

4.- METODOLOGÍA PARA DECLARAR UN SUELO CONTAMINADO

ÍNDICE CAPÍTULO 4.-

4.1. EL MUESTREO Y LA CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS	175
4.1.1. Introducción y objetivos	175
4.1.2. Reconocimiento de la zona e investigación preliminar	177
4.1.3. Planificación del muestreo en la etapa de estudio o investigación	180
4.1.4. Tipos de muestreos para suelos	182
4.1.4.1 <i>Muestreo al azar</i>	182
4.1.4.2 <i>Muestreo sistemático</i>	182
4.1.4.3. <i>Muestreo estratificado</i>	183
4.1.4.4 <i>Muestreo compuesto</i>	183
4.1.5 Trabajos de campo	183
4.1.5.1 <i>Determinación del número de muestras</i>	183
4.1.5.2 <i>Trabajos previos al muestreo: localización de los puntos de muestreo y preparación</i>	184
4.1.5.3 <i>Muestreo</i>	185
4.1.6 Conservación de la muestra y almacenamiento	187
4.1.7 Pretratamiento	189
4.1.7.1 <i>Secado</i>	189
4.1.7.2 <i>Trituración y eliminación de materiales gruesos. Tamizado</i>	189
4.1.7.3 <i>Pulverización</i>	189
4.1.7.4 <i>Homogenización</i>	190
4.1.7.5 <i>Desmuestre y cuarteo</i>	190

4.2.- CARACTERIZACIÓN ANALÍTICA	191
4.2.1. Caracterización físico-química	191
4.2.1.1. <i>Determinación de la acidez de los suelos</i>	191
4.2.1.2. <i>Determinación del contenido en carbonatos</i>	193
4.2.1.3. <i>Textura</i>	195
4.2.1.4. <i>Determinación del contenido en materia orgánica</i>	200
4.2.1.5. <i>Determinación del contenido de óxidos de hierro libre</i>	201
4.2.2. Determinación de elementos traza	203
4.2.2.1. <i>Generalidades</i>	203
4.2.2.2. <i>Preparación de la muestra para el análisis</i>	203
4.2.2.2.1. <i>Procedimientos de digestión</i>	205
4.2.2.3. <i>Métodos instrumentales</i>	207
4.2.2.3.1. <i>Criterios para la elección del método</i>	207
4.2.2.3.2. <i>Métodos basados en la absorción atómica</i>	209
4.2.2.3.3. <i>Espectroscopía de emisión de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES)</i>	217
4.2.2.3.4. <i>Espectroscopía de plasma acoplado inductivamente con detector de masas (ICP-MS)</i>	218
4.2.2.3.5. <i>Espectroscopía de fluorescencia de rayos-X (XFR)</i>	218
4.2.2.4. <i>Requerimientos analíticos en el estudio de suelos</i>	219
4.2.3. Evaluación de la movilidad de los elementos presentes en los suelos	221
4.2.3.1. <i>Procedimientos más utilizados</i>	221
4.2.3.2. <i>Optimización de los procedimientos de extracción secuencial. Selección de reactivos y condiciones de</i>	224

trabajo

4.2.4. Determinación de compuestos orgánicos	233
4.2.4.1. <i>Análisis de clorofenoles</i>	233
4.2.4.2. <i>Análisis de compuestos orgánicos volátiles</i>	234
4.2.4.3. <i>Análisis de bifenilos policlorados</i>	237
4.2.4.4. <i>Análisis de hidrocarburos totales</i>	240
4.2.4.5. <i>Análisis de hidrocarburos aromáticos policíclicos</i>	242
4.3.- BIBLIOGRAFÍA	243

4.1.- ELMUESTREO Y LA CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

4.1.1.- **Introducción y objetivos**

El muestreo incluye la toma del material que forma el suelo de modo tal que tenga en cuenta la variabilidad del mismo, el manejo, transporte y tratamiento de la muestra y, por último, la toma de fracciones para las determinaciones analíticas concretas.

El muestreo de un suelo es por tanto, la etapa previa al análisis y determinación de contaminantes. Es probablemente la fase más importante para la obtención de datos analíticos que puedan considerarse con seguridad datos de

calidad, sobre los que basarse a la hora de considerar o dictaminar sobre el grado y tipo de contaminación.

El muestreo no es un hecho aislado, no consiste sólo en la toma de muestra de un determinado suelo y lugar, sino que es toda una estrategia y metodología, relacionada con la heterogeneidad del medio, con el tipo y cantidad de contaminantes que previsiblemente puede contener, con las técnicas que van a usarse en las determinaciones analíticas y sus límites de detección, con las dimensiones del área a estudiar, con la precisión y grado de certeza con que se quiera evaluar la previsible contaminación, y con otras variables locales.

En cualquier caso, el muestreo debe ser *representativo*, esto es, que una muestra o grupo de muestras refleje con precisión la concentración y estado de cualquier componente en un determinado lugar y tiempo. Los resultados obtenidos de las muestras representativas deben mostrar las variaciones de los contaminantes y sus concentraciones. Las variables que afectan a la representatividad de una muestra son las siguientes:

- Las variaciones en la composición mineralógica del suelo, su permeabilidad y capacidad sorcitiva y de tamponamiento.
- Las variaciones en la composición química de los contaminantes en el área
- Las variaciones temporales en la composición del medio
- Los errores sistemáticos o esporádicos producidos en el propio muestreo, en la manipulación y en el transporte de las muestras al laboratorio
- Los errores en los resultados analíticos producidos por un almacenamiento incorrecto o por la preparación de la muestra en el laboratorio

Los efectos de la heterogeneidad se compensan tomando un gran número de muestras. Normalmente las dudas sobre la representatividad del muestreo suelen ser mayores que sobre los datos analíticos obtenidos. El error procedente de la toma de muestra y su manipulación es de tres a seis veces mayor que el que ocasiona la toma de porciones en el laboratorio y los procedimientos de análisis, aún cuando el procedimiento de campo sea más refinado de lo que es normalmente.

Con respecto a las variaciones de composición de los contaminantes con el transporte y tiempo, suele haber pocos cambios si los análisis se realizan en unas pocas semanas después del muestreo, aunque algunos cambios se pueden producir por procesos químicos y biológicos: oxidación, evaporación, degradación biológica. Todos ellos se producen lentamente pero son más importantes cuanto más superficial es la muestra.

Las muestras más profundas del suelo (sedimentos, rocas frescas) varían poco de un muestreo a otro por la falta de aireación que impide cambios en los contaminantes, pero en todo caso sólo representan al punto muestreado, lo mismo que las muestras de suelo.

Otras fuentes de error pueden provenir de la manipulación de las muestras, contaminándose una muestra por los medios mecánicos utilizados, si éstas no se han limpiado bien antes de hacer el siguiente muestreo.

Para controlar algunos de estos parámetros se suele recurrir a: a) duplicados (obtenidos de la propia muestra por subdivisión), b) tomar otra muestra próxima a 0.5-1 m de distancia de un punto muestral determinado, c) añadir a la muestra cierta cantidad conocida de unos contaminantes.

También se pueden derivar una serie de errores de la identificación de las muestras -a veces el criterio es confuso, o se producen duplicaciones -, del manejo de las muestras durante el transporte, y de las preparaciones previas en el laboratorio (homogeneización, subdivisión, etc.).

En resumen, la validez de un determinado valor analítico para un suelo depende de un correcto muestreo. Cuando la muestra analizada no es representativa, el resultado del análisis dará un valor que no describe necesariamente la propiedad del suelo que se determina. Para que el valor analítico pueda servir para describir la propiedad o característica que se está investigando es necesario que: a) la muestra represente el suelo en su totalidad, b) no se produzcan cambios en la muestra global, o en las distintas partes en que se dividan, antes de realizar los análisis, c) las distintas alícuotas de la muestra representen al total.

4.1.2.- Reconocimiento de la zona e investigación preliminar

La planificación del muestreo de una zona para conocer su posible contaminación, se debe realizar sobre la base de una serie de datos adquiridos a partir del reconocimiento y de la investigación preliminar.

El *reconocimiento* de una zona o *inspección* consta de dos fases: a) trabajos de gabinete y b) visita de campo.

Los objetivos de estos trabajos de inspección son:

- Conocer las condiciones actuales del área y las actividades que históricamente han tenido lugar.
- Proporcionar una base para planificar el muestreo de forma correcta y eficaz
- Prever los medios necesarios para proteger la salud y la seguridad del personal y del medio

Los trabajos de gabinete incluyen la revisión y acopio de toda la información relevante sobre la zona de estudio, por ejemplo: localización, infraestructura, usos, historia, tipos de suelos y propiedades, etc.

La visita a la zona, durante o después de la fase anterior, proporciona una primera impresión sobre la correlación que existe entre la cartografía y la realidad, y da una gran información en corto tiempo. En muchos casos es hasta necesario hacer un mapa de detalle o corregir la cartografía de la que se dispone. Normalmente en esta visita no se toman muestras, al menos que se quiera conocer el tipo de suelos y elegir además correctamente los equipos de muestreo.

A partir de estos trabajos se debe emitir una primera hipótesis sobre posibles contaminantes, distribución espacial y heterogeneidad, para terminar con una propuesta de planificación de la investigación. Respecto a la extensión areal de la contaminación se pueden distinguir dos tipos: grandes extensiones, que están contaminadas esencialmente en superficies, y áreas localizadas, que normalmente se sitúan cerca de las fuentes de contaminación.

En relación con los contaminantes se debería evaluar en esta fase preliminar la relativa movilidad y toxicidad. Los contaminantes se consideran móviles y tóxicos cuando el tiempo de permanencia en fase sólida es corto, aumentando así las posibilidades tóxicas; por el contrario los contaminantes inmóviles no son tóxicos, disminuyendo su peligrosidad.

El punto más delicado de esta fase de reconocimiento es la formulación de una hipótesis. En general esta hipótesis va en dos direcciones: a) probablemente el suelo no está contaminado, o b) el suelo está potencialmente contaminado.

En el primer caso se debe recomendar una investigación de comprobación, seleccionando las sustancias contaminantes a estudiar que razonablemente pudieran existir, dependiendo de la utilización del suelo y de las actividades que han tenido lugar en la zona.

Si, por el contrario, existen buenas razones para suponer que el suelo está contaminado, se debe definir con más detalles el tipo de contaminación y la

fuelle, su distribución espacial y homogeneidad en profundidad, la época de la contaminación y sobre todo la relación que puede haber con el tipo de suelo y sus horizontes.

Muchas veces el resultado del reconocimiento conduce a definir subáreas dentro de la zona estudiada, que poseen previsiblemente distintos grados de contaminación. Es cómodo entonces subdividir la zona de estudio en unidades más pequeñas, que a falta de otros criterios, no deben ser superiores a 1000 m³. Esta unidad espacial se puede suponer homogénea en relación con los contaminantes y las propiedades de suelo.

La siguiente fase es la *investigación preliminar* cuyo objetivo es verificar la presencia de contaminantes en los suelos. Los aspectos que se deben considerar para realizar esta investigación son los siguientes:

- la hipótesis formulada durante el reconocimiento de la zona
- los niveles del suelo que se deben muestrear y la profundidad
- el tipo de muestreo y el número de muestras a tomar
- los contaminantes que deben analizarse

Si en la etapa anterior se decidió establecer unidades dentro del área a investigar, esta fase de investigación se puede realizar en cada unidad siguiendo o no los mismos criterios para todos.

Las sustancias que deben determinarse como posibles contaminantes, si no hay certeza o al menos sospecha de cuáles son éstos, cubrirán un amplio espectro. Una posible lista de contaminantes puede ser la siguiente: metales tales como Pb, Zn, Cd, Cu, Ni, As, Hg y Cr; compuestos orgánicos volátiles tales como compuestos halogenados y aromáticos; aceites minerales, fenoles y cianuros. Además sería conveniente determinar pH, conductividad eléctrica, materia orgánica, óxido-hidróxido de hierro, carbonatos y fracción fina (<10µm). Si se analiza además aguas subterráneas (porque está próxima a la superficie) se recomienda especialmente el análisis de elementos móviles y de compuestos orgánicos volátiles.

