.

4.2.3. MERCURIO INTERCAMBIABLE EN EL SUELO

El mercurio intercambiable, tanto en suelo bulk como en rizosfera, se ha obtenido aplicando la segunda etapa de la extracción secuencial citada en el apartado de material y métodos (Sánchez *et al.*, 2005). La concentración de mercurio intercambiable real de cada muestra se calcula con la ecuación [2].

Las concentraciones de Hg intercambiable de cada punto de muestreo en suelo rizosférico y bulk aparecen representadas en las **Figura 18** y **Figura 19**, respectivamente. Nuevamente, destaca la máxima concentración en suelo rizosférico de Hg intercambiable en el punto 7, punto que presenta máximos de pH y conductividad eléctrica. Adicionalmente, el estudio de correlaciones ha indicado que existe una correlación significativa y positiva entre la concentración de Hg intercambiable en el suelo rizosférico y las variables pH y CE, a un nivel de significación de 0,05 y de 0,01, respectivamente.

Del estudio estadístico con el software SPSS que se llevó a cabo para conocer las diferencias significativas entre medias, se extrae que existen diferencias significativas entre la variable que nos ocupa para las dos fracciones de suelo estudiadas (rizosfera y bulk), siendo la concentración del mercurio intercambiable del suelo bulk nuevamente aproximadamente dos veces mayor que la del suelo rizosférico (**Tabla 6**). Por otro lado, el estudio de correlaciones llevado a cabo determina la existencia de una relación positiva y significativa estadísticamente entre ambas variables.

Tabla 6. Medias de concentración de Hg intercambiable en fracción bulk y rizosfera

FRACCIÓN DE SUELO	MEDIA [Hg] intercambiable (mg kg ⁻¹)
RIZOSFERA	0,136 ± 0,087
BULK	0,237± 0,048

4.2.4. MERCURIO DISPONIBLE EN EL SUELO

La fracción de mercurio fácilmente disponible es la suma del mercurio soluble y el mercurio intercambiable para cada tipo de suelo (Sánchez *et al.*, 2005).

Los porcentajes de mercurio fácilmente disponible respecto del mercurio total están por debajo del 0,21% en suelo rizosférico y por debajo del 0,35% en suelo bulk. Estudios realizados en Almadén, como los de Millán *et al.*, (2006) o Sánchez *et al.* (2005), determinaron que el mercurio fácilmente disponible se corresponde con menos del 0,2% del mercurio total, un valor coincidente con los registrados en rizosfera de este estudio. Sin embargo, si se comparan las concentraciones medias de Hg disponible (**Tabla 7**) con estudios realizados en otras zonas de Almadén, el mercurio disponible en la parcela de Huerta del Rey es menor que en el cerco minero de Almadenejos donde existieron unos antiguos hornos minero metalúrgicos (Millán *et al.*, 2011).

Tabla 7. Medias de concentración de Hg disponible en fracción bulk y rizosfera

FRACCIÓN DE SUELO	MEDIA [Hg] disponible (mg kg ⁻¹)
RIZOSFERA	0,481 ± 0,076
BULK	1,021 ± 0,111

El análisis de correlación determina que sí existe correlación positiva entre la concentración de Hg de la fracción disponible y la concentración total de Hg de suelo rizosférico, ya que el Hg fácilmente disponible para la planta es una fracción del Hg total.

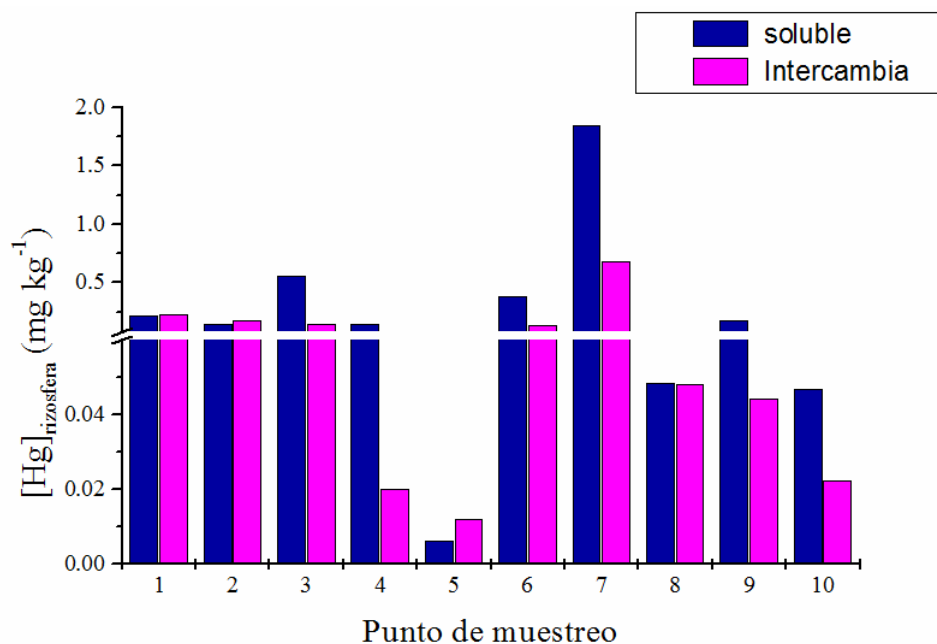


Figura 14. Concentración de Hg soluble e intercambiable en rizosfera.

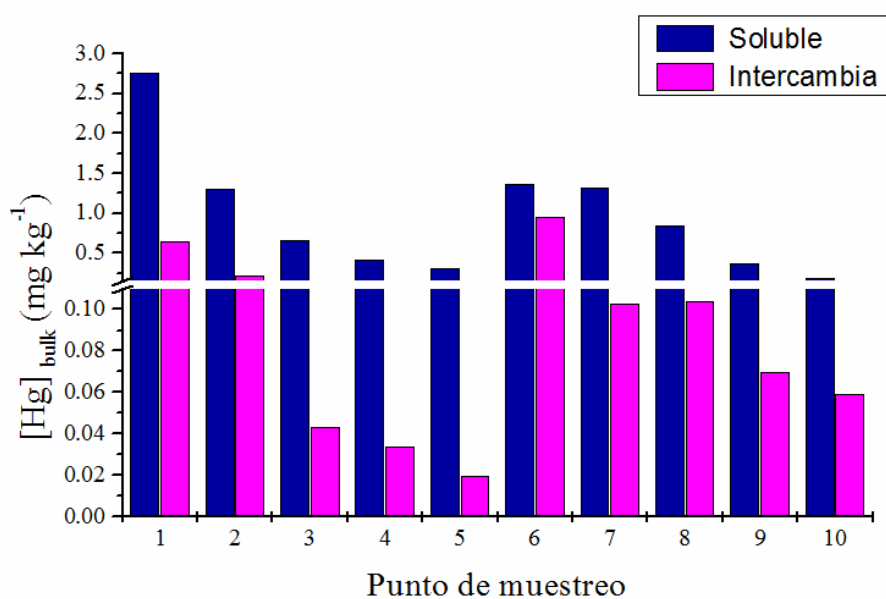


Figura 15. Concentración de Hg soluble e intercambiable en bulk.

4.3. PRESENCIA Y DISTRIBUCIÓN DEL MERCURIO EN *Plantago major*

4.3.1. DISTRIBUCIÓN DEL MERCURIO EN LOS DISTINTOS TEJIDOS DE *Plantago major*

4.3.1.1. MERCURIO EN PARTE AÉREA

En primer lugar, en la **Tabla 8** se recogen las pesadas de las distintas fracciones de los ejemplares de la especie recolectada *P. major*, planta tomada como testigo de la transferencia de mercurio del suelo a la vegetación por su abundancia en la zona. La masa de la parte aérea corresponde a la suma de las fracciones hoja, tallo y flor en cada punto. Se observa que, en cuanto a biomasa, las fracciones representativas de la parte aérea son el tallo y la hoja.

Tabla 8. Biomasa aérea, parcial y total, de los individuos de llantén recolectados

P. muestreo	Masa flor (g)	Masa tallo (g)	Masa hoja (g)	Masa parte aérea (g)
1	1,7	2,8	2,7	7,2
2	0,7	1,5	0,8	2,9
3	0,1	0,4	0,6	1,1
4	0,6	1,6	1,0	3,2
5	0,8	1,7	2,3	4,7
6	0,4	1,2	1,1	2,7
7	0,5	0,9	0,9	2,3
8	2,2	5,2	5,5	12,9
10	0,4	0,7	0,8	1,8

Los resultados de concentraciones de mercurio total en *Plantago major* se obtienen por medida directa de cada órgano en el equipo AMA 254. Se han llevado a cabo, en promedio, 6 replicados de cada muestra para obtener resultados representativos.