La profundidad a la que se debe proceder en el muestreo del suelo es variable y depende de su desarrollo y uso. En general se recomienda que una muestra represente cómo máximo 0,5m en vertical, si hay tierra de labor la primera muestra debe ser de no más de 20-25 cm, y si se trata de una pradera la profundidad apropiada para la primera muestra es de 10 cm.

Para definir el tipo de muestreo se debe tener en cuenta las posibles variaciones laterales, pero si se sospecha una cierta homogeneidad horizontal,

basta con tomar en los perfiles tres muestras: la superficial (hasta 10 ó 20 cm), la inmediatamente inferior (hasta 50 cm) y otra hasta 1 m, al menos que se desee muestrear también la roca madre y ésta se encuentre a más de 1 m de profundidad, en cuyo caso debe proseguir en intervalos de 50 cm.

En suelos cultivados es aconsejable tomar la muestra más superficial en un número aproximado de 20-25 por hectárea y hacer una muestra compuesta (ver apartado 4.1.4.4), que represente el suelo de labor del área estudiada.

El sistema de muestreo elegido para representar al máximo de variables que se desean controlar, debe de evitar que se favorezcan puntos que coincidan sistemáticamente con regularidades del terreno, bien naturales o resultantes de la actividad agrícola, por ejemplo.

Cuando se supone que la contaminación de un suelo es bastante homogénea, es aceptable para establecer medias tomar un mínimo de cinco muestras por nivel (horizonte o estrato) por cada hectárea. Pero si hay una gran heterogeneidad en la distribución, suele deberse a que existen zonas muy contaminadas en lugares determinados (hot spots), que es necesario descubrir y muestrear con más detalle (4-5 muestras de suelo por cada una de estas “bolsas de contaminación”). Si hubiera muchos de estos puntos en un área extensa, bastaría con identificarlos tomando una muestra por cada uno de ellos.

En general en esta fase de investigación de zonas supuestamente contaminadas no se debe dejar de tomar una muestra por cada volumen aproximadamente de 25 m³ (por ejemplo una superficie de 50m² y una profundidad de 0.5 m), o de 30 Tm de suelo contaminado.

La calificación de suelo contaminado se hará en todo caso tras el análisis de las muestras de esta investigación preliminar, en relación con los umbrales definidos por cada región o localidad como tales. En caso de que no existan estos valores que deben ser establecidos por la autoridad competente, se pueden tomar como referencia los valores de fondo correspondientes a zonas próximas o de igual características que no estén declaradas como contaminadas.

4.1.3.- Planificación del muestreo en la etapa de estudio o investigación

Una vez valorados todos los datos procedentes de las fases de reconocimiento y de investigación preliminar, se puede planificar la investigación en profundidad de una zona contaminada. Estos estudios tiene como objetivos: a) establecer la extensión del área contaminada y el grado de contaminación, b) determinar los riesgos y valorar los peligros.

En relación con el primer objetivo, que es el que nos ocupa en este Informe, es necesario disponer de un mayor número de muestras y datos que permitan correlaciones espaciales detalladas y hagan posible la aplicación de modelos matemáticos para representar la distribución tridimensional de los contaminantes de una zona. El número de muestras debe ser suficiente para que por interpolación de los resultados se haga factible establecer un modelo, pero no debe ser excesivo porque puede hacer económicamente inviable la investigación.

A modo de recomendación pueden tomarse los siguientes intervalos de muestreo en función del detalle del estudio:

- Para investigaciones de detalle: una muestra cada 5x5 m en horizontal
- Para investigaciones a escala media: una muestra cada 15x15 m en horizontal
- Para estudios a gran escala: una muestra cada 25x25 m en horizontal.

Estas mallas de muestreo darían como resultado entre 400 y 16 muestras por hectárea, pasando del estudio más detallado al más grosero.

Los datos obtenidos de los análisis de las muestras pueden servir para aplicar los procedimientos estadísticos que modelicen la distribución areal (o espacial) de la contaminación. Dado que los procesos de contaminación son normalmente muy complejos al depender de una combinación de un gran número de variables, es difícil establecer un número de funciones determinísticas que puedan ser aceptados como suficientes para detallar y explicar la contaminación real o potencial de un suelo. Por ello tiene más ventajas usar un método de aproximación probabilístico que determinístico. Esto significa usar métodos estadísticos o geoestadísticos.

Durante la fase de investigación preliminar pueden aplicarse en algunos casos criterios estadísticos clásicos que permiten estimar promedios y percentiles, y en la fase de investigación, donde el número de datos disponibles será bastante mayor, se puede intentar la definición de la estructura espacial, aplicando métodos geoestadísticos, que pueden también verificar la validez del muestreo, calcular los errores e intervalos de probabilidad en relación con la extensión de la contaminación.

Esta fase de investigación se puede hacer, si se considera necesario, a un sector limitado de la zona contaminada, como una investigación piloto que sirva para probar y corregir si es necesario, el plan de muestreo propuesto.

4.1.4.- Tipos de muestreo para suelos

El objetivo esencial de un muestreo es elegir una parte del suelo que sea representativa del todo-uno. Existen varias opciones para realizar un muestreo y lograr que sea preciso y correcto y al mismo tiempo no sea muy costoso. Los métodos usados son los siguientes.

4.1.4.1.- *Muestreo al azar*

Es probablemente el más simple de todos. La selección de las muestras se deja completamente al azar y no hay relación con ninguna variación observada en el suelo. Es un método por el que cada muestra o propiedad del un suelo tiene la misma probabilidad de ser tomada y considerada. En un campo homogéneo es un método satisfactorio, pero si existe una gran variabilidad en la población es mejor usar uno de los métodos siguientes.

4.1.4.2.- *Muestreo sistemático*

Como el propio nombre indica, el muestreo debe ser hecho sistemáticamente. Por ejemplo, a intervalos fijos (cada 5 cm), o sólo en laderas y cimas de montes, o para una finca el suelo que está bajo cada árbol, etc. Este tipo de muestreo se puede combinar con el anterior al azar. Las posiciones de las tomas de muestras deben localizarse previamente en un mapa (tanto las sistemáticas, como las al azar) y se pueden elegir todas o sólo una de cada dos, por ejemplo.

También se pueden establecer cuadrículas y tomar la muestra en el centro de cada cuadrado, o alternativamente uno de cada dos, o en los vértices de cada cuadrado, etc. La malla depende del área a muestrear y de la exactitud y representatividad que se quiere conseguir.

Este muestreo sistemático da resultados más exactos que el muestreo al azar, porque las muestras se distribuyen más regularmente en toda la población. Sin embargo, si la población presenta una variación periódica (sistemática) de una propiedad, o si el intervalo entre muestras sucesivas coincide con el ritmo de variación, se obtendrán muestras sesgadas, por lo que antes de proceder a este tipo de muestreo se recomienda hacer un estudio preliminar para conocer la naturaleza y variabilidad del suelo.

4.1.4.3.- *Muestreo estratificado*

Se emplea normalmente en áreas heterogéneas. Para ello, se divide el área en partes relativamente homogéneas, a las que se denomina “estratos” y en cada una de ellas se realiza un muestreo sistemático o al azar, tomando un número de muestras proporcional al área que representan respecto al total.

4.1.4.4.- *Muestreo compuesto*

Se trata de mezclar las muestras tomadas en un área determinada para obtener una sola que presumiblemente representa al total. Tiene la ventaja de que permite un muestreo mayor sin aumentar el número de análisis. Este tipo de muestreo es válido si: 1) el volumen de la muestra representa a una población homogénea, 2) en la muestra compuesta contribuyen por igual cada una de las muestras individuales, 3) no se han efectuado cambios durante la manipulación para obtener la muestra compuesta, que pudieran afectar a los resultados analíticos, y 4) el único objetivo es estimar unos valores medios sin ningún tipo de riesgos.

Este tipo de muestreo se realiza cuando la media es más importante que la variabilidad. El número de muestras para mezclar oscila entre 4 y 16 (máximo 25), y como regla general, el área representada por una muestra compuesta no debería ser superior a 1 Ha (100 x 100 m). Este límite puede ser mayor (hasta 5 Ha) si la zona a investigar es razonablemente homogénea, o sea si la zona puede considerarse como un todo.

4.1.5.- **Trabajos de campo**

4.1.5.1.- *Determinación del número de muestras*

Cómo ya se adelantó en los apartados 4.1.2 y 4.1.3, el número de muestras a tomar por hectárea y en profundidad, depende del tipo de investigación y de la supuesta contaminación existente. En todo caso debe garantizar un conocimiento razonable de la contaminación existente, el grado y distribución.

Nunca es fácil a priori decidir el número de muestras que se debe tomar (al menos que haya una fuerte limitación económica). Desde el punto de vista estadístico, una primera decisión se debe tomar sobre cuál puede ser el error tolerable, llamado normalmente error aceptable E.

Este error se puede calcular como:

$$E = \pm t (V)^{0.5}$$

donde $V = S^2/n$;

t =valor t-test, V = varianza, S^2 = suma de los cuadrados de los valores y n = número de muestras.

El número de muestras necesarias para un error aceptable se puede calcular por una de las siguientes fórmulas:

$$n = 4\sigma^2/E^2 \quad (1) \quad \text{ó} \quad n = t^2 S^2/E^2 \quad (2)$$

siendo σ = desviación estándar

La ecuación (2) es preferible porque tiene en cuenta el valor t , o sea el nivel de probabilidad. La desviación estándar se calcula por la fórmula:

$$\sigma = \sqrt{\Sigma(x_i - \bar{x})^2/n-1}$$

y la suma de los cuadrados S^2 se obtiene como:

$$S^2 = \Sigma(x_i - \bar{x})^2/n-1$$

Con estas ecuaciones se puede determinar el número de muestras que se puede tomar en una planificación al azar, sistemática o estratificada, de acuerdo con los límites de errores aceptables.

Una vez determinado el número de muestras, hay que determinar la homogeneidad de la varianza (reproducibilidad) de los análisis para comprobar si este número de muestras y el tipo de muestreo fué correcto. El estudio de la varianza se puede hacer aplicando el test de Levene, que nos indicará para una probabilidad dada si las medidas efectuadas son o no reproducibles. En caso de ser reproducibles el muestreo será válido. Posteriormente se puede continuar el análisis estadístico de los resultados obtenidos comprobando su exactitud mediante el empleo del test ANOVA.

4.1.5.2.- *Trabajos previos al muestreo. Localización de los puntos de muestreo y preparación.*

La selección, localización y preparación de los lugares de muestreo depende de los objetivos de la investigación, de las informaciones previas y de las condiciones de la propia zona a muestrear.

Los puntos de muestreo se deben localizar con exactitud e indentificar perfectamente, por si fuera necesario repetir el muestreo, para reseñar los datos en los mapas con precisión y para permitir conservar y procesar datos mediante ordenador.

La trama del muestreo de acuerdo con el tipo de muestreo elegido, se representa previamente en un mapa a escala conveniente.

Una vez perfectamente situado el muestreo se debe comprobar en el campo las posibilidades reales de ejecutarlo, para si no fuera posible debido, en algunos casos a obstáculos insalvables, modificarlo.

Además, los lugares para muestrear deben prepararse, eliminando depósitos superficiales (p.e. basuras u otros residuos incontrolados), estableciendo medidas de seguridad, instalando instrumental de medidas, si es el caso, etc.

4.1.5.3.- **Muestreo**

Las *herramientas* que pueden usarse para tomar muestras son tubos, taladros, picos y palas, dependiendo de la profundidad del muestreo.

Las *muestras* pueden ser *superficiales*, obtenidas por simple excavación, o más *profundos* realizando obras y abriendo perfiles o haciendo sondeos. También se pueden aprovechar trincheras y cortes de carreteras para tomar niveles profundos que queden claramente expuestos.

El *procedimiento* para extraer las muestras superficiales se realiza haciendo una pequeña excavación en forma de cono con el pico y la pala a la profundidad deseada, tomando la parte central de la excavación que se coloca en una bolsa de plástico limpia. Si el suelo está endurecido se puede hacer con barrena, pero el volumen extraído es menor.

Las muestras profundas se obtienen usando tubos y barrenas, o bien, como se mencionó antes, aprovechando trincheras y cunetas de carreteras, pero también a partir del perfil abierto directamente por excavación. Las barrenas, taladros y tubos de sondeos introducen con frecuencia contaminantes y suelen mezclar niveles profundos, por lo que parece más seguro el muestreo de trincheras, siempre que se limpien superficialmente, y el de perfiles abiertos por excavación.

El *tamaño* de la muestra para determinaciones químicas, mineralógicas, fisico-químicas y texturales debe ser tal que proporcionen las submuestras

necesarias y permita la conservación de duplicados. La cantidad no debe ser inferior a 500 g y es más recomendable una muestra de 2Kg, aunque en casos de suelos areno-gravosos, puede necesitarse una mayor cantidad si se necesita hacer análisis granulométrico. En general cuanto más grueso es el material mayor cantidad de muestra se necesita. Por otra parte, en un muestreo sistemático de una zona el volumen de todas las muestras debe ser sensiblemente igual.

Las *muestras* representativas de suelos contaminados deben centrarse en un primer nivel de alrededor de 20 cm, que habitualmente contendrá materia orgánica y vegetales, y que se tomará como un todo-uno. Si la capa arable es inferior a 20 cm la muestra se tomará al menos hasta una profundidad de 10 cm, siempre suponiendo esta magnitud la altura del cilindro muestreado. En los casos que se pretenda conocer la evolución en profundidad, se continuará el muestreo de los perfiles, tomando muestreos sistemáticos que representen intervalos de 20 cm hasta un máximo de un metro, o hasta la roca madre, que también se muestreará hasta unos 20 cm de profundidad.

Si solo se realiza el muestreo superficial se puede hacer sistemático y/o al azar y terminar con muestras compuestas (por ejemplo para determinar promedios de algunos elementos o sustancias en un área o en un horizonte edáfico). Pero si se quiere conocer la distribución areal o en profundidad de un elemento no es posible eliminar muestras (análisis) por el procedimiento de mezclas.

Las muestras deben ser *etiquetadas* con rotuladores grasos, introduciendo además un duplicado en su interior. En la identificación debe constar una referencia al proyecto, unas siglas que faciliten la localización, número de orden la muestra y la fecha.

El muestreo se acompañara de una *documentación* (Ficha de Campo) con una serie de datos que incluirá las siglas de la muestra, la situación exacta (coordenadas marcadas por GPS) y localidad, la fecha de recogida, la litología de la roca madre, el tipo de suelo y descripción del perfil, en su caso (o al menos si el suelo está o no bien desarrollado), el cultivo, las condiciones topográficas y paraje.

Las secuencias de muestras tomadas en perfiles abiertos serán señalados con escalas métricas o estaquillas, y se tomaran fotografías del perfil y muestreo.

La *época para el muestreo* puede y debe programarse en muchos casos, por ejemplo cuando las sustancias contaminantes que van a investigarse o sus características pueden verse afectadas por factores estacionales o actividades humanas (clima, fertilizantes, uso de herbicidas, extracciones mineras

temporales, accidentes industriales, etc.). Las repeticiones del muestreo proporcionara la evolución de los contaminantes con el tiempo y con los factores que los condicionan.

Si no hay una preferencia particular para elegir el tiempo del muestreo, la mejor época es el verano y comienzos del otoño, que es cuando los efectos estacionales son mínimos. En suelos cultivados la época viene más bien determinada por la secuencia de cosechas y se debe evitar entonces los momentos en que se añaden fertilizantes y otros productos. En algunos casos se recomienda hacer un muestreo de tejidos de plantas al mismo tiempo que el de suelos y hacerlo a mitad o final del verano. Así, de forma paralela, se pueden comparar los contaminantes del suelo y los efectos en la vegetación.

4.1.6.- Conservación de la muestra y almacenamiento

Una vez que la muestra se ha recogido, se debe guardar en un contenedor apropiado: bolsa de papel o plástico, o bote de plástico, por ejemplo y mantenerse tanto como sea posible en su estado original, evitando cualquier tipo de contaminación y de transformación.

En el laboratorio el primer paso para la conservación de la muestra es el secado al aire, bien estático o dinámico, pero en cualquier caso no calentado previamente. La temperatura del aire no debe pasar de los 35°C (con humedades relativas menores del 60%), porque a mayores temperaturas puede ocasionar cambios drásticos en algunas características físicas y químicas del suelo. El secado conduce normalmente a aumentar la cementación, lo que puede afectar después al análisis granulométrico. Si tiene lugar además a alta temperatura puede producir cambios en el estado de oxidación de los elementos (Fe^{2+} por ejemplo) y en el potasio de cambio, y la forma de presentarse el N y el P, así como producir ciertas reacciones microbiológicas. Estas transformaciones serán más importantes cuanto más tiempo dure el secado.

Para secar una muestra, se debe extender y destruir con cuidado los agregados groseros que se detecten a simple vista, por ejemplo con rodillos de madera o maza de mortero de caucho. Una muestra debe estar húmeda el menor tiempo posible porque se considera que en general en una muestra seca se reducen las reacciones químicas y bioquímicas al mínimo, evitando que tales reacciones sean una posible fuente de error.

Una vez seca la muestra se puede pasar a la fase de preparación (homogenización, molienda, tamizado y reducción del tamaño), o bien es almacenada hasta que pueda entrar en la rutina de los análisis de contaminantes y

otros parámetros. En la tabla 4.1, se dan algunas recomendaciones en relación con los contenedores que se deben usar y tiempos máximos que pueden transcurrir antes del análisis de determinados contaminantes. En general es recomendable que las muestras se analicen tan pronto como sea posible, en caso contrario deben conservarse en cámara frigorífica a 4°C.

Tabla 4.1.-Contenedores, tiempo y forma de conservación para suelos
(Boulding, 1994)

Contaminante	Contenedor*	Tiempo máximo
pH	P,V	14 días
Amonio	P,V	28 días
Sulfatos	P,V	28 días
Sulfuros	P,V	28 días
Sulfitos	P,V	48 horas
Nitratos	P,V	48 horas
Nitritos	P,V	48 horas
Aceites y grasas	V	28 días
Carbono orgánico	P,V	28 días
<i>Metales</i>		
Cromo VI	P,V	48 horas
Mercurio	P,V	28 días
Otros metales	P,V	6 meses
Cianuros	P,V	28 días
<i>Compuestos orgánicos</i>		
Extraíbles: ftalatos, nitrosaminas, herbicidas organoclorados, PCB, compuestos nitroaromáticos, hidrocarburos aromáticos policíclicos, isoforeno, habéteres, hidrocarburos clorados y TCDD	V, con tapón de teflón	7 días hasta extracción 30 días después de la extracción
Fenoles (extraíbles)	V, con tapón de teflón	7 días hasta extracción 30 días después de la extracción
Purgantes, halocarburos y aromáticos	V con septum de teflón	14 días
Acroleína y acrilonitrilo	V con septum de teflón	3 días
Fosfatos	P,V	48 horas
Plaguicidas	V, tapón de teflón	7 días hasta extracción 30 días después de la extracción
Fenoles	V	28 días
Fósforo	V	48 horas
Fósforo total	P,V	28 días
Compuestos orgánicos clorados	V con tapón de teflón	7 días

* P = polietileno, V= vidrio

4.1.7.- **Pretratamiento**

El pretratamiento de las muestras consta de varias etapas que dependen del tipo de muestra y de su naturaleza, así como de los requerimientos individuales de los análisis que se vayan a llevar a cabo. El principal objetivo de cualquier tratamiento preliminar es proporcionar submuestras adecuadas, las cuales sean tanto representativas del suelo que se quiere caracterizar como compatible con el análisis que se va a llevar a cabo. Las diferentes operaciones de pretratamiento van a depender, por tanto, de cada problemática concreta, pero en general suelen emplearse las siguientes: secado, tamizado para eliminar sólidos voluminosos y homogeneización por mezcla y/o trituración hasta un determinado tamaño de grano.

4.1.7.1.- *Secado*

La muestra completa se seca al aire o en una estufa de secado a una temperatura no superior a 40°C. El suelo debe extenderse formando una capa de grosor no superior a 15 mm, utilizando una bandeja que no absorba humedad del suelo y que no produzca contaminación. Para acelerar el proceso de secado, puede reducirse el tamaño de los terrones mayores de suelo mediante una trituración suave que no introduzca contaminación. El secado debe proseguirse hasta que la pérdida de masa de la muestra de suelo no sea mayor de un 5% en 24h.

4.1.7.2.- *Trituración y eliminación de materiales gruesos. Tamizado*

Cuando la muestra de suelo se ha secado hasta formar terrones, es necesario llevar a cabo un proceso de trituración. Antes de iniciarlo, cantos, fragmentos de vidrio, residuos, etc. deben eliminarse. La masa total de muestra seca, y la masa de cualquier material eliminado en esta etapa, debe evaluarse y anotar los resultados. Una vez secada y separados los fragmentos extraños, la muestra debe reducirse de tamaño por trituración hasta alcanzar un tamaño de partícula inferior a 2mm. En este sentido, es aconsejable determinar la distribución de tamaño de partícula (curva de tamizado).

4.1.7.3.- *Pulverización*

Si el material que se estudia es un suelo contaminado o un residuo, puede ser necesario pulverizar la muestra completa, incluyendo por ejemplo trozos de escoria, hasta que el conjunto pase por un tamiz de 2mm.

4.1.7.4.- *Homogenización*

La muestra debe rehomogenizarse después de cualquier operación de separación, tamizado, triturado o pulverizado, ya que puede producirse la segregación de las partículas de diferente tamaño.

4.1.7.5.- *Desmuestra y Cuarteo*

El desmuestra es necesario cuando la muestra, debido a su tamaño, no puede almacenarse (muestra de laboratorio) o usarse para el análisis (alícuota), empleándola en su totalidad. La muestra de laboratorio que se obtenga debe ser representativa de la muestra total. Para preparar una muestra de laboratorio, se divide la muestra secada, triturada y tamizada (fracción <2mm) en porciones de 200-300 g, mediante desmuestra manual (cuarteamiento) o utilizando algún dispositivo de desmuestra. Para preparar una alícuota para el análisis, es necesario dividir la muestra de laboratorio en porciones representativas hasta alcanzar los tamaños de muestra requeridos.

El cuarteamiento puede utilizarse para homogeneizar y dividir las muestras. Este proceso se lleva a cabo como sigue:

Etapa 1.- Disponer la muestra formando un cono sobre una superficie rugosa y limpia

Etapa 2.- Dividir el cono en cuatro partes

Etapa 3.- Tomar los sectores opuestos del cono

Etapa 4.- Mezclar el contenido de estos sectores y formar un nuevo cono. Repetir la operación hasta alcanzar justamente el tamaño de muestra que se precisa para la muestra de laboratorio

4.2.- CARACTERIZACIÓN ANALÍTICA

4.2.1.- Caracterización físico-química

Son numerosos los parámetros que hay que considerar para caracterizar las propiedades de un suelo, y evaluar su repercusión sobre la fijación o movilización de especies química contaminantes presentes en los mismos.

Entre los parámetros más importantes pueden citarse el pH, la textura, la concentración de carbonatos y materia orgánica y la presencia de óxidos de hierro libres. A todo ello hay que añadir la necesidad de evaluar la presencia de metales y elementos (constitutivos, nutrientes, micronutrientes y trazas), determinando tanto los niveles totales como su movilidad y biodisponibilidad.