En la **Figura 16** se muestra un diagrama de barras con los valores medios obtenidos en cada punto de la parcela para cada fracción aérea de planta y raíz. En dicha figura, se observa cómo la distribución del Hg en el llantén es heterogénea, abarcando un amplio rango de valores de concentración de mercurio. En otros estudios llevados a cabo en parcelas experimentales en el área minera de Almadén, la concentración de mercurio en distintas plantas va desde valores por debajo de $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ a valores por encima de 1000 mg kg^{-1} (Boening, 2000; Higuera *et al.*, 2004; Millán *et al.*, 2006; Molina *et al.*, 2006 y Sierra, 2008a).

Del estudio de la posible existencia de diferencias significativas entre la concentración de Hg total de la parte aérea y de la raíz en todos los puntos de muestreo, se extrae que no existen diferencias significativas entre dichas variables. De esta forma, los valores medios de concentración de mercurio resultan muy próximos entre sí, de $29,69 \pm 3,46 \text{ mg kg}^{-1}$ y $26,9 \pm 4,53 \text{ mg kg}^{-1}$ para raíz y parte aérea, respectivamente.

Sin embargo, también se realizó un estudio para determinar la posible existencia de diferencias significativas entre los distintos tejidos de la planta (tallo, hoja, raíz y flor) en cada punto de muestreo. En este caso, el tratamiento estadístico empleado es el método no paramétrico de Welch y el estadístico de Games-Howell.

En general, existen diferencias significativas entre todas las partes de la planta en todos los puntos exceptuando la concentración de mercurio entre las porciones de flor y tallo del punto 2. Esto nos lleva a pensar que la acumulación de mercurio en la planta no es igual en todos los órganos diferenciados en este estudio, siendo sustancialmente mayor en hoja (puntos 2, 3, 4, 6, 7 y 8) y en raíz (puntos 1,5 y 10). Cabe comentar que los puntos en los que la concentración de mercurio en raíz es mayor que en hoja se encuentran en la misma línea de muestreo (puntos 10, 1 y 5). Estos últimos resultados de distribución de Hg coinciden con estudios realizados en otras plantas cultivadas en suelos procedentes de Almadén por Sierra *et al.*, (2008a, 2008b, 2008c, 2009, 2011, 2012). Destacar, además, que la fracción tallo es la que contiene menor concentración de mercurio en todos los puntos. Esto podría atribuirse a la evapotranspiración. La planta transporta directamente el mercurio que absorbe a través de la raíz hasta las hojas, siendo el tallo una fracción de transición.

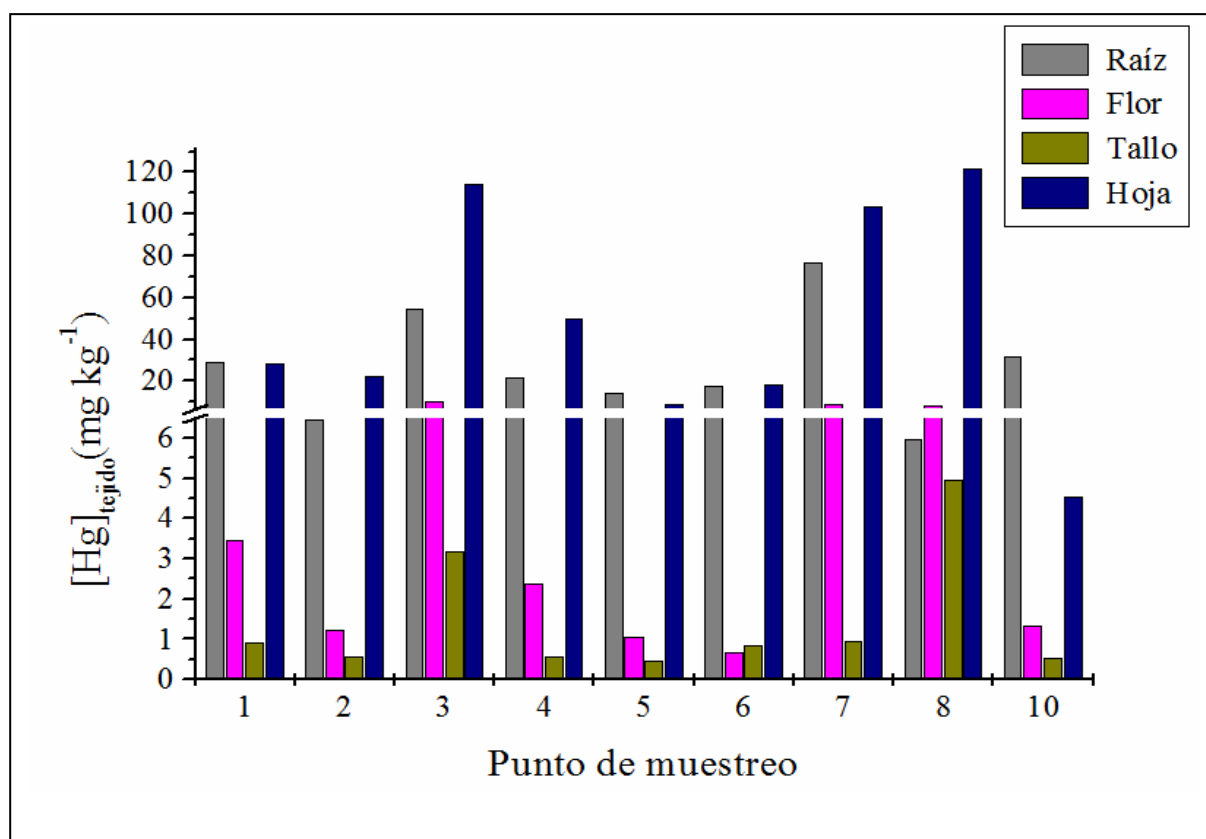


Figura 16. Concentración de mercurio total en las distintos tejidos de *Plantago major*

4.3.1.2. MERCURIO EN RAÍZ: TRASLOCACIÓN DEL MERCURIO DENTRO DE LA PLANTA

Para evaluar el tipo de estrategia que tiene una planta en respuesta a un elemento tóxico (Baker, 1981) es decir, los mecanismos de defensa que adopta la planta ante el contaminante, existe un parámetro que indica la concentración de mercurio que se ha traslocado desde la raíz a la parte aérea de la planta (ratio Hg en parte aérea / Hg en raíz).

La concentración de mercurio total en la parte aérea se ha calculado por contribución, atendiendo al peso relativo de la biomasa de cada tejido respecto a la biomasa aérea total.

La representación de la ratio Hg en parte aérea / Hg en raíz para el *Plantago major* L. en la parcela Huerta del Rey se recoge en la **Figura 17**. Como tendencia general se observa que, salvo en los puntos de muestreo 2, 3 y 8, la relación parte aérea/raíz presenta valores por debajo de uno.

A priori, teniendo en cuenta esta tendencia y atendiendo a la clasificación de las plantas que establece Baker (1981) en función de su comportamiento frente a los metales, la

especie de estudio se puede definir como *exclusora*. Ésta se caracteriza por retener el metal principalmente en la raíz.