4.2.1.1.- *Determinación de la acidez de los suelos*

Entre los ensayos que debemos llevar a cabo en el estudio de la contaminación de las muestras de suelos se encuentran los directamente relacionados con la acidez del medio, siendo el pH el parámetro determinante, por lo que su valor va tener una gran importancia para determinar la retención de los compuestos contaminantes presentes en el suelo.

El valor del pH de un suelo es sólo una medida de la acidez actual y no de la cantidad total potencial de ácido. Los suelos con elevado contenido en arcilla tienen una mayor reserva de acidez que los suelos arenosos. Los suelos con materia orgánica tienen también, con frecuencia, grandes reservas de ácido. Estos suelos se consideran bien amortiguados, ya que se le puede añadir cantidades apreciables de base sin que el pH se eleve significativamente.

En suelos muy secos que no permiten el desarrollo de las plantas, la resistencia eléctrica es tan alta que no es posible realizar medidas de pH. Por ello, es necesario agregar agua a la muestra, pero el valor que se obtenga dependerá de la cantidad de agua añadida. El pH también se incrementa cuando los suelos contienen una apreciable cantidad de dióxido de carbono disuelto (debido a la dilución del ácido carbónico).

Otro factor importante en la medida del pH de la mezcla agua-suelo es la existencia de una doble capa en torno a las pequeñas partículas cargadas que se encuentran en suspensión. La carga superficial sobre las partículas coloidales atrae a los iones libres formándose una primera capa que a su vez orienta una segunda capa de contraiones. Por ello, la concentración de iones libres es menor de lo que podríamos esperar. Sin embargo, si la pasta del suelo se prepara con

una disolución alcalina como cloruro cálcico o potásico, los iones añadidos reducen el empobrecimiento de iones hidrógeno que la doble capa origina en la disolución.

La cantidad de disolución salina que es necesario añadir a un suelo arenoso es mucho menor que si se trata de un suelo arcilloso o con materia orgánica, por ello es necesario fijar cuidadosamente el procedimiento exacto adoptado en la medida del pH.

Determinación del pH

La determinación del pH de la muestra de suelo, o su grado de acidez viene indicado por la medida del potencial eléctrico que se crea en la membrana de vidrio de un electrodo en función de la actividad de los iones hidrógeno a ambos lados de la membrana.

El pH del suelo se define como el pH, medido potenciométricamente, de la suspensión obtenida por agitación del suelo con agua en ciertas condiciones, determinándose con un potenciómetro precalibrado, provisto de un electrodo de vidrio. El dato se puede tomar de tres maneras:

- a) en la pasta de saturación
- b) en una suspensión 1:2.5 de sedimento en agua destilada
- c) en una suspensión 1:2.5 de sedimento en disolución de cloruro potásico 1M

La comparación de los tres datos permite sacar conclusiones respecto a la acidez electrolítica y la acidez potencial y real del suelo.

Para efectuar la medida del pH de una muestra de suelo se debe calibrar el aparato de medida (pHmetro), el cual debe ser capaz de efectuar lecturas de 0.05 unidades de pH.

La determinación del pH de los suelos constituye una de las operaciones más frecuentes para su caracterización físico-química

Calibración del pHmetro

Calibración del sistema de medida

Se utilizan las tres disoluciones de referencia siguientes:

- (a) Para *valores ácidos* se emplea una disolución patrón de ftalato ácido de potasio 0.05 M; disolviendo 10.21 g de dicha sal en agua destilada y enrasando en un matraz de 1 L. Esta disolución tiene un pH de 4.0 a una temperatura de 20°C.
- (b) Para pH próximos a la neutralidad, se prepara un patrón constituido por una mezcla de KH_2PO_4 0.025M y Na_2HPO_4 0.025M. Disolver 3.44 g de KH_2PO_4 y 3.55 g de Na_2HPO_4 en agua destilada y diluir a 1 L. Esta disolución tiene un pH de 6.88 a 20°C.
- (c) Para *valores alcalinos* se emplea una disolución patrón de tetraborato sódico ($\text{B}_4\text{O}_7\text{Na}_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) 0.01M, disolviendo 3.81 g de dicha sal en 1 L de agua destilada. El pH resultante de esta disolución es de 9.22 a una temperatura de 20°C.

En un vaso de precipitado se coloca un volumen adecuado de la disolución (b), se introduce en ella los electrodos procediendo a la lectura a los 30 segundos. el valor del pH resultante debe ser 6.88 a 20°C, corrigiéndose en caso necesario, de acuerdo con las instrucciones particulares del aparato utilizado.

A continuación se sumergen, una vez lavados con agua destilada, en un volumen adecuado de la disolución (a) o (c), según el rango de pH que se espere medir, corrigiendo la lectura en caso necesario.

Medida del pH del suelo

Si la medida del pH se realiza en agua, se mezclan 10 gramos de muestra con 25 ml de agua destilada. La mezcla se agita durante 10 minutos dejándola en reposo durante 30 minutos.

Si la determinación se realiza en cloruro potásico, se procede de la misma manera, pero empleando una disolución 0.1 M de dicha sal.

Para efectuar la determinación del pH, se agita la suspensión con una varilla de vidrio, introduciendo el electrodo para realizar la lectura después de haber transcurrido 60 segundos.

4.2.1.2.- *Determinación del contenido en carbonatos*

En su forma habitual, los carbonatos del suelo son determinados mediante su reacción con ácido clorhídrico, midiendo el CO_2 liberado. Generalmente, las

variaciones originadas por las diferencias de presión o temperatura pueden desestimarse.

La medida del CO₂ se realiza mediante el calcímetro de Bernard procediéndose de la siguiente manera:

Se pesan de 0.2 a 0.5 g de suelo, previamente triturado, y se coloca en un erlenmeyer de 500 ml, humedeciendo la muestra con unos pocos mililitros de agua. Se conecta el erlenmeyer al calcímetro, en el que previamente se colocan unos mililitros de HCl al 50%, utilizando el dispositivo existente al respecto. Con la llave del calcímetro abierta para mantener en el interior del sistema la presión atmosférica, se ajusta la altura del depósito del calcímetro hasta enrasar la bureta del mismo con el 0. Cerrar la llave, e inclinando el frasco erlenmeyer, verter el ácido sobre la muestra, agitando suavemente para favorecer el ataque. Al mismo tiempo se va descendiendo la rama móvil del calcímetro, procurando mantener un mismo nivel de líquido en las dos ramas.

Cuando el nivel del líquido del calcímetro permanezca estacionario, se deja de agitar el sistema y se realiza una lectura de la altura alcanzada una vez enrasada las dos ramas. El volumen leído corresponde al CO₂ desprendido por la muestra.

Repetir las mismas manipulaciones sustituyendo el suelo por 0.2 g de CaCO₃. Con las lecturas obtenidas efectuar los cálculos siguientes:

$$\% \text{CO}_3\text{Ca} = 100 \frac{L}{L'} \frac{P'}{P}$$

Siendo:

L = lectura observada en el calcímetro para la muestra

L' = lectura observada en el calcímetro para el carbonato cálcico

P = peso seco, en gramos, de la muestra de suelo

P' = peso, en gramos, del carbonato cálcico (0.2 g en nuestro caso)

Observaciones:

**Para agitar el erlenmeyer debe usarse unas pinzas con objeto de no alterar la temperatura del sistema con el calor de la mano.*

**Para evitar las interferencias producidas por la presencia de MnO₂ debe añadirse a la disolución de clorhídrico, liberadora del CO₂, 3 g de FeCl₂.4H₂O por cada 100 ml de dicho reactivo.*

4.2.1.3.- *Textura*

Una de las propiedades más importantes de un suelo es la distribución de tamaño de las partículas que lo constituyen (textura). Los tamaños pueden clasificarse arbitrariamente en tres tipos (a veces más) -esta clasificación varía de un país a otro, pero la más utilizada es la propuesta por el Departamento de Agricultura de USA (USDA). Debido a que las partículas del suelo tienen formas irregulares, los tamaños de las partículas se expresan mediante el diámetro esférico equivalente, que se define como el diámetro de una partícula esférica, que teniendo la misma densidad que las partículas del suelo, se deposita a la misma velocidad. Este concepto es muy acertado, ya que los procedimientos utilizados para estudiar la distribución de tamaños de las partículas del suelo, se basan generalmente en la sedimentación. Los rangos de tamaño establecidos por el USDA se resumen en la Tabla 4.2.

Tabla 4.2.- Rango de tamaños de las partículas del suelo

<i>SISTEMA USDA</i>		<i>SISTEMA INTERNACIONAL</i>	
Fracción	tamaño (mm)	Fracción	tamaño (mm)
Arena muy gruesa	2.0-1.0	I: Arena gruesa	2.0-0.2
Arena gruesa	1.0-0.5		
Arena media	0.5-0.25		
Arena fina	0.25-0.10	II: Arena fina	0.2-0.02
Arena muy fina	0.10-0.05		
Limo	0.05-0.002	III: Limo	0.02-0.002
Arcilla	<0.002	IV: Arcilla	<0.002

La distribución relativa de arenas, limos y arcillas va a determinar la capacidad potencial de contaminación del suelo, pudiendo decirse que aquellos suelos en los que abundan las fracciones finas serán, potencialmente, más fáciles de contaminar que el suelo rico en arenas, al ser peor su drenaje y producirse fenómenos de interacción más intensos con los contaminantes, fundamentalmente procesos de intercambio iónico y de adsorción superficial.

Determinación de la textura en el laboratorio

Para lograr un análisis granulométrico correcto es necesario lograr la individualidad de las partículas elementales. En este sentido, hay que considerar los siguientes aspectos:

A) Preparación de la muestra

Teniendo en cuenta que los elementos con mayor influencia en las propiedades del suelo son los incluidos en la fracción fina (< 2 mm), el primer paso consiste en la destrucción de los agregados del suelo seco al aire, mediante métodos físicos (generalmente presión suave con un rodillo de madera) y la eliminación por tamizado en seco de las partículas mayores de 2mm (gravas, piedras, pedregones, etc.).

B) Destrucción de agentes cementantes

Los principales agentes cementantes del suelo son: materia orgánica, carbonatos (fundamentalmente cálcico y magnésico) y óxidos (generalmente de hierro y aluminio).

Eliminación de la materia orgánica

Debido a la existencia de organominerales complejos en el suelo, es necesario la destrucción de la materia orgánica para individualizar las partículas minerales, para ello se aplica el siguiente procedimiento:

Se colocan 10 g de muestra de suelo, secada al aire, sin partículas superiores a 2 mm. En un vaso de precipitado, se añaden 50 ml de agua destilada más unos mililitros de peróxido de hidrógeno, y se cubre el vaso de precipitado con un vidrio de reloj. Si se produce una reacción violenta se repite periódicamente el tratamiento en frío con peróxido de hidrógeno hasta que no se observe reacción espontánea de desprendimiento de gases. El vaso se calienta hasta 90° C y se añaden volúmenes de peróxido de hidrógeno, a intervalos de 45 min., hasta la total destrucción de la materia orgánica. El exceso de agua oxigenada se elimina por calentamiento adicional de 30 min.

Eliminación de carbonatos y óxidos de hierro

Los carbonatos tienden a cementar las partículas de menor tamaño. Para su destrucción se propone el empleo de ácido clorhídrico diluido, o de tampón ácido acético-acetato sódico de pH 5. No obstante, debido a la abundancia de carbonatos en la mayoría de los suelos andaluces, se considera que tiene mayor significación agronómica la evaluación de la textura sin su destrucción, ya que pueden actuar como pseudolimos (arcillas unidas por carbonatos hasta alcanzar el tamaño de limo) e incluso como pseudoarenas (limo y/o arcilla unidas por carbonatos hasta alcanzar tamaño de arena).