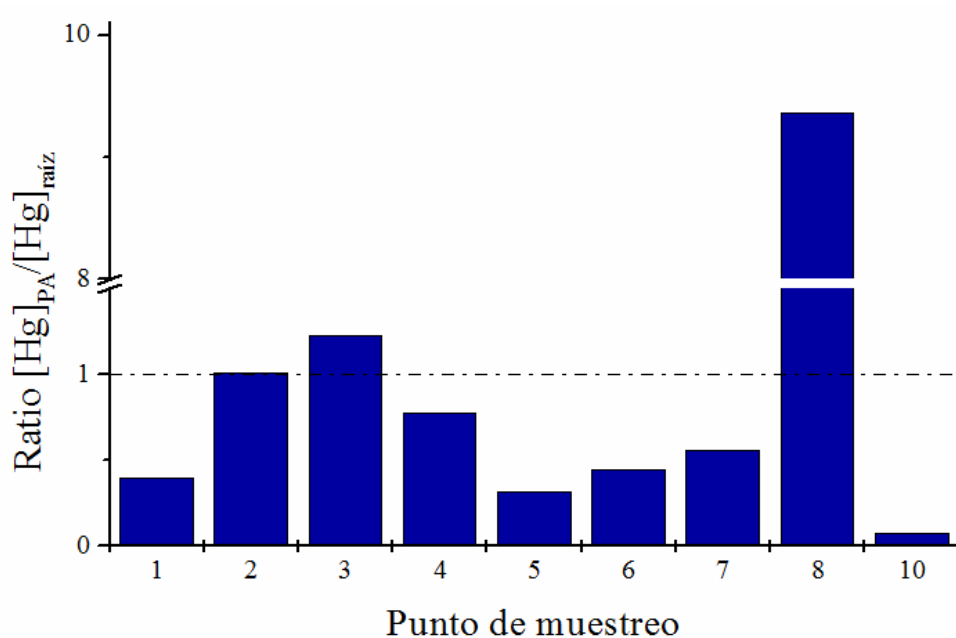


Figura 17. Ratio Hg en parte aérea / Hg en raíz en cada punto de muestreo

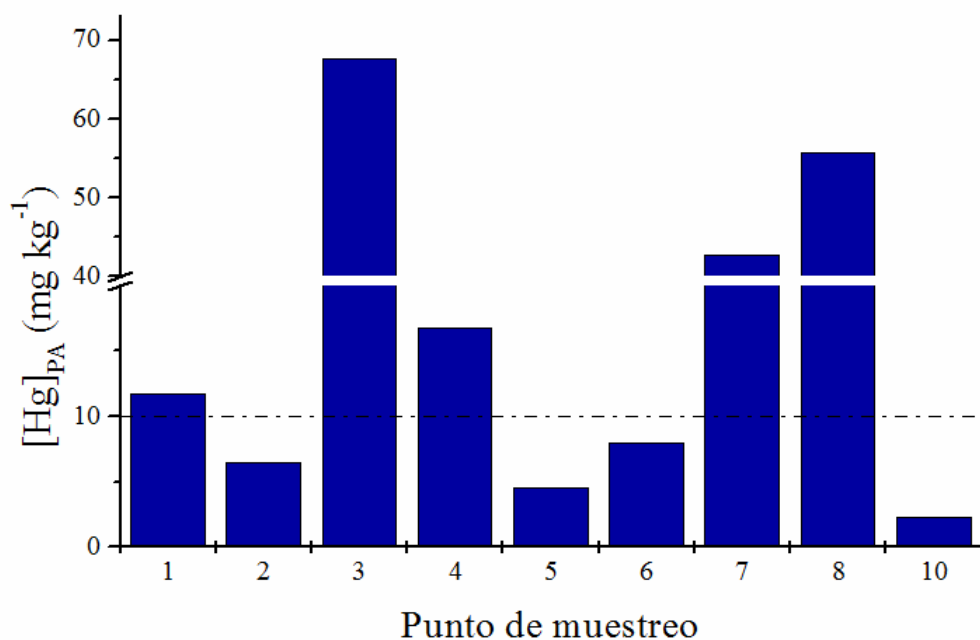


Figura 18. Concentración total de mercurio en parte aérea de *Plantago major*

Por otro lado, si tenemos en cuenta que una de las características que debe cumplir una especie para ser considerada hiperacumuladora es superar concentraciones de mercurio de 10 mg kg^{-1} en la parte aérea (Lasat, M., 2002), no podemos descartar que la especie sea acumuladora, tal como muestran las concentraciones de mercurio en gran parte de los puntos de muestreo de Huerta del Rey (**Figura 18**). Sin embargo, para clasificar una especie como hiperacumuladora habría que realizar más ensayos en invernadero con un gradiente de concentraciones de Hg en los que se demostraran otras características, tales como absorción elevada para bajas concentraciones de elemento en el suelo (Peñalosa, 2008).

No obstante, en cualquier caso, en el presente estudio *Plantago major* tiene interés como testigo para evaluar la transferencia del Hg edáfico a las plantas en esta parcela. No tiene interés desde el punto de vista de la fitorremediación ya que es una planta de pequeño tamaño, con baja biomasa. Además, tiene el inconveniente de poder ser consumida por el ganado pudiendo pasar a la cadena trófica. Es interesante destacar que si fuera la única especie que formara el pasto, teniendo en cuenta la directiva europea sobre sustancias indeseables en alimentación animal (Directiva CE, 2002) que establece un límite máximo de ingesta para el mercurio de 0.1 mg kg^{-1} este pasto no se podría consumir.

Al igual que en otros estudios realizados en Almadén (Lucena *et al.*, 1993; Millán *et al.*, 2006), los análisis de correlación parecen indicar que se cumple la tendencia de que la acumulación de mercurio en la planta es mayor cuanto mayor es la concentración de mercurio en el suelo ya que existe una correlación positiva entre la concentración de mercurio total en suelo bulk y rizosfera y el mercurio en hoja. Este indicio, en el que la acumulación en planta es un reflejo de la concentración en la rizosfera, es una característica esencial que debe cumplir una especie para que pueda ser considerada como indicadora, pero se requieren otras como la de que la absorción siga una tendencia lineal en función de la concentración de contaminante (Peñalosa, 2008).

Resulta interesante destacar la existencia de correlaciones positivas entre el ratio de mercurio en PA / mercurio en raíz con la concentración de mercurio total tanto en fracción de suelo rizosférico como en bulk. Esto significa que, cuánta mayor es la concentración de mercurio total en suelo, la planta produce una traslocación mayor de Hg de la raíz a la parte aérea.

4.3.2. TRANSFERENCIA SUELO-PLANTA DEL MERCURIO

Para estudiar la transferencia de mercurio desde el suelo hasta la vegetación se puede utilizar el factor llamado factor de bioacumulación (BAF), que expresa la relación entre la concentración del elemento en la planta y la concentración del elemento fácilmente disponible en el suelo. En el presente estudio, el BAF se ha obtenido utilizando los valores de la fracción rizosférica del suelo, debido a que el cálculo del BAF usando la concentración de mercurio total podría llevarnos a resultados imprecisos, ya que no todo el mercurio presente en el suelo está disponible para ser absorbido por la planta (Esteban, 2008).

En la **Figura 19**, se representa la importancia relativa del BAF de cada tejido y en cada punto de muestreo. Se observan grandes diferencias de acumulación entre las distintas partes, siendo el BAF de la hoja el que mayor peso relativo tiene en todos los puntos, seguido de la flor y, por último, el tallo.

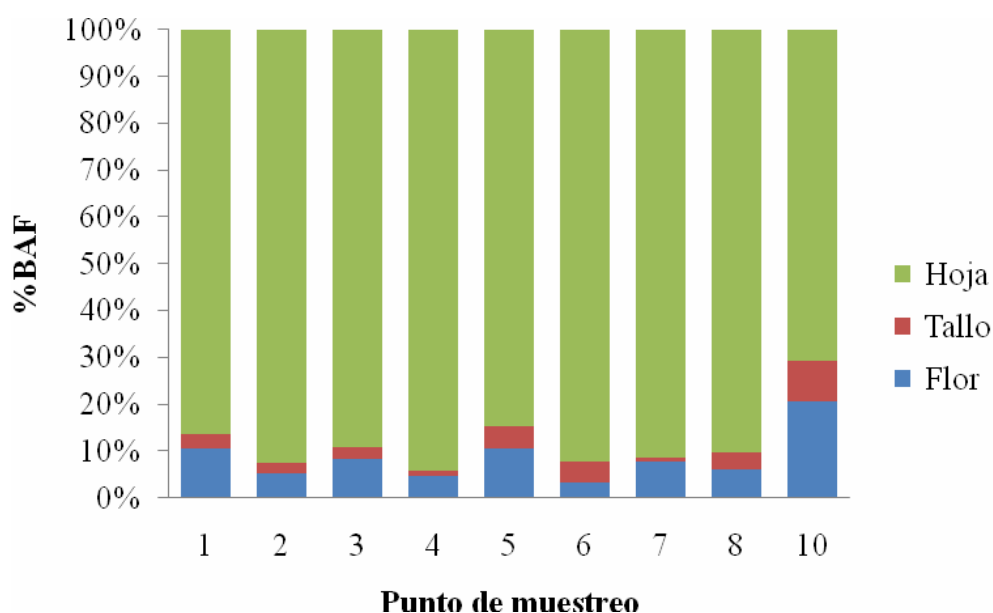


Figura 19. Representación de importancia relativa del BAF en cada tejido.

Estos resultados confirman los obtenidos anteriormente, esto es, la hoja es la parte aérea de la planta que absorbe la mayor parte del mercurio, por lo que sería la fracción de mayor riesgo potencial en caso de ingestión por parte del ganado y de mayor riesgo ecotoxicológico.

Por último es interesante destacar que existe correlación positiva y significativa entre la concentración de mercurio en raíz y el Hg intercambiable en suelo rizosférico, y, entre la concentración de mercurio traslocado al conjunto de la parte aérea de la planta y el mercurio intercambiable del suelo rizosférico. Sin embargo no existe la misma correlación positiva significativa con el Hg soluble del suelo. Este resultado podría ser interesante para plantear estudios futuros.

5. TÉCNICAS DE REMEDIACIÓN

La remediación de los suelos puede llevarse a cabo por una serie de técnicas de carácter físico-químico, térmico o biológico. Además, los tratamientos pueden hacerse *in situ*, lo que implica efectuar la descontaminación en el mismo suelo contaminado, o *ex situ* lo que supondría trasladar el suelo contaminado a un laboratorio externo para ser tratado.

Según el artículo 7.3 del Real Decreto 9/2005, del 14 de enero, por el que se establece la relación de actividades potencialmente contaminantes para el suelo y los criterios y estándares para la declaración de suelos contaminados, se exige la priorización del tratamiento *in situ*, y que su aplicación sea respetuosa con el medioambiente. De acuerdo con lo expuesto, en este apartado se va a tratar de exponer las técnicas más convenientes de acuerdo al caso que nos ocupa y a lo exigido por la legislación vigente.

Por último recalcar que, al tratarse de una zona que, por su naturaleza, tiene un fondo geoquímico de mercurio muy elevado, estas técnicas no tratan de descontaminar el suelo hasta eliminar todo el mercurio, sino de disminuir las formas más móviles y disponibles y por tanto más tóxicas para que no se corran riesgos ni para la salud medio ambiental ni para la salud humana.

5.1. FITORREMEDIACIÓN

Esta técnica de descontaminación según Raskin *et al.* (1997), se define como el uso de plantas verdes para eliminar los contaminantes del entorno o para reducir su peligrosidad. La fitorremediación puede ser de varios tipos, en la **Figura 20** se muestra qué partes de la planta están más implicadas en cada caso. Existe una desventaja bastante importante a la hora de

aplicar este tipo de tratamientos, la cual es el excesivo tiempo que se requiere para descontaminar la zona. La ventaja es que suelen ser de bajo coste. Por último con estas técnicas se cumple el requisito de que las técnicas sean *in situ* y actúen, en su caso según las especies elegidas, lo más respetuosamente posible con el medio ambiente.

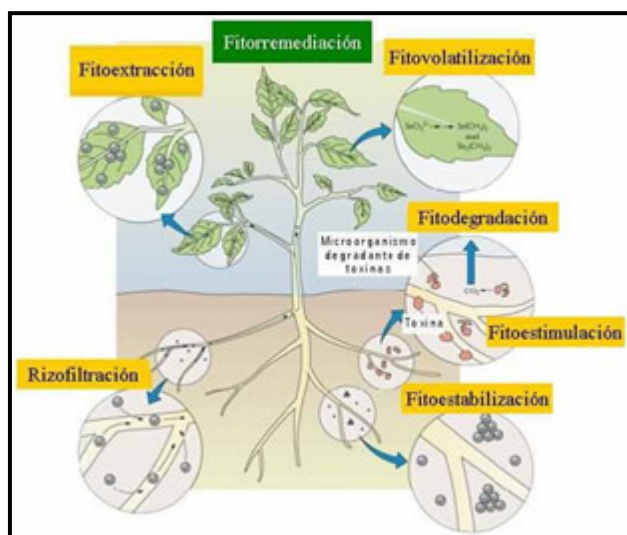


Figura 20. Esquema de las distintas partes de la planta implicadas para cada tipo de fitorremediación. (Fuente: http://www.porquebiotecnologia.com.ar/educacion/cuaderno/ec_36.asp?cuaderno=36)

La **Fitoextracción** es una fitotecnología que utiliza los sistemas de adquisición de nutrientes de las plantas para lograr la máxima acumulación de elementos contaminantes en la parte aérea (Peñalosa *et al.*, 2008) después del cosechado, el material puede ser reducido por secado, calcinación o compostaje. En caso de que se optara por la incineración de la planta debería de ser en hornos con capacidad de recoger el mercurio volatilizado. Esta tecnología de concentración deja una masa mucho

menor para eliminar que la excavación del suelo u otro medio. Una propuesta para eliminar el residuo de la fitoextracción sería su deposición en las antiguas galerías de la mina de Almadén puesto que es una zona con un fondo geológico de mercurio natural muy alto y podría no verse perjudicada, además cabe la posibilidad de que este residuo se pudiera eliminar en depósitos de seguridad, pero esta opción no sería recomendable ya que supondría un coste adicional si lo comparamos con la opción de uso de las minas de Almadén.

La base de la fitoextracción está en la concentración de metal que elimina con respecto a la biomasa total de la planta y la concentración que hay del metal en la planta retirada. Estos parámetros son los que definen el tiempo necesario para descontaminar un emplazamiento (Peñalosa *et al.*, 2008).

En función de esto, se han desarrollado dos estrategias básicas de fitoextracción: la fitoextracción inducida y la fitoextracción continua (Salt *et al.*, 1998). La primera, consiste en el crecimiento de cultivos de alta biomasa que son inducidos a acumular altas concentraciones de metales pesados por la aplicación de enmiendas químicas al suelo. Tales plantas son compatibles con prácticas agrícolas rutinarias y permiten plantaciones y cosechas repetidas de los tejidos ricos en metales. La segunda, depende de la capacidad natural de algunas plantas

de acumular, trasladar y resistir altas cantidades de metales pesados durante todo el ciclo de cultivo. Tales plantas se conocen como hiperacumuladoras (Peñalosa *et al.*, 2008). Estas plantas producen poca biomasa y no son compatibles con prácticas agrícolas rutinarias (Millán *et al.*, 2008).

La desventaja que presenta esta técnica es la generalizada baja velocidad de crecimiento de las plantas. Pero existen otros inconvenientes asociados al emplazamiento o a su uso. Por ejemplo, la planta no debe ser consumida por las personas ni por los animales pues se pueden producir intoxicaciones o fenómenos de biomagnificación del metal en la cadena trófica. Si la planta más conveniente es exótica, se pueden dar problemas invasivos sobre la vegetación autóctona circundante. Por último y, sin agotar la casuística posible, otro inconveniente que puede sobrevenir es que una especie elegida por su alto potencial descontaminador puede no estar bien adaptada al clima del lugar, haciendo fallida todas las acciones encaminadas a la descontaminación del lugar.

Además, no se puede utilizar cualquier planta ya que se tienen que cumplir unas características tales como que la plantas cumplan una serie de requisitos. Por ejemplo que sean autóctonas (para no introducir especies exóticas), que no sirvan para consumo humano ni animal para evitar fomentar la biomagnificación del mercurio en la cadena trófica y que tengan una elevada cantidad de biomasa para que acumulen más cantidad del metal (Peñalosa *et al.*, 2008).

La **Fitovolatilización** se basa en la capacidad de las plantas para absorber el contaminante presente en la disolución del suelo y trasladarlo a la parte aérea donde el contaminante absorbido se expulsa a la atmósfera a través de los estomas de la planta.

En nuestro caso, no es la técnica que más se recomienda puesto que se debería de conocer la cantidad de mercurio que se emite a la atmósfera y asegurarse de que no hay riesgo de que ese mercurio vuelva a la corteza terrestre mediante deposición atmosférica. Por otro lado, las especies que se necesitan para el caso de la descontaminación del mercurio son muy limitadas y éstas deben de tener la capacidad de adaptarse a la parcela objeto de estudio, por lo que la especie de la planta es un factor muy limitante.

La **Rizofiltración** se trata de una técnica que podría ser aconsejable en zonas atravesadas por un cauce de agua para evitar que el mercurio pase a formas metiladas. La técnica se basa en crear una barrera de filtración a partir de una red de raíces que absorben el contaminante y evitan que lleguen al cauce.

La **Fitoestabilización** trata de emplear la capacidad de la planta para exudar compuestos radiculares que tengan la capacidad para inmovilizar el contaminante y mantenerlo en su forma menos tóxica, móvil o disponible para las plantas.

La **Fitoestimulación** consiste en utilizar la planta como hábitat de especies bacteriológicas que pueden ser naturales de la zona o que se puedan añadir, con el objeto de conseguir transformar el contaminante mediante reacciones biológicas a una forma que interese más, como podría ser una forma de mayor disponibilidad para las plantas, optimizando el poder extractor del vegetal.

Por último y, aunque no sea una técnica de descontaminación, puede optarse por una estrategia que si bien no retire el contaminante del emplazamiento, permita ciertos usos del terreno. Sería el caso de una rehabilitación ecológica. Por ejemplo, pueden utilizarse especies vegetales exclusoras, capaces de vivir con la presencia del contaminante pero sin absorberlo, en estos casos, los usos agrícolas, ganaderos o de rehabilitación del paisaje son posibles.

5.2. ENMIENDA PARA REDUCIR LA FITOTOXICIDAD

Las formas más tóxicas del mercurio son las más móviles (especialmente la fracción soluble y la intercambiable) ya que son las que tienen más facilidad para alcanzar las aguas subterráneas o ser absorbidas por las plantas. Por esto se propone añadir una enmienda al suelo con un alto contenido en materia orgánica, óxidos de hierro o arcillas. Posteriormente se puede disminuir la concentración del mercurio combinando esta técnica con una fitorremediación. En la zona objeto de estudio esta técnica quedaría justificada puesto que se ha visto que hay una elevada concentración de mercurio soluble.