Si el efecto de cementación de las partículas finas del suelo hasta alcanzar el tamaño de pseudolimos o pseudoarenas se produce por la presencia de óxidos, especialmente de óxidos de hierro, estos se pueden destruir mediante tratamiento con ácido clorhídrico diluido.

Eliminación de las sales y materia mineral presentes en el suelo

Una vez eliminada la materia orgánica y los óxidos de hierro, se lava la suspensión resultante con 150ml de agua y se filtra. El lavado se repite 5 veces, secando finalmente la muestra a 105° C y pesando el residuo resultante. El peso obtenido se utilizará como base para el cálculos de las diversas fracciones granulométricas.

C) Dispersión de la muestra

Después de destruir los agentes cementantes, la muestra se dispersa utilizando para ello métodos químicos (agentes dispersantes) o mecánicos (agitación con agua, trituración, ultrasonidos etc.), aunque lo más frecuente es utilizar técnicas mixtas.

Cuando la concentración de electrolitos en el suelo es elevada (suelos salinos o alcalinos), los coloides se encuentran floculados, en este caso es necesario reducir previamente la concentración de electrolitos para lograr una dispersión efectiva, empleando sucesivas operaciones de lavado o diálisis.

Cuando el potencial electrocinético del suelo es bajo, debido a la abundancia de cationes polivalentes adsorbidos (suelos ricos en calcio o magnesio), los coloides también se encuentran floculados, resultando en este caso difícil su dispersión por una simple operación de lavado, siendo en este caso necesario sustituir los cationes polivalentes por monovalentes (sodio o litio).

Los dispersantes químicos más utilizados para esta finalidad son el hexametafosfato sódico, el tartrato sódico, el oxalato sódico, el citrato sódico, el amoníaco, el carbonato sódico, el hidroxido sódico, el pirofosfato sódico y el metafosfato sódico.

Generalmente, la muestra suele tratarse con 25 ml de hexametafosfato sódico ($(\text{NaPO}_3)_6$) al 10 % , agitando la mezcla en un agitador mecánico de 12 oscilaciones por minuto durante al menos 2h.

D) Separación de fracciones

Una vez dispersada la muestra se lava sobre un tamiz de malla 300, haciendo pasar el limo y la arcilla por el tamiz hasta un recipiente cilíndrico de alrededor de 1 L, evitando utilizar chorros de agua para lavar la muestra. Se golpeará suavemente la abrazadera del tamiz con la palma de la mano para facilitar el lavado y la mejor separación de las fracciones. El lavado continúa hasta que el volumen del líquido en el interior del cilindro sea aproximadamente de 800 ml. En el tamiz habrá quedado la arena y una cierta proporción de limo grueso.

Las partículas de arena, ya lavadas, se secan a 105° C en una cápsula evaporadora, y se coloca en un desecador hasta que esté en condiciones de tamizarse y pesar el contenido total de fracciones gruesas. A la suspensión de limo y arcilla se le añade agua hasta completar un volumen de 1 L. Agitando el sistema antes de iniciar la operación de separación del limo y la arcilla utilizando la pipeta de Robinson:

Pipeteado de las fracciones finas

En primer lugar se pipetea la fracción menor de 20 μm a una profundidad de 10 cm, considerando que el tiempo de sedimentación varía con la temperatura. A continuación se pipetea la fracción menor de 2 μm , después de un tiempo predeterminado de deposición que, por lo general, oscila entre seis y seis horas y media, variando la profundidad de acuerdo con el tiempo transcurrido y la temperatura (Tabla 4.3).

El agua presente en las fracciones separadas se elimina por evaporación a 95° C, y se seca el residuo resultante a 105° C, para su pesada final.

Tabla 4.3.-Tiempo de sedimentación para partículas de 2, 5, y 20 μm de diámetro en agua para una profundidad de 10 cm

Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	TIEMPO DE SEDIMENTACIÓN					
	2 μm		5 μm		20 μm	
	horas	min	horas	min	min	seg
20	8	0	1	17	4	48
21	7	49	1	15	4	41
22	7	38	1	13	4	35
23	7	27	1	11	4	28
24	7	17	1	10	4	22
25	7	7	1	8	4	16
26	6	57	1	7	4	10
27	6	48	1	5	4	4
28	6	39	1	4	4	0
29	6	31	1	3	3	55
30	6	22	1	1	3	49
31	6	14	1	0	3	44

Tamizado de la fracción arena

Se coloca la fracción arenosa en una batería de tamices de los siguientes tamaños de paso de luz, considerados de arriba abajo: 1000, 500, 250, 177, 105, y 47 mm, y se procede a su tamizado.

Colocar la fracción retenida por cada tamiz en una cápsula tarada, empezando por el tamiz más alto. Pesar la cápsula e ir acumulando los pesos sucesivos después de cada adición, incluyendo el peso del limo residual que haya caído sobre la batea inferior, ya que este peso es parte de la fracción limosa gruesa. Comparar el peso acumulado de todas las fracciones con el peso total de las fracciones gruesas previamente determinado.

4.2.1.4.- *Determinación del contenido de materia orgánica*

En análisis de rutina la materia orgánica se determina mediante un método rápido, volumétrico, basado en el empleo de un exceso de agente oxidante.

El oxidante suele ser dicromato potásico. Si se emplea calor para realizar la oxidación es posible que parte del carbono elemental presente en la muestra es oxidado. Por ello suele emplearse una variante metodológica, conocida como método de Walkley Black, que sólo determina la materia orgánica activa, que tiene un mayor significado agrícola y medioambiental.

Procedimiento:

En un matraz erlenmeyer de 500 ml se introduce 1 g de suelo bien triturado, se añade 10 ml de dicromato potásico 0.5 M y 20 ml de ácido sulfúrico concentrado conteniendo 25 g de Ag_2SO_4 por litro. La mezcla de reacción se agita suavemente para evitar que el suelo quede adherido a las paredes del matraz y se deja en reposo 30 min. Simultáneamente se prepara un blanco con los mismos reactivos pero exento de muestra. Muestra y blanco se diluyen con 200 ml de agua y se añaden 10 ml de ácido fosfórico, 0.2 g de fluoruro sódico y 1 ml de difenilamina (disolver 0.5 g de la sal en 20 ml de agua y añadir 100 ml de ácido sulfúrico, agitando hasta disolución completa). Finalmente, se valora hasta color verde con sulfato ferroso amónico 0.25 M

La cantidad de carbono presente en la muestra puede calcularse mediante la expresión:

$$\% \text{carbono} = 3.89 \left(1 - \frac{ml}{B} \right)$$

siendo :

ml = ml gastados en la valoración de la muestra

B = ml gastados en la valoración del blanco

Si se quiere cuantificar la cantidad de *materia orgánica total*, se utiliza la siguiente expresión:

$$\% M.O. = 6.7 \left(1 - \frac{ml}{B} \right)$$

La adición de sulfato de plata al ácido elimina la posible interferencia originada por los cloruros.

En suelos ácidos con abundancia de óxidos de manganeso se añaden 2 ml de ácido fosfórico, 5 ml de agua, 1 ml de difenilamina y 5 ml de sulfato ferroso amónico. Transcurridos 10 min, se valora el exceso de sulfato ferroso con dicromato. La diferencia entre la cantidad de sulfato ferroso añadida y la encontrada después del contacto con el suelo es debida a la oxidación del hierro por los óxidos de manganeso. Ahora se puede determinar de nuevo el carbono pero añadiendo antes la cantidad determinada de sulfato ferroso amónico conjuntamente con 10 ml de ácido fosfórico. Se deja reposar 10 min y se realiza la valoración como se indicó previamente.

4.2.1.5.- *Determinación del contenido de óxidos de hierro libre*

En los procesos de diferenciación de los horizontes del suelo desempeña un papel preponderante la movilización y depósito de los óxidos de diversos elementos, especialmente los de hierro, siendo a veces de gran valor el poder establecer las proporciones relativas de los mismos en los diversos horizontes.

Todos los métodos de extracción se fundan en complejar estos óxidos con diversos reactivos (oxalatos, ditionito, etc), que los separa del suelo sin atacar los otros minerales existentes en el mismo. Uno de los procedimientos más extendidos es el de Holgrem (1967), basado en el empleo de una disolución ditionito-citrato sódico como agente extractante para separa el hierro libre. De esta forma se extraen los óxidos cristalinos de hierro, así como las formas inorgánicas no cristalinas de este elemento y el hierro complejado por sustancias orgánicas.

Procedimiento:

Introducir 2 g de suelo (con tamaño de partícula < 2mm) en un recipiente de polietileno de 250 ml y añadir 2 g de ditionito sódico y 20 g de citrato sódico, diluyendo con agua hasta 100 ml. Agitar en un volteador durante 16 h y filtrar. El extracto se recoge en un matraz aforado de 250 ml en el que se enrasa con agua destilada.

En la disolución resultante se evalúa el contenido de hierro colorimétricamente.

Determinación colorimétrica del hierro

Se lleva a cabo por su reacción con la o-fenantrolina en soluciones de pH de 2 a 6 , en las que forma un complejo rojo estable. La reacción se produce con

el hierro en forma ferrosa, por lo que es necesario la reducción cuantitativa del elemento, que se lleva a cabo con hidroquinona en presencia de citrato.

Preparación de los reactivos

Hidroquinona: al 1% en agua (debe prepararse diariamente)

Citrato sódico: se disuelvan 250 g de la sal en agua y se lleva a 1 L

o-fenantrolina: se disuelvan 0.5 g de la sal monohidratada en agua destilada en caliente. Se enfría y se lleva a 100 ml con agua destilada.

Hidróxido amónico: Mezclar volúmenes iguales de amoníaco concentrado y agua
Disolución patrón de hierro de 100 ppm: Disolver 100 mg de hierro metal en 20 ml de HCl 0.6 M y diluir a 1 L con agua destilada. A partir de esta disolución se obtienen disoluciones de 10 ppm.

Procedimiento

En matraces de 50 ml se colocan 10 ml de extracto conteniendo hierro y se desarrolla el color con 1.0 ml de disolución de o-fenantrolina, 1.0 ml de disolución de hidroquinona, 5 ml de citrato y suficiente cantidad de hidróxido amónico 1:1 para obtener un pH 3.5-4.0. Los reactivos deben añadirse en este orden y se debe tener cuidado de evitar altas concentraciones locales de hidróxido amónico que originaría la oxidación de la hidroquinona (por encima de pH 6

Curva de calibrado

En matraces aforados de 50 ml se transfieren volúmenes de 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 12.5 y 15.0 ml de una disolución de 10 ppm de hierro, aplicándole el procedimiento descrito previamente.

4.2.2.- Determinación de elementos traza

4.2.2.1.- Generalidades

Las normativas y métodos de referencia de carácter nacional o regional para el análisis de metales pesados no son frecuentes y sólo existen algunas metodologías establecidas internacionalmente (EPA 1986, ISO/CD 11466) para caracterizar la presencia de metales pesados en suelos y muestras sólidas de zonas contaminadas. Los métodos analíticos aplicados a suelos contaminados suelen basarse en los procedimientos recomendados para aguas, aguas residuales, lodos residuales, sedimentos y suelos agrícolas. Los análisis químicos de muestras de suelos pueden ser difíciles debido a las interferencias originadas por la compleja matriz del mismo.

El objetivo de esta normativa es definir métodos analíticos preferentes para arsénico, cadmio, cromo, cobre, plomo, mercurio, níquel, cinc, selenio, cobalto, estaño, manganeso, molibdeno y talio, en muestras de suelos, especificando los rangos de concentraciones para las que dichas metodologías son aplicables.

Los métodos se han escrito con suficiente detalle para asegurar la obtención de resultados comparables y correctos en los laboratorios que se dediquen al análisis de suelos. Sin embargo, la normativa no incluye una descripción detallada del trabajo usual que se desarrolla en los laboratorios para la realización de estos análisis.