5.3. BIOVENTING

El bioventing es una técnica que se puede llevar tanto *in situ* como *ex situ*. Consiste en la combinación de la ventilación del terreno con la utilización de microorganismos autóctonos. Con la aireación que se aporta se estimula la actividad de la bacteria mercurio reductasa, que mediante una reducción convierte el Hg^{2+} en Hg^0 . El mercurio elemental (Hg^0) es volátil por lo que saldría a la atmósfera (Guerrero *et al.*, 2010). Esta reacción emite gases

de mercurio que pueden ser tóxicas para el entorno por lo que hay que diseñar un dispositivo que mida la concentración de mercurio que se emite, y en el caso de que superara los límites esperables se debería de diseñar un equipo que limpiara los gases generados.

5.4. PRECIPITACIÓN DEL MERCURIO

Según Guerrero *et al.* (2010) el mercurio se puede convertir en sulfuro de mercurio (cinabrio) por la reacción directa del Hg^{2+} con el Hg_2S producido anaeróbicamente por la bacteria *Clostridium clochlearium*. Aunque también consta que de forma aerobia esta capacidad de formación de HgS también la tiene *Klebsiella aerogens*.

Por lo que este método que también es *in situ*, resultaría interesante si se consiguiera que estas cepas colonizaran adecuadamente el hábitat ya que son respetuosas con el medioambiente y posiblemente resultara económico y seguro al pasar el mercurio a una forma mineral estable.

5.5. ELECTRODESCONTAMINACIÓN

La técnica *in situ* de electrodescontaminación consiste básicamente en la aplicación de una corriente eléctrica continua de baja intensidad entre una serie de electrodos insertados en el suelo contaminado y saturado generalmente con agua u otro surfactante que actúa como medio conductor (García-Herruzo *et al.*, 2000). Los contaminantes iónicos son transportados a través de la fase fluida hacia el ánodo o hacia el cátodo según sea el signo de su carga. El transporte de las especies cargadas en la fase fluida del suelo está regido principalmente por los fenómenos de electromigración aunque también pueden darse otros mecanismos de transporte como la difusión (Acar y Alshawabkeh, 1993).

Según un estudio realizado con esta técnica en suelos de Almadén (García *et al.*, 2007) se ha concluido que la electrodescontaminación mejorada con yoduro es capaz de extraer mercurio del suelo contaminado. Por otro lado, se ve aumentado el mercurio soluble por lo que se debería de complementar la técnica con otras como la fitoextracción o la adición de enmiendas.

Esta técnica no tiene por qué afectar a la biota del suelo por lo que podría resultar bastante interesante además de que es una técnica *in situ*. La desventaja es que puede resultar muy cara si el volumen de suelo a tratar es grande.

5.6. SOLARIZACIÓN

Mediante la colocación de una lámina de plástico transparente sobre el suelo, y gracias a la energía aportada por el Sol, se consigue aumentar la temperatura del suelo. De esta forma se consigue la volatilización del mercurio elemental.

En realidad se trata de un tipo de desorción térmica *in situ* puesto que la base de eliminación del mercurio es la misma; separación del mercurio del suelo por aumento de temperatura.

Esta propuesta resulta interesante ya que como se ha observado, hay una cantidad significativa de mercurio en forma elemental (volátil) y no supone un coste muy elevado si se comprueba que las emisiones producidas están por debajo de los niveles de mercurio que se permiten. Aunque es interesante y previene ante cualquier incidencia, diseñar un sistema de recogida de mercurio volátil.

Si durante el tratamiento las emisiones de mercurio superaran los niveles aceptables según la normativa vigente, se debería crear un sistema de limpieza. Uno de los más recomendables por su seguridad sería mediante *scrubber*, pero en este caso se debería contar con un método de limpieza de las aguas resultantes pues también portarían mercurio, lo cual encarecería notoriamente la descontaminación. Por lo que la rentabilidad económica de esta técnica se debe estimar cuando se sepa la cantidad de mercurio volátil que se produce.

Ros *et al.* (2002) señalan que la biofumigación con solarización realizada de forma reiterada no sólo no tiene efectos negativos sobre el suelo, sino que mejora los valores nutricionales del suelo, aumenta los contenidos de materia orgánica y revitaliza la actividad microbiana y los ciclos biogeoquímicos (Bello, 1998; León de *et al.*, 2002).

5.7. DESORCIÓN TÉRMICA

Se trata de un tratamiento térmico, que puede llevarse a cabo *on site* o *ex situ*, por el que se somete al suelo a unas temperaturas más bajas que la incineración (90-320° C, desorción térmica a baja temperatura; 320-560° C, desorción térmica a alta temperatura). Con esto se pretende conseguir la separación de los contaminantes de la matriz del suelo, en vez de la destrucción de los contaminantes, objetivo de la incineración.

En concreto, durante la desorción térmica a baja temperatura, el suelo mantiene sus propiedades físicas y sus componentes orgánicos, lo que hace posible que pueda conservar su capacidad para soportar una futura actividad biológica. Según Chang y Yen (2006) mediante la desorción térmica de baja temperatura se pueden recuperar suelos contaminados con mercurio.

La desventaja que surge en este tipo de tratamiento es que puede resultar en un coste elevado y que es difícil que sea *in situ*, como el Real Decreto 9/2005 aconseja. Por un lado, el tratamiento *on site* consiste en la utilización de unos camiones que resultan caros y en el caso del tratamiento *ex situ* aumenta el coste puesto que implica un transporte aparte del tratamiento. Además, en general y en ambos casos, el suelo resultante del tratamiento suele necesitar ser recuperado mediante algún tipo de enmienda.

5.8. LAVADO DE SUELOS

Se trata de un tratamiento *on site* o *ex situ* basado en separar el suelo contaminado de la matriz, acondicionarlo para añadirle extractantes químicos que permitan solubilizar todos los contaminantes y a continuación lavar el suelo con agua.

Del tratamiento se extrae un lixiviado que se debe descontaminar a posteriori. Después de esto el suelo se devuelve a su lugar de origen.

La eficacia de esta técnica depende del grado de adsorción del contaminante, lo cual está controlado por una serie de propiedades edáficas como el pH, la textura, la capacidad de intercambio catiónico, la mineralogía o el contenido en materia orgánica y otros factores del suelo como el tiempo que hace que el suelo está contaminado o la presencia de otros elementos tóxicos (Reed *et al.*, 1996).

Esta técnica es la menos recomendable puesto que se trata de un tratamiento *ex situ* que utiliza reactivos químicos y deja como resultado final un suelo que ha perdido casi todas sus características edafológicas por lo que hay que recuperarlo, lo cual supone un gasto adicional. Además también se crea un lixiviado cuyo tratamiento implica altos costos ya que el material se encuentra en una sola matriz junto a los extractantes químicos usados.

6. CONCLUSIONES

Las conclusiones que se pueden extraer del presente estudio de la parcela Huerta del Rey de Almadén son:

- La caracterización físico-química del suelo realizada ha determinado que el suelo de la finca presenta un pH ligeramente ácido con efectos tóxicos mínimos para el desarrollo de la vegetación; una conductividad eléctrica inferior a $500 \mu\text{S cm}^{-1}$, pudiéndose considerar no salino; y con unas tasas en materia orgánica inferiores al 3%, con bajo contenido de agregados. No obstante lo dicho, se ha encontrado una localización, en el extremo sudeste de la parcela (punto 7) que destaca por presentar altos valores en todos los parámetros anteriormente referidos, además de valores de mercurio total, soluble e intercambiable también notablemente altos.
- La concentración de mercurio total en suelo es elevada. Se encuentra dentro de los niveles considerados normales para un distrito minero de mercurio pero supera los niveles fijados por las normativas. Los resultados obtenidos son similares a los registrados por Millán *et al.* (2011) en Almadenejos, una zona con características y antecedentes históricos comparables a los de la parcela de Huerta del Rey.
- El mercurio total en la fracción de suelo bulk es significativamente mayor y del orden de dos a tres veces, al obtenido en la fracción rizosfera, siendo notablemente más alto en el punto 7.
- La concentración de mercurio fácilmente disponible en suelo para la planta representa sólo una pequeña fracción respecto del total, menos del 0,35%, siendo el mercurio soluble una fracción menor del 0,28%. Sin embargo, la fracción de mercurio soluble llega a concentraciones de hasta $1,33 \pm 0.14 \text{ mg kg}^{-1}$, que supera ampliamente límites establecidos por distintas legislaciones para mercurio total. Esto supone un potencial riesgo de contaminación de las aguas subterráneas debido a posibles procesos de lixiviación.
- No existen diferencias significativas entre la concentración de mercurio en la raíz y en la parte aérea del *Plantago major*, pero sí entre las distintas fracciones consideradas (raíz, tallo, hoja y flor) alcanzándose las mayores concentraciones de mercurio en raíz, seguidos de la hoja, la flor y el tallo.

- El factor de bioacumulación indica que el mercurio disponible en el suelo se acumula principalmente en la hoja en comparación con el resto de tejidos aéreos. Destaca, por ser el valor más alto, el factor de bioacumulación en hoja del punto 7.
- Existen correlaciones estadísticamente significativas y positivas entre el ratio concentración de Hg en PA / Hg en raíz y la concentración total de mercurio tanto para suelo bulk como para la rizosfera, es decir, cuanto mayor es la concentración de mercurio total en suelo, mayor es la traslocación de mercurio de la raíz a la parte aérea.
- Como resultado de la evaluación de las técnicas de recuperación del suelo de Huerta del Rey; las técnicas de fitorremediación están limitadas por tratarse de una zona con un elevado fondo geoquímico de mercurio. Aunque se podría plantear la posibilidad de crear un sistema de descontaminación por fitorremediación si no se prevé un uso del suelo a corto plazo. Para llevar a cabo esta opción, se ha observado en el trabajo que existe transferencia de mercurio del suelo a la especie testigo, *Plantago major*; sin embargo, no es la especie más apropiada. Debería realizarse un estudio para poder emplear una planta autóctona, con elevada biomasa y suficiente capacidad para absorber y traslocar a su parte aérea una cantidad significativa de mercurio. La electrodescontaminación resulta interesante por ser una técnica *in situ* que no afecta a la biota del suelo y que podría emplearse en puntos con elevada concentración de mercurio, tales como el punto 7, aunque está limitada por el elevado coste. La otra técnica que resultaría también interesante es la solarización. El inconveniente de dicha técnica es el coste que lleva asociado el diseño de un sistema de recogida y depuración de gases, muy recomendable aunque no se superen los límites legales.
- En cuanto al uso del terreno como pastizal, habría que analizar el resto de especies forrajeras presentes y estudiar cuáles son las más consumidas por el ganado. Si *Plantago major* fuese la única fuente de alimento del ganado en esta parcela, en ella no se debería realizar este tipo de uso ganadero.

4. BIBLIOGRAFÍA

- **ACAR, Y.B.,** y **ALSHAWABKEH, A.N.,** 1993. Principles of electrokinetic remediation. Environ. Sci. Technol., 27, pp 2638-2647. American Society for Testing and Materials, 2007. www.astm.org (Mayo 2011).
- **ADRIANO, D.C.,** 2001. Mercury. En: Trace Elements in the Terrestrial Environment. 2nd Edition. Springer, New York, EEUU, pp. 411-458.
- **ALTEC,** 2000. Ama 254. Advanced Mercury Analyser. Operating Manual. Windows version. Altec Ltd., pp 5.
- **ANDERSSON, A.,** 1979. Mercury in soil. En: Nriagu, J.O. The Biogeochemistry of mercury in the Environment. Elsevier, Amsterdam, pp 79-112.
- **BAKER, A.J.M.,** 1981. Accumulators and excluders – Strategies in the response of plants to heavy metals. Journal of plant nutrition, 3 (1-4), 643-654.
- **BAUTISTA ZÚÑIGA, F.,** 1999. Introducción al estudio de la contaminación de suelos por metales pesados. UADY. Disponible en: <http://books.google.es/> (Mayo 2011)
- **BELLO, A.** y **TELLO, J.,** 1998. El bromuro de metilo se suprime como fumigante del suelo. Phytoma España, 101, pp: 10-21.
- **BOENING, D.W.,** 2000. Ecological effects, transport and fate of Mercury: A general review. Chemosphere 40: 1335-1351
- **BWRHABTGG,** 1995. Besluit van de Vlaamse Regering Houdende Achtergrondwaarden. Bodernsaneringsnomen en Toepassingen van Gereinigde Grond. Brussels, Belgium: Ministry of Environment and Employment.
- **CARLOS, M., COLOMER, F.J., BOVEA, M.D., GALLARDO, A.,** 2009. Estudio comparativo de legislación referente a la incineración de combustibles derivados de residuos. Universitat Jaume I. Castelló de la Plana. <http://www.redisa.uji.es/artSim2009/Grupo2/2b-Carlos-Espana-001.pdf> (Junio 2011)
- **CARRASCO, J., MANZANARES, P., TALLOS, A. y RECREO, F.,** 2001. Bioremediation and economical renewal of industrially degraded land using biomass fuel crops. BIORENEW. European Commission of Degraded land Using Biomass.
- **CARRASCO, S. y MILLÁN, R.,** 2008. Influencia de la adición de fertilizantes y enmendantes orgánicos en suelos contaminados por mercurio. Informes técnicos del CIEMAT. Nº 1153.

- **CHANG, T. C., y YEN, J. H., 2006.** On-site mercury-contaminated soils remediation by using thermal desorption technology. *Journal of Hazardous Materials*, 128 (2-3):208.
- **COMUNIDAD AUTÓNOMA DE MADRID, 2006.** ORDEN 2770/2006, de 11 de agosto, del Consejero de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio, por la que se procede al establecimiento de niveles genéricos de referencia de metales pesados y otros elementos traza en suelos contaminados de la Comunidad de Madrid. BOCM Núm. 204, lunes 28 de agosto de 2006, pag. 29.
- **COOKER, W.B., 1995.** Processes effecting mercury and associated metals in lake sediment columns, Canadian Mercury Network Workshop, Geological Survey of Canada, Ottawa, Ontario.
- **DAVIS, A., BLOOM, N., SHANE, S., QUE HEE., 1997.** The environmental geochemistry and bioaccessibility of mercury in soils and sediments: A review. *Risk Analysis*, Vol. 17, Nº 5 pp 557-569.
- **DIRECTIVA CE, 2002.** Directive of the European Parliament and of the Council of 7 May 2002 on undesirable substances in animal feed 2002/32/EC.
- **DIRECTIVA CE, 2008.** Directive of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on environmental quality standards in the field of water policy 2008/105/EC.
- **DOADRIO VILLAREJO, A.L., 2004.** Ecotoxicología y acción toxicológica del mercurio. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*, Nº 44, pp 933-959.
- **EPA (United States Environmental Protection Agency), 1996.** 3052 Method. Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices. Disponible en la dirección: <http://www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3052.pdf>
- **EPA (United States Environmental Protection Agency), 1997.** Mercury study report to congress, Volume III, fate and transport of mercury in the environment. Disponible en la dirección: <http://www.epa.gov/ttn/caaa/t3/reports/volume3.pdf>
- **ESTEBAN, E., 2007.** Transferencia suelo-planta de los metales pesados. En: *Procesos de degradación y recuperación de suelos. Serie Ponencias. Ministerio de Educación y Ciencia. Ed. CIEMAT, Madrid, España, Capítulo 14, pp. 239-252.*
- **ESTRATEGIA COMUNITARIA SOBRE EL MERCURIO, 2005.** Comisión de las Comunidades Europeas, Bruselas, 28-01-2005.