Los métodos se han pensado para que sean fáciles de aplicar y relativamente rápidos, con el objeto de que puedan desarrollarse en laboratorios con equipamiento normal.

4.2.2.2.- Preparación de la muestra para el análisis

Casi todos los métodos para la determinación final de un elemento, especialmente los métodos de rutina, requieren la digestión de la muestra. La elección de una técnica de digestión debe tener en cuenta el objetivo de la determinación final, pudiendo, a veces, utilizarse procedimientos incompletos de digestión, que precisan menos tiempo y esfuerzo, con resultados aceptables para algunos propósitos. Estos procedimientos no liberan metales pesados fuertemente unidos a los minerales y que por tanto no son biodisponibles (Langston, 1994).

El análisis elemental total suele practicarse sobre la fracción fina del sedimento (< 2 mm), aunque a veces se utilizan otras fracciones granulométricas.

Numerosos estudios medioambientales utilizan datos sobre la presencia total de elementos en suelos o sedimentos, aunque es frecuente utilizar esta información en conjunción con otros análisis realizados sobre extractos resultantes de disoluciones más selectivas (citrato, ditionito u oxalato amónico) para conocer el impacto ambiental potencial de los suelos contaminados (Holmgren *et al*, 1992). Cualquier método de disolución debe conjugar el poder solubilizante del HF para los minerales de la arcilla (Soil Survey Laboratory Staff, 1992) con la capacidad de ataque del HNO₃, HClO₄, y/o HCl (Sawhney & Stilwell, 1994) para los constituyentes orgánicos de los suelos. Por otro lado, si se considera el hecho comprobado de la disolución incompleta de algunos tipos de arcilla por la acción del HF, se concluye sobre la necesidad de la acción conjunta de varios ácidos (HF, HNO₃, HCl) para la solubilización completa de una muestra de suelo.

Los procedimientos convencionales de ataque basados en el empleo de HF-HClO₄ en crisol de platino (Lim & Jackson, 1982), requieren numerosas horas de trabajo e implican, generalmente, numerosas pérdidas. Por ello diversos autores han estudiado el empleo de otros dispositivos (reactores cerrados de Teflon) para el ataque de las muestras. Así Wilson (Wilson *et al*, 1997) afirma que las mayores recuperaciones en la extracción total de los diversos elementos presentes en un suelo se logra mediante un ataque con HF y agua regia (1:3 HNO₃:HCl) en bomba de Teflon en estufa u otros dispositivos de aporte de calor. No obstante, otros autores (Kirchner *et al*, 1988) afirman que la elección del reactivo ácido utilizado en el ataque de la muestra depende de la técnica empleada para la determinación final de los elementos presentes en la muestra, así se aconseja el agua regia si es preciso emplear la absorción atómica con cámara de grafito, sin embargo, para trabajar con llama es preferible el empleo de ácido nítrico.

Más recientemente se ha propuesto el uso de dispositivos de microondas con objeto de reducir el tiempo de ataque de la muestra e incrementar la recuperación de la extracción (USEPA, 1990; Stilweel, 1993; Krishnamurti *et al*, 1994). Las digestiones inducidas por microondas tienen otras ventajas adicionales como la reducción de las pérdidas, el empleo de cantidades inferiores de reactivos (Nieuwenhuize *et al*, 1991) y un mayor control de las condiciones experimentales, que otros dispositivos de calentamiento tradicionales (Kalra *et al*, 1989), lo que permite una mayor reproducibilidad de las experiencias. Generalmente, puede digerirse satisfactoriamente un suelo en sistema de microondas empleando HNO₃ como reactivo extractante y este procedimiento ha sido propuesto por la EPA en 1990. No obstante Xiang & Veneman (1998) han comprobado que puede lograrse un método más general de ataque, aplicable a muestras con contenidos elevados de materia orgánica o manganeso con la

adición de H_2O_2 al HNO_3 , ya que el H_2O_2 contribuye a la oxidación completa de la materia orgánica y por tanto a la solubilización de los metales unidos a ella.

4.2.2.2.1.- Procedimientos de digestión

Ataque en estufa

HF+Agua regia

Una muestra de suelo de 100 mg se introduce en reactor de Teflon y se le añaden 5 ml de HF y 1 ml de agua regia (1:3 HNO_3 :HCl), el reactor se cierra herméticamente y se calienta en estufa a $110^\circ C$ durante 5 h. Después de completar el ataque, el reactor se abre y se añaden 2.5 g de H_3BO_3 , transfiriéndose la mezcla a un matraz aforado de 100 ml que se enrasa con agua destilada.

Ataque en dispositivos de microondas

HNO_3

250 mg de suelo rico en materia orgánica o 500 mg en caso de suelos constituidos fundamentalmente por componentes minerales, se tratan en un reactor de Teflon PFA de 120 ml con 10 ml de HNO_3 concentrado. Se introduce el reactor en un sistema de microondas cuya potencia se ajusta a 950 W, se espera hasta que el sistema alcanza una temperatura de $180^\circ C$ la cual se mantiene durante 10 min. Una vez completado el ataque, el reactor se enfría y el extracto resultante se filtra a través de papel Whatman n° 42, recogiendo el filtrado en matraces aforados de 50 ml (lavados previamente con HNO_3 al 5%). El reactor se lava tres veces con agua destilada, transvasando los líquidos de lavado al matraz a través del filtro. Finalmente, el matraz se enrasa con agua destilada.

$HNO_3+H_2O_2$

Se lleva a cabo un ataque con HNO_3 análogo al descrito en el apartado anterior, añadiendo entonces 2 ml de H_2O_2 y repitiendo el mismo programa de tratamiento descrito previamente. La filtración y dilución del extracto resultante se lleva a cabo de forma análoga al tratamiento con HNO_3 .

Ataque en autoclave

Se pesa aproximadamente 1 g con una exactitud de 0.001 g de la muestra de laboratorio seca (fracción < 2 mm) en un reactor de vidrio Pyrex de 100 ml con cierre roscado de polipropileno. El reactor y el cierre deben resistir una temperatura de 120°C y presiones de 200 kPa. Añadir 20 ml de ácido nítrico (1:1) y calentar la mezcla en un autoclave a 120 °C (200 kPa) durante 30 min. Dejar enfriar, filtrar y transferir la disolución a un matraz aforado de 100 ml diluyendo con agua destilada hasta el enrase. La disolución obtenida se transfiere a un frasco de plástico para su conservación y análisis. El extracto resultante está preparado para la determinación de los metales. Preparar disoluciones blanco siguiendo el mismo procedimiento con los reactivos empleados.

Alternativamente, las muestras pueden tratarse en bombas de teflon (PTFE), añadiendo el mismo volumen de ácido nítrico y calentando los reactores en un horno de microondas (Littlejohn *et al*, 1991; Nieuwenhuize *et al*, 1991).

Es necesario extraer dos alícuotas de cada muestra de suelo y preparar los blancos correspondientes.

Estos procedimientos se utilizan cuando el contenido de materia orgánica en la muestra de suelo es inferior al 50%. Para muestras con altos contenidos de materia orgánica, es necesario ampliar la digestión con ácido nítrico a varias horas o tratar la muestra durante la noche con este ácido antes de llevar a cabo la etapa de calentamiento.

Reactivos

Los reactivos utilizados deben reunir los requerimientos de pureza que precisen los posteriores análisis. Al menos es necesario emplear reactivos de grado analítico. El agua debe ser doblemente destilada o de pureza similar. La pureza de este reactivo debe comprobarse llevándose a cabo ensayos en blanco.

Lavado del material de vidrio

Antes de su uso, todo el material de vidrio debe lavarse cuidadosamente con ácido nítrico al 10% y enjuagarse varias veces con agua doblemente destilada o purificada por intercambio iónico.

4.2.2.3.- *Métodos instrumentales*

Las técnicas analíticas para el análisis de metales pesados en muestras de suelo son muy diversas y su elección depende del rango de concentración en que se encuentra el metal en la muestra y del tipo de metal analizado.

Las técnicas usuales son las siguientes:

- a. Espectrometría de absorción atómica de llama (AAS)
- b. Espectrometría de absorción atómica con atomización electrotrémica (GFAAS)
- c. Espectrometría de absorción atómica con generación de hidruros (HGAAS)
- d. Espectrometría de absorción atómica con técnica de vapor frío (CVAAS)
- e. Espectrometría de fluorescencia atómica (AFS)
- f. Espectrometría de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES)
- g. Espectrometría de plasma acoplado inductivamente con detector de masas (ICP-MS)
- h. Espectrometría de fluorescencia de rayos X (XRF)

4.2.2.3.1.- *Criterios para la elección del método*

Los métodos a,b,f,g y h pueden usarse prácticamente para todos los elementos/metales pesados; d y e están diseñados para la determinación de Hg; finalmente, c y e resulta especialmente útil para elementos/metales pesados formadores de hidruros, como As, Se, Sb, y Sn.

La elección de un método para un elemento concreto depende de la cantidad o concentración que se espere encontrar de dicho elemento en la muestra, siendo con frecuencia necesario disponer de varios métodos para evaluar la presencia todos los elementos presentes en una muestra.

Las técnicas analíticas multielementales y automatizadas resultan particularmente útiles al ser generadoras de grandes series de datos con una inversión mínima de esfuerzo y tiempo. La espectrometría de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES) es una de las que presentan mayores ventajas en este sentido, al poseer un gran potencial en el análisis multielemental, con una respuesta lineal amplia y un efecto matriz muy limitado.

La espectrometría de plasma acoplado inductivamente con detección de masas (ICP-MS) es enormemente valiosa para la detección multielemental simultánea de elementos en rangos de concentración muy bajos, pero precisa de operarios con mayor adiestramiento y experiencia que el ICP-AES y la GFAAS.

La espectrometría de fluorescencia de rayos X es una técnica analítica multielemental, no destructiva y automatizable, que permite una evaluación rápida de los suelos contaminados, siendo posible disponer de instrumentos portátiles para efectuar análisis de campo.

En la Tabla 4.4 se muestran las concentraciones óptimas de metales que pueden determinarse para cada método referidas a una disolución de muestra digerida cuya concentración se expresa en mg/l. Asimismo, se resume las concentraciones que pueden determinarse en la muestra misma (expresadas en mg/kg), suponiendo que se parte de 1 g de suelo que se digiere y diluye hasta 100 ml. Lógicamente, las muestras pueden situarse en el rango de concentraciones que permite la técnica mediante operaciones de concentración o dilución, aunque estas manipulaciones suelen constituir fuentes adicionales de error.

Tabla 4.4.- Intervalo idóneo de concentración para cada técnica analítica

Técnica	Intervalo de concentración aproximada expresada como mg/l y (mg/kg)				
	>10 (>1000)	1-10 (100-1000)	0.1-1 (10-100)	0.01-0.1 (1-10)	<0.01 (<1)
AAS (llama)	+	+	+	+/-	-
AAS (electrotérmica)	-	-	+/-	+	+
AAS (hidruros)	-	-	-	+	+
AAS (vapor frío)	-	-	-	+	+
AFS	-	-	-	+	+
ICP-EAS	+	+	+	+/-	-
ICP-MS	-(+)	-(+)	+	+	+
FRX	+	+	+	+/-	-

+ = aplicable

(+) = aplicable al seleccionar en el aparato un modo de detección alternativo

+/- = detección posible/sólo aplicable en algunos casos

- = no aplicable

4.2.2.3.2.- Métodos basados en la absorción atómica

Una vez que hemos disuelto la muestra y tenemos los metales en disolución estos pueden determinarse por espectroscopía de absorción atómica. Los límites de detección de la técnica, así como su sensibilidad y rangos óptimos de determinación de los metales varían con el tipo de matriz de la muestra e incluso con el instrumento.