- **FANG, S.C.**, 1978. Sorption and transformation in mercury vapor by dry soil. Environ. Sci. Technol. 12, pp 285-288.
- **FARRAH, H.**, y **PICKERING, W.F.**, 1978. Extraction of heavy metal ions sorbed on clays. Water Air Soil Pollut. 9: pp 491–498.
- **FERNÁNDEZ, R.**, 2006. Desarrollo y aplicación de nuevas metodologías analíticas para el Estudio del fraccionamiento y movilidad del mercurio en muestras medioambientales (Tesis Doctoral). Madrid. UAM – CIEMAT.
- **FERNÁNDEZ, R.**, **SIERRA, M.J.**, **VILLADÓNIGA, M.**, **MILLÁN, R.**, 2010. Análisis de parámetros edáficos en almadenejos. Comportamiento del mercurio en el sistema suelo- planta. Informe técnico CIEMAT 1193. Madrid.
- **FERREIRA, L.**, **DURÁN, R.**, **ALFONSO, M.**, 2010. El mercurio como contaminante ambiental y agente neurotóxico (Tesis doctoral). Universidad de Vigo.
- **FIGUEROA, A.**, 1990. Mercurio y Metilmercurio. En Curso básico de toxicología ambiental [L.A. Albert] Ed. OPS/Limusa Noriega. Capítulo 11, 183-204 pp. <http://www.bvsde.ops-oms.org/bvsacd/eco/016750/016750-mercurio.pdf>
- **FREAR, D.E.H.**, y **DILLS, L.E.**, 1967. Mechanism of the insecticidal action of mercury and mercury salts. J. Econ. Entomol. 60: pp 970–974.
- **GAONA MARTÍNEZ, X.**, 2004. El mercurio como contaminante global. Desarrollo de metodologías para su determinación en suelos contaminados y estrategias para la reducción de su liberación al medio ambiente. Tesis de la Universidad Autónoma de Barcelona, Departamento de Química, Unidad de Química Analítica.
- **GARCÍA, A.**, **RODRÍGUEZ, JM.**, **GARCÍA, F.**, **VEREDA, C.**, **GÓMEZ, C.**, 2007. Aplicación de la técnica de electrodescontaminación a un suelo contaminado por mercurio de la zona de Almadén. Dpto. de Ingeniería Química, Universidad de Málaga. Málaga
- **GARCÍA-HERRUZO, F.**, **RODRÍGUEZ-MAROTO, J. M.**, **GARCÍA-DELGADO, R. A.**, **GÓMEZ-LAHOZ, C.** y **VEREDA ALONSO, C.**, 2000. Limpieza de suelos contaminados por electrodescontaminación I. Fundamentos y aspectos básicos. Ingeniería Química, pp.215-220.
- **GEOLOGICAL SURVEY (U.S.)**, 1970. Mercury in the Enviroment. United States. Vol 713. Government Printing Office, Washington. <http://books.google.es/books?id=CcRUAAAAYAAJ&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false> (Junio 2011).

- **GOCHFELD, M.**, 2003. Cases of mercury exposure, bioavailability, and absorption. *Toxicol. Environ. Saf.* 56, 174-179.
- **GOLDWATER, L.**, 1971. Mercury: A history of quicksilver. Baltimore: York Press.
- **GUERRERO, J.J.** y **ORTIZ, Z.**, 2010. Biorremediación de contaminación por mercurio en minería informal. BIOMTEK Research EIRL. <http://es.scribd.com/doc/40618274/BIORREMEDIACION-DE-CONTAMINACION-POR-MERCURIO-Guerrero-J-Ortiz-Z>.
- **GRAY, J.E.**, Hines, M.E., Higuera, P., L., Adattlo, I., Lasorsa, B.K., 2004. Mercury speciation and microbial transformations in mine wastes, stream sediments, and surface waters at the Almadén Mining District, Spain. *Environmental Science Technology* 38, pp 4285-4292.
- **HIGUERAS, P.**, OYARZUN, R., MUNHÁ, J., MORATA, D., 2000. The Almadén metallogenic cluster (Ciudad Real, Spain): alkaline magmatism leading to mineralization process at an intraplate tectonic setting. *Revista de la Sociedad Geológica de España*, nº 13, pp 105- 119.
- **HIGUERAS, P.**, ORYAZUM, R., BIESTER, H., LILLO J., LORENZO, S., 2003. A first insight into mercury distribution and speciation in soils from the Almadén mining district, Spain. *Journal of Geochemical Exploration* 80, pp 95-104.
- **HIGUERAS, P.**, MOLINA, J.A., OYARZÚN, R., LILLO, J., ESBRI, J.M., 2004. Identification of the plant communities and hyperaccumulators in mercury contaminated sectors of the Almadén district, Spain. *Materials and Geoenvironment*; 51, pp 103-107.
- **HIGUERAS, P.**, OYARZUN, R., LILLO, J., SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ, J.C., MOLINA, J.A., ESBRI, J.M., LORENZO, S., 2006. The Almadén district (Spain): Anatomy of one of the world's largest Hg-contaminated sites. *Science of The Total Environment* 356 (1-3), pp:112- 124.
- **HIGUERAS, P.**, OYARZUN, R., 2006. Contaminación, Reales Decretos y el legado minero en España. http://www.ucm.es/info/crismine/HTML_Almacen/Almacen_contaminacion.htm
- **JIMENEZ, M.**, 2009. Tesis Doctoral. Desarrollo de métodos analíticos para especiación de mercurio y su aplicación a la comarca de Almadén. Universidad de Castilla La Mancha. Cuenca.
- **JONASSON, IR.**, 1970. Pap Geologic Survey Can. Nº 70-57. pp 39 .

- **KENDORFF, H.** y **SCHNITZER, M.**, 1990. *Geochimica Cosmochimica. Acta* 44: 1701-1708.
- **KRISHNAN, S.V.**, **GULLETT, B.K.**, **JOZEWICZ, W.**, 1994. Sorption of elemental mercury by activated carbons, *Environ. Sei. Technol.* 28(8), pp 1506-1512.
- **LANDA, E. R.**, 1976. Microbial aspects of the volatile loss of applied mercury (II) from soils. *J. Environ. Quality*, pp 84-86.
- **LASAT, M.M.**, 2002. Phytoextraction of toxic metals: A review of biological mechanisms. *J. Environ. Quality*, 31: 109-120.
- **LEÓN L., DE, ACOSTA P., BELLO A.**, 2002. Investigación participativa y compromiso social para una gestión ecológica en horticultura. V Congreso SEAE y I Congreso Iberoamericano de Agroecología. Gijón, España, 16-21 de Sep., pp 389-397.
- **LINDBERG, S.E.**, **JACKSON, D.R.**, **HUCKABEE, J.W.**, **JANZEN, S.A.**, **LEVIN, M.J.**, **LUNA, J.R.**, 1979. Atmospheric emission and plant uptake of mercury from agricultural soils near the Almadén mercury mine. *J. Environ. Qual.* 8: 572-578.
- **LOMINCHAR M.A.**, **SIERRA, M.J.**, **RODRÍGUEZ, J.**, **MILLÁN, R.**, 2010. Estudio del Comportamiento y distribución del mercurio presente en muestras de suelo recogidas en la ribera del río Valdeazogues. Informe técnico CIEMAT 1215. Madrid.
- **LÓPEZ-TEJEDOR, I.**, **SIERRA, M.J.**, **RODRÍGUEZ, J.**, **MILLÁN, R.**, 2010. Estudio de la absorción y distribución del mercurio en *Nerium oleander* L. en la ribera del río Valdeazogues (Estación de Chillón - Almadén). Informe técnico CIEMAT 1214. Madrid.
- **LUCENA, J.J.**, **HERNÁNDEZ, L.E.**, **OLMOS, S.**, **CARPENA, R.**, 1992. Valoración de métodos de extracción de mercurio en suelos contaminados. *Suelo y planta* 2. pp. 747-755.
- **LUCENA, J.J.**, **HERNÁNDEZ, L.E.**, **CARPENA-RUIZ, R.O.**, 1993. Micronutrient content in leguminous plants contaminated with mercury. En: *Fragoso, M.C.A., Van Beusichen, M.L. (Eds.). Optimization of Plant Nutrition.* Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 531-537.
- **MAPA** (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación), 1994. Métodos oficiales de Análisis.
- **MATILAINEN, T.**, **VERTA, M.**, **Y CORONEN, H.**, **WSI-RAUVA, A.**, **NIEMI, M.**, 2001. Behaviour of mercury in soil profiles: Impact of increased precipitation, acidity and fertilization of mercury methylation. *Water, Air and Soil Pollution* 125: 105-119.

- **MILLÁN, R.**, Schimd, T., Vera, R., Tallos, A., Recreo, F., Alcalde, V., 2005. Diseño, construcción y extracción de lisímetros de experimentación. *Retema* 108, pp 52-58.
- **MILLÁN, R.**, GAMARRA, R., SCHMID, T., SIERRA, M.J., QUEJIDO, A.J., SÁNCHEZ, D.M., CARDONA, A.I., FERNÁNDEZ, M., VERA, R., 2006. Mercury content in flora and soils for the Almadén mining area (Spain). *Science of the Total Environment* 368: 79-87.
- **MILLÁN, R.**, CARPENA, R.O., SCHMID, T., SIERRA, M.J., MORENO, E., PEÑALOSA, J., GAMARRA, R., ESTEBAN, E., 2007. Rehabilitación de suelos contaminados con mercurio: estrategias aplicables en el área de Almadén. *Ecosistemas*.
- **MILLÁN, R.**, LOBO, C., 2008. Contaminación de suelos. Tecnologías para su recuperación. Serie Ponencias. Ed CIEMAT.
- **MILLÁN, R.**, SCHMID, T., SIERRA, M.J., CARRASCO-GIL, S., VILLADÓNIGA, M., RICO, C., SÁNCHEZ LEDESMA, D.M., DÍAZ PUENTE, F.J., 2011. Spatial variation of biological and soil properties in an area affected by a metallurgical mercury plant: Almadenejos (Spain). *Applied Geochemistry* 26: 174–181.
- **MOLINA, J.A.**, OYARZUN, R., ESBRI, J.M., HIGUERAS, P., 2006. Mercury accumulation in soils and plants in the Almadén mining district, Spain: one of the most contaminated sites on Earth. *Environmental Geochemistry and Health* 28 (5), pp 487-498.
- **MORENO-JIMÉNEZ, E.**, GAMARRA, R., CARPENA-RUIZ, R.O., MILLÁN, R., PEÑALOSA, J.M., ESTEBAN, E., 2005. Mercury bioaccumulation and phytotoxicity in two wild plant speceies of Almadén area. *Chemosphere* 162, pp 854-859.
- **NMHPPE** (Netherlands Ministry of Housing. Physical Planning and Environment), 1994. Environmental quality standards for soil and water. Leidschendam, Holland..
- **PATRA, M.** y SHARMA, A., 2000. Mercury toxicity in plants. *The Botanical Review* 66 (3), pp 379-422.
- **PEÑALOSA, J.M.** y ESTEBAN, E., 2006. Mercury bioaccumulation and phytotoxicity in two wild plant species of Almadén area. *Chemosphere* 63 (11), pp 1969-1973.
- **PEÑALOSA, J.M.**, 2008. Fitoextracción y fitoestabilización de metales pesados. En *Contaminación de suelos, tecnologías para la recuperación*. Dpto. de Química Agrícola. Universidad Autónoma de Madrid. Serie de ponencias. Eds. Rocío Millán y Carmen Lobo. CIEMAT. Madrid.

- **PORTA, J.**, LÓPEZ-ACEVEDO, M., ROQUERO, C., 1999. Edafología para la agricultura y el medio ambiente. 2ª edición. Ediciones Mundi-prensa. Bilbao. España.
- **QUEVAUVILLER, PH.**, RAURET, G., LÓPEZ-SÁNCHEZ, J.F., RUBIO, R., URE, A., MUNTAU, H., 1997. Certification of trace metal extractable contents in a sediment reference material (CRM 601) following a three-step sequential extraction procedure. Science of The Total Environment 205 (2-3), pp 223-234.
- **RASKIN, I.**, Smith, R.D., Salt, D.E., 1997. Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. Current Opinion in Biotechnology, 8 (2), pp 221-226.
- **REAL DECRETO 812/1988**, de 20 de julio de reestructuración de activos de minas de Almadén y Arrayanes, S.A. (BOE n. 179 de 27/7/1988).
- **REAL DECRETO 9/2005**, de 14 de enero, por el que se establece la relación de actividades potencialmente contaminantes del suelo y los criterios y estándares para la declaración de suelos contaminados. (BOE 15/2005 de 18/1/2005).
- **REED, B. E.**, CARRIERE, P. C., MOORE, R., 1996. Flushing of a Pb(II) contaminated soil using HCl, EDTA, and CaCl₂. Journal of Environmental Engineering, 122 (1). pp 48-50.
- **REGLAMENTO (CE) N° 1102/2008** del Parlamento Europeo y del Consejo, de 22 de octubre de 2008, relativo a la prohibición de la exportación de mercurio metálico y ciertos compuestos y mezclas de mercurio y al almacenamiento seguro de mercurio metálico.
- **REGLAMENTO (CE) n° 1881/2006** de 19 de diciembre de 2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. (DOL 364 de 20/12/2006).
- **ROGERS, R.D.**, 1976. Methylation of mercury in agricultural soils. J. Environ. Qual. 5: pp 454-458.
- **ROS M.**, PASCUAL J.A., GARCÍA C., HERNÁNDEZ T., GUERRERO M.M., LACASA A., FERNÁNDEZ P., ROS C., GUIRAO P., 2002. Efectos de la biofumigación con solarización sobre las propiedades de los suelos para cultivos de pimiento en agricultura ecológica. V Congreso de la SEAE. I Congreso Iberoamericano de Agroecología. Gijón, Asturias-España, 16-21 sept. 2002, pp 1021.
- **SÁNCHEZ, D.M.**, QUEJIDO, A.J., FERNÁNDEZ, M., HERNÁNDEZ, C., SCHMID, T., MILLÁN, R., GONZÁLEZ, M., ALDEA, M., MARTÍN, R., MORANTE, R., 2005. Mercury and trace element fractionation in Almaden soils by

application of different sequential extraction procedures. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 381, pp 1507-1513.

- **SCHIMD, T., MILLÁN, R., VERA, R., TALLOS, A., RECREO, F., QUEJIDO, A., SÁNCHEZ, M.D., FERNÁNDEZ, M., 2003.** The distribution of mercury in a characterized soils affected by mining activities. 8TH International FZK/TNO Conference on contaminated soil. (Consoil 2003). Conference Proceedings. pp. 3287-3294.
- **SCHMID, T., MILLÁN, R., SANCHEZ, D., QUEJIDO, A., FERNANDEZ, M., SIERRA, M.J., PIROTTA, I., VERA, R., 2005.** Mining influences on soils in the district of Almadén (Spain). Consoil 2005
- **SEOÁNEZ, M., CHACÓN, A.J., GUTIÉRREZ DE OJESTO, A., ANGULO, I., 1999.** Contaminación del suelo: estudios, tratamiento y gestión. Ed: Mundi-Prensa, colección Ingeniería del Medio Ambiente. Madrid.
- **SIERRA HERRÁIZ, M.J., 2008a.** Tesis Doctoral: Alternativas de uso agrícola para suelos con altos contenidos de mercurio: aplicación a la comarca minera de Almadén. CIEMAT/UAM. Madrid,
- **SIERRA, M.J., MILLÁN, R., ESTEBAN, E., CARDONA, A.I., SCHMID, T., 2008b.** Evaluation of mercury uptake and distribution in *Vicia sativa* L. applying two different study scales: greenhouse conditions and lysimeter experiments. *J. Geochem. Explor.* 96: 203–209.
- **SIERRA, M.J., MILLÁN, R., ESTEBAN, E., 2008c.** Potential use of *Solanum melongena* in agricultural areas with high mercury background concentrations. *Food Chem. Toxicol.* 46: pp 2143–2149.
- **SIERRA, M.J., MILLÁN, R., ESTEBAN, E., 2009.** Mercury uptake and distribution in *Lavandula stoechas* plants grown in soil from Almadén district (Spain). *Food Chem. Toxicol.* 47: pp 2761–2767.
- **SIERRA, M.J., MILLÁN, R., CARDONA, A.I., SCHMID, T., 2011.** Potential cultivation of *Hordeum vulgare* L. in soils with high mercury background concentrations. *Int. J. Phytoremedia.* 13: pp 765–778.
- **SIERRA M.J., RODRÍGUEZ-ALONSO J., MILLÁN R., 2012.** Impact of the lavender rhizosphere on the mercury uptake in field conditions. *Chemosphere* 89: pp 1457–1466.

- **SOIL SURVEY STAFF**, 1999. Soil taxonomy. A basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys. Second edition, United States Department of Agriculture, Agricultural Handbook Number 436.
- **SUE, Y.**, 1998. Mercury. En: Goldfrank LR, Flomenbaum NE; Lewin NA, Weisman RS, Howland MA, Hoffman RS. Ed: Goldfrank's Toxicologic Emergencies, 6ª Edición. Stamford: Appleton and Lange, pp 1320 - 1331.
- **SUMMERS, A. O.** y **SILVER, S.**, 1978. Microbial transformations in metals. Annu. Rev. Microbiol., 32, pp 617 -672.
- **TESSIER, A.**, **CAMBELL, P.G.C.**, **BISSON, M.**, 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals, Analytical Chemistry, 51, pp 844-851.
- **WARREN, H.V.**, **DELAVALT, R.E.**, **BARASKO, J.**, 1966. Economical Geology 61: pp 1010-1028.
- **WHO (World Health Organization)**, 1999. World health report. Making a difference. World Health Organization, Geneva, Switzerland. http://www.who.int/whr/1999/en/whr99_en.pdf (Junio 2011).
- **WHO (World Health Organization)**, 2007. Preventing disease through healthy environments. Exposure to mercury: A major public health concern.
- **WHO (World Health Organization)**, 2007. Health risks of heavy metals from long range transboundary air pollution. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- **WOLLAST, R.**, **BILLEN, G.**, **MACKENZIE, F.T.**, 1975. Behaviour of mercury in natural systems and its global cycles. *Ecological Toxicology Research: Effects of heavy metal and organohalogen compounds*. Proceeding of a NATO Science Conference. London, N.Y Plenum Press, pp 145 - 166.
- **YIN, Y.**, **ALLEN H.E.**, **LI, Y.**, **HUANG C.P.**, **SANDERS P.F.**, 1996. Heavy metals in the environment. J Environ Qual 25: pp 837-844.