Las técnicas de determinación basadas en la absorción atómica fundamentan sus análisis en el empleo de elementos simples, estando la muestra, teóricamente, completamente atomizada y relativamente libre de interferencias interelementales. No obstante si pueden producirse interferencias químicas originadas por atomizaciones incompletas en la llama. Para aumentar la sensibilidad de los análisis por este tipo de interferencias pueden emplearse agentes complejantes o separar el metal que se analiza del material interferente. La presencia de sólidos disueltos en la muestra puede provocar interferencias como consecuencia de la dispersión de la radiación. La forma de evitar esta interferencia es utilizar una corrección de fondo.

También se producen *interferencias químicas* cuando la temperatura de la llama es suficientemente alta como para producir la liberación de un electrón de los átomos neutros, formándose un ión positivamente cargado. Este tipo de interferencia puede controlarse por la adición, tanto a los patrones como a las muestras disueltas, de un gran exceso de un elemento fácilmente ionizable como K, Na, Li, o Cs.

Las *interferencias espectrales* se presentan cuando un elemento que acompaña al elemento que se analiza absorbe dentro de la línea de absorción espectral del mismo. Ello trae como consecuencia una absorción anormalmente alta debido a la contribución del elemento interferente.

La *generación de hidruros* en AAS evita los problemas de las interferencias por separación del analito de la matriz antes del análisis. No obstante pueden también presentarse interferencias en los siguientes casos: 1) metales fácilmente reducibles (Cu, Ag, Hg); 2) alta concentración de metales de transición (> 200 mg/L); 3) presencia de agentes oxidantes como los óxidos de nitrógeno formados durante la digestión de la muestra.

La *AAS con vapor frío* utiliza la reducción química para reducir al mercurio selectivamente. Cuando el mercurio forma uniones complejas puede no liberarse durante el proceso de reducción (por ejemplo, si el elemento de encuentra como metilmercurio), siendo necesario en estos casos llevar a cabo un pretratamiento previo para poder determinar el elemento). La técnica de vapor

frío puede estar también sujeta a la interferencia de compuestos orgánicos volátiles, del cloro y de los compuestos de azufre.

En la técnica de AAS con homo, las interferencias químicas constituyen el problema más importante. En general, estas interferencias pueden eliminarse utilizando disoluciones de calibración cuya composición sea lo más similar posible a la composición de la muestra. Cuando la composición de la muestra cambia considerablemente de unos casos a otros, o los efectos de la matriz son muy complejos debe utilizarse el método de calibración de adiciones estándar. Otra alternativa para reducir las interferencias de la matriz dentro de esta metodología, e incrementar la sensibilidad, es emplear hornos con plataformas de L'vov. Asimismo, es frecuente emplear modificadores de matriz para que los problemas de interferencias se reduzcan.

En las Tablas 4.5 a 4.7 se recogen las características más usuales en cuanto a longitud de onda de medida, sensibilidad, interferencias, condiciones instrumentales de trabajo etc, de las determinaciones de los diversos elementos mediante espectroscopía de absorción atómica.

Tabla 4.5.- Características instrumentales de las determinaciones por espectroscopía de absorción atómica de llama

Elemento		AAS-llama				interferencias - observaciones
		llama	long. onda (nm)	rendija (nm)	conc. óptima (µg/ml)	
<i>Absorción molecular:</i>						
- llama y especies en disolución						
- corrección del fondo con lampara de D2						
As	Óxido nítrico - acetileno (estequiométrica)	193.7	1.0	30 - 190	0.64	La llama aire-acetileno tiene una elevada sensibilidad pero origina mayores interferencias espectrales que la de óxido nítrico-acetileno
		197.2	1.0	40 - 200	0.88	
		189.0	1.0	70 - 300	1.3	
<i>Para determinar As en niveles de ultratrazo se recomienda la técnica de generación de hidruros (Tabla 4.7)</i>						
Cd	Aire - acetileno (oxidante)	228.8	0.5	0.2 - 1.8	0.009	<i>Dados los niveles usualmente bajos de Cd en muestras de suelos concentraciones se recomienda emplear la técnica de cámara de grafito (Tabla 5)</i>
		326.1	0.5	180 - 800	4.0	
Co	Aire - acetileno (oxidante)	240.7	0.2	2.5 - 9	0.05	<i>Se recomienda emplear la cámara de grafito para la determinación de microcantidades de este elemento en muestras de suelos (Tabla 4.6)</i>
		304.4	0.2	45 - 180	1.0	
Cr	Aire - acetileno (muy reductora)	357.9	0.2	2 - 15	0.05	Fe, Co, Ni, Ba, Al, Na - llama óxido nítrico-acetileno Cr(III) y Cr(VI) originan respuestas diferentes: * llevar al mismo estado de oxidación <i>Para lograr mayor sensibilidad y precisión se recomienda el empleo de llama óxido nítrico-acetileno o cámara de grafito (Tabla 4.6)</i>
		359.3	0.2	4 - 20	0.09	
		360.5	0.2	5 - 30	0.10	
		425.4	0.2	7 - 40	0.17	
		428.9	0.2	15 - 60	0.35	
Cu	aire - acetileno (oxidante)	324.7	0.5	1 - 5	0.025	<i>Se recomienda el uso de la cámara de grafito para la determinación de microcantidades de este elemento en muestras de suelos (Tabla 4.6)</i>
		327.4	0.5	2.5 - 10	0.050	
		217.9	0.2	7.5 - 30	0.16	
		222.6	1.0	45 - 180	1.0	
		249.2	0.5	180 - 730	4.0	
		244.2	1.0	400 - 1700	9.0	

Tabla 4.5 (continuación)

	llama	long. onda (nm)	rendija (nm)	conc. óptima (µg/ml)	sensibilidad (µg/ml)	interferencias - observaciones
Hg	Aire - acetileno (oxidante)	253.7	0.5	73 - 290	1.6	Hg(I) y Hg(II) originan respuestas diferentes. Debe añadirse SnCl ₂ a las muestras y patrones para obtener respuestas reproducibles <i>El Hg se encuentra en los suelos en niveles de trazas por lo que se recomienda su determinación mediante la técnica de vapor frío (Tabla 4.7)</i>
		313.3	0.2	5 - 20	0.11	
Mo	Óxido nitroso - acetileno	317.0	0.2	8 - 30	0.17	Añadir 1000 µg/l de Al que actúa como agente liberador del Mo
		319.4	0.2	10 - 42	0.23	
		320.9	0.2	90 - 360	2.0	
		232.0	0.2	1.8 - 8	0.04	
Ni	Aire - acetileno (oxidante)	341.5	0.2	6 - 25	0.12	En análisis de rutina se recomienda utilizar las líneas a 341.5 nm y 352.4 <i>Para microcantidades de este elemento se recomienda el uso de la cámara de grafito (Tabla 4.6)</i>
		352.4	0.5	6 - 28	0.14	
		351.5	0.5	20 - 80	0.4	
		217.0	1.0	2.5 - 20	0.06	
Pb	Aire - acetileno (oxidante)	283.3	0.5	4.0 - 50	0.16	Se recomienda la línea a 283.3 para análisis de rutina Para microcantidades de este elemento se recomienda el uso de la cámara de grafito (Tabla 4.6)
		261.4	0.5	100 - 460	2.5	
		196.0	1.0	45 - 185	1.0	
Se	Óxido nitroso - acetileno	204.0	0.5	140 - 550	3.0	Se presentan interferencia espectrales originadas por especies moleculares que se corrigen usando la lámpara de D ₂ <i>El Se se encuentra en los suelos en niveles de traza por lo que se recomienda su determinación con cámara de grafito (Tabla 4.6)</i>
		206.3	0.5	590 - 2400	13.0	
		207.5	0.5	2100 - 8200	45.0	
	llama	long. onda (nm)	rendija (nm)	conc. óptima (µg/ml)	sensibilidad (µg/ml)	interferencias - observaciones
Sn	Óxido nitroso - acetileno	235.5	0.5	35 - 135	0.72	<i>Se recomienda el empleo de la cámara de grafito (Tabla 4.6)</i>
		286.3	0.5	45 - 170	0.93	
		224.6	0.2	70 - 100	1.45	
		233.5	0.5	200 - 700	3.67	
		266.1	0.5	980 - 3900	21.60	

Tabla 4.5 (continuación)

	llama	long. onda (nm)	rendija (nm)	conc. óptima (µg/ml)	sensibilidad (µg/ml)	interferencias - observaciones
Tl	Aire - acetileno (oxidante)	276.8	0.5	16 - 65	0.35	Las interferencias por ionización se reducen añadiendo KCl o KNO ₃ en concentración final de 2000 µg/ml como supresor de la ionización
		377.6	0.5	50 - 200	1.1	
		237.9	0.5	110 - 450	2.4	
		258.0	0.5	400 - 1600	8.8	
Zn	Aire - acetileno (oxidante)	213.9	0.5	0.4 - 1.5	0.008	Las interferencias espectrales originadas por especies moleculares en la llama se eliminan empleando corrección de fondo con lámpara de D ₂
		307.6	0.5	3000 - 12000	66	

Tabla 4.6.- Características instrumentales de las determinaciones por espectroscopía de absorción atómica con cámara de grafito

Elemento	GFAAS					Interferencias - observaciones
	Long. de onda (nm)	Temperatura de pretratamiento (en medio HNO ₃) (° C)	Temperatura de atomización (° C)	Sensibilidad* - Ar (ng/ml)	Nivel típico de respuesta** (ng/ml)	
						Modificadores de matriz:
Cd	228.8	300	1800	0.013	1.0	* H ₃ PO ₄ * (NH ₄) ₂ H ₂ PO ₄
Co	240.7	800	2300	0.2	15	
Cu	324.7	800	2300	0.13	10	
Cr	357.9	1100	2500	0.08	5.5	Es necesaria una etapa de limpieza tras la medida para eliminar los problemas de memoria en el homo
Mo	313.3	1200	2700	0.4	30	Es necesaria una etapa de limpieza tras la medida para eliminar los problemas de memoria en el homo
Ni	232.0	900	2400	0.25	20	
Pb	283.3	400	2000	0.28	20	Se emplean varios modificadores de matriz como AEDT, ácido fosfórico, fosfato amónico, ácido ascórbico y ácido tartárico
Se		700	2400	1.0	20	Como modificador de matriz se utiliza el nitrato de níquel en concentraciones de 0.05 a 0.1 %
Sn	235.5	800	2500	1.1	75	Como modificador de matriz se utiliza diamonio hidrogen citrato al 1%. Otros modificadores son el AEDT , NH ₄ H ₂ PO ₄ y (NH ₄) ₂ HPO ₄
Tl	276.8	400	2200	1.0	70	Como modificador se utiliza H ₂ SO ₄ al 1%

* Concentración de un elemento que origina un pico de 0.0044 unidades de absorbancia

** Concentración de un elemento que origina aproximadamente 0.3 unidades de absorbancia para una inyección de 20 µl de muestra

Tabla 4.7.- Características instrumentales de las determinaciones por espectroscopía de absorción atómica con generación de hidruros y vapor frío

	long. onda (nm)	rendija (nm)	atomización	reductor	volumen de muestra (ml)	sensibilidad (ng que origina una absorbancia del 1%)	interferencias - observaciones
As	193.7	0.7	calentamiento del tubo en T con llama aire-acetileno	NaBH ₄ al 3% en NaOH al 1%	10 a 50	0.95	
Hg	253.6	0.7	no se precisa	NaBH ₄ al 3% en NaOH al 1%	10 a 50	4.68	

2.2.3.3.- Espectroscopía de emisión de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES)

Esta técnica tiene también carácter destructivo y precisa de la disolución de la muestra. El método mide la radiación que los diversos elementos presentes en la muestra emiten mediante espectrometría óptica. Las muestras se nebulizan y el aerosol resultante se introduce en la antorcha de plasma. La elevada energía del plasma provoca el espectro de línea característico de cada elemento. El conjunto de líneas procedente de la antorcha se dispersa con una red de difracción y las intensidades de las diversas líneas se monitorizan con tubos fotomultiplicadores.

Las longitudes de onda de medida recomendadas para los diversos elementos (Tabla 4.8) pueden sustituirse por otras si ello representa una mejora de la selectividad. Los límites de detección, sensibilidad y rangos óptimos de concentración de los metales varían con las matrices y el tipo de espectrómetro. En la Tabla 4.9 se recogen los valores medios de algunas de estas magnitudes.

Interferencias

La principal desventaja de la técnica ICP-AES es la posibilidad de solapamiento espectral y la influencia de la radiación de fondo de otros elementos y del propio gas plasmógeno. Aunque la mayoría de los instrumentos de ICP utilizan una óptica de alta resolución y corrección de fondo para minimizar estas interferencias, los análisis de trazas de metales en presencia de un gran exceso de un determinado metal reviste dificultades.

Las *interferencias espectrales* son originadas por: 1) solapamiento de una línea espectral de otro elemento; 2) solapamiento con un espectro molecular; 3) señal de fondo originada por la recombinación de iones y electrones del gas plasmógeno; 4) luz dispersa de las líneas de emisión de elementos presentes a elevadas concentraciones. El solapamiento espectral puede compensarse por corrección de los datos dudosos con un programa de filtrado de señales después de monitorizar y medir el elemento interferente. En algunos casos puede elegirse otra longitud de onda para la medida. La contribución de la señal de fondo y la radiación dispersa puede compensarse utilizando una corrección de fondo adyacente a la línea del analito. Las interferencias espectrales potenciales para determinadas longitudes de onda se muestran en la Tabla 4.8.

Interferencias espectrales hipotéticas pueden investigarse comparando los espectros de analitos puros con espectros típicos del mismo analito en diversas matrices.

Algunos problemas de interferencias pueden resolverse empleando patrones internos o, alternativamente, la técnica de adiciones estándar.

Las *interferencias físicas* son efectos asociados con la nebulización de la muestra y los procesos de transporte. Los cambios de viscosidad y de tensión superficial pueden provocar inexactitudes importantes, especialmente en muestras que contengan elevadas concentraciones de sólidos disueltos o de ácidos. Si se producen interferencias físicas estas deben reducirse por dilución de la muestra, utilizando una bomba peristáltica, o empleando un patrón interno o mediante adiciones estándar.

Las *interferencias químicas* comprenden la formación de compuestos moleculares y los efectos de la ionización del soluto. Las interferencias químicas dependen en gran medida del tipo de matriz y del elemento que se analice. Normalmente, estas interferencias químicas son pequeñas al emplear la técnica de emisión de plasma.

Tabla 4.8.- Longitudes de onda recomendadas e interferencias espectrales en ICP-AES

Elemento	Longitud de onda (nm)	Interferencia
Arsénico	193.696	Al, Cr, V
Cadmio	226.502	Fe, Ni
Cromo	267.716	Mn, V
Cobre	324.754	Tl, V
Plomo	220.353	Al
Níquel	231.604	
Zinc	213.856	Cu, Ni
Mercurio	194.16	

4.2.2.3.4.- Espectroscopía de plasma acoplado inductivamente con detector de masas (ICP-MS)

El desarrollo de ICP-MS, que acopla un dispositivo ICP con un espectrómetro de masas de tipo cuadrupolo, combina la capacidad multielemental del ICP con la sensibilidad del espectrómetro de masas. El sistema ICP-MS separa los iones de acuerdo con sus relaciones masa/carga. En el sistema ICP-MS los límites de detección están en el rango 0.02 a 0.1 ng/ml, lo que representa hasta dos órdenes de magnitud respecto al dispositivo ICP-AES. Además, prácticamente todos los elementos pueden determinarse y los límites de detección no difieren de unos elementos a otros.

Interferencias

Los límites de detección de algunos elementos ligeros son superiores a los de los elementos pesados lo cual se debe a la presencia de interferencias de iones poliatómicos tales como As ($^{75}\text{As}^+$ con $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$).

Las interferencias originadas por cambios en la composición de la matriz pueden proceder de cambios en la nebulización, en la ionización del plasma, y en la energía de los iones. Los efectos sobre la nebulización pueden minimizarse optimizando el flujo gas aerosol.

Las interferencias espectrales isobáricas son causadas por isótopos de elementos con el mismo número de masa. Estas interferencias isobáricas pueden corregirse con un software adecuado. Las interferencias espectrales se originan por la presencia de especies iónicas doblemente cargadas e iones poliatómicos procedentes de las especies de argón, óxidos de los analitos, etc, dependiendo del flujo de aerosol y de la potencia de radiofrecuencia. Las concentraciones de las especies interferentes cambian con la localización de la muestra en el plasma.

4.2.2.3.5.- Espectrometría de fluorescencia de rayos X (FRX)

Esta técnica es una de las más ampliamente utilizadas en los métodos instrumentales de rutina para análisis de rocas y constituye una buena técnica en el análisis de suelos. Casi todos los elementos desde el boro al uranio, cuyas concentraciones se encuentran entre la ppm y el 100 % de riqueza, pueden medirse en la misma muestra. Las muestras se preparan en forma de comprimidos a partir del material pulverizado o en forma de discos fundidos. Para un análisis rápido, la muestra homogeneizada puede medirse directamente. Las muestras se excitan con radiación X emitiendo los átomos presentes rayos-X (fluorescencia) de energía característica para cada elemento.

Interferencias

Uno de los problemas más serios para el análisis por fluorescencia de rayos-X es la influencia de la concentración de los diversos elementos presentes en las muestras sobre la intensidad de una determinada línea de fluorescencia. Estas interferencias se denominan efecto matriz, inter-elementales o más específicamente efectos de absorción-reforzamiento. Existen procedimientos matemáticos adecuados para tener en cuenta estos efectos.

4.2.2.4.- *Requerimientos analíticos en el estudio de los suelos*

Antes de iniciar cualquier estudio sobre la contaminación de un suelo, es importante establecer los objetivos del trabajo a realizar, desde una perspectiva analítica, definiendo claramente la precisión y límite de detección requeridos.

Un estudio detallado del nivel y la extensión de la contaminación de un suelo requiere la realización de análisis específicos que sean capaces de establecer los valores límites de los contaminantes presentes. La Tabla 4.9 proporciona los límites de detección para las diferentes técnicas analíticas comentadas. Estos límites de detección deben entenderse sólo como una guía, pudiendo variar de un tipo de suelo a otro. Los límites de detección pueden también variar con el modelo y el tipo específico de instrumento. Si la calidad de un suelo se mide sobre la base de los valores límites de contaminación, el método analítico debe poseer un límite de detección que sea la décima parte de los valores límites de contaminación del suelo.

A veces puede ser suficiente establecer si un contaminante está o no presente (métodos rápidos de evaluación de la contaminación). Para esta finalidad la fluorescencia de rayos X puede constituir una buena técnica de diagnóstico.

Tabla 4.9.- Límites de detección de las diversas técnicas atómicas ($\mu\text{g/l}$)

Elemento	AAS- llama	AAS electrotérmico	AAS generación hidruros	ICP-AES	ICP-MS
Arsénico	--	0.5	0.03	30	0.006
Cadmio	9	0.013	--	1.5	0.003
Cromo	50	0.08	--	3	0.02
Cobalto	50	0.2	--	3	0.0009
Cobre	25	0.13	--	1.5	0.003
Mercurio	--	1.5	0.009	30	0.004
Molibdeno	110	0.4	--	7.5	0.003
Níquel	40	0.25	--	6	0.005
Plomo	60	0.28	--	30	0.001
Selenio	--	1.0	0.03	90	0.06
Estaño	--	0.5	--	60	0.002
Talio	350	1.0	--	60	0.0005
Zinc	8	0.1	--	1.5	0.003

4.2.3.- Evaluación de la movilidad de los elementos presentes en los suelos

4.2.3.1.- Procedimientos más utilizados

Para cuantificar la movilidad potencial de los elementos presentes en los suelos, se pueden utilizar métodos químicos. Pudiendo distinguirse dos grandes tendencias:

- a) Métodos que determinan las fracciones de metales disponibles por las plantas
- b) Métodos que permiten una diferenciación entre las diversas asociaciones de los metales y los constituyentes del suelo.

Todo ello está en relación con la necesidad de evaluar, tanto la *disponibilidad* de los elementos presentes en los suelos por las plantas que se desarrollan en ellos (biodisponibilidad), como la *movilidad* de los mismos por la acción de factores exógenos, que pueden determinar su potencial efecto tóxico o perjudicial.

Para la evaluación de la biodisponibilidad de los metales pesados se han propuesto numerosos métodos, basados en el uso de extractantes multielementales, o en palabras de van Raij (van Raij, 1994) "*Extractantes Universales de Suelos*", cuyos ejemplos más representativos se muestran en la Tabla 4.10 (Novozansky et al, 1993), agrupados en función de las características comunes a todos ellos.

Tabla 4.10.- Procedimientos de extracción simples para metales pesados en suelos

Grupo	Extractante
Agua	agua
Extracciones ácidas	HNO ₃ (0.43 - mol/l)
	Agua regia HCl (0.1 - 1 mol/l)
Agentes quelatantes	EDTA (0.01 - 0.05 mol/l)
	DTPA (0,005 mol/l)
	AB-DTPA (AB= bicarbonato amónico)
	DTPA (0.005 M)+trietanolamina-TEA DTPA (0.005M)+CaCl ₂ (0.05 M)+trietanolamina-TEA(0.05M)
Disoluciones tampón	NH ₄ -acetato 1M/ácido acético buffer (pH 4.8)
	NH ₄ -acetato 1 M (pH 7)
Disoluciones salinas no tamponadas	CaCl ₂ 0.1 M
	CaCl ₂ 0.05 M
	CaCl ₂ 0.01 M
	BaCl ₂ 0.08 M
	NaNO ₃ 0.1 M
	NH ₄ NO ₃ 1 M

Los agentes quelatantes como el EDTA o el DTPA, en forma de sales sódicas, y a veces en presencia de trietanolamina (TEA) y CaCl_2 son muy utilizados como extractantes por su capacidad para formar complejos estables con metales di- y trivalentes, liberables a partir de la matriz sólida de los sedimentos. No obstante la mejor relación entre la cantidad de metal extractable a partir del suelo y el contenido en las plantas, al margen de las características del suelo, se ha logrado con disoluciones salinas como NaNO_3 0.1 M o NH_4NO_3 1M. De manera análoga, el CaCl_2 proporciona una buena información de la biodisponibilidad de diversos metales.

Estos procedimientos *suaves* nos van a permitir evaluar los posibles procesos de liberación de metales, así como su biodisponibilidad, proporcionando una información directa sobre la peligrosidad a *corto plazo* de dichos elementos. Existe, no obstante, una gran diversidad de criterios sobre la información que proporcionan estos extractantes, así Iyengar *et al* (1981) comprobó que la asimilación de Zn por las plantas estaba correlacionado positivamente con las fracciones intercambiable, adsorbida, unida a compuestos orgánicos y residual, de dicho elemento. Por su parte LeClaire *et al* (1984), en suelos de zona áridas, comprueba que las fracciones extraídas por KNO_3 y H_2O representan formas metálicas inmediatamente extraíbles por las plantas, y que las fracciones de Zn extraídas por KNO_3 y H_2O representan la cantidad total de este metal disponible. Sin embargo, el Zn extraído por EDTA y HNO_3 representan la reserva de metal potencialmente disponible y no disponible, respectivamente. McLaren y Crawford (1973) proponen relacionar la fracción de Cu unido a la materia orgánica como representante de la reserva de este elemento que puede ir pasando a la fase acuosa en equilibrio con el suelo.

Saurbeck & Hein (1991) han comprobado que el empleo de DTPA y DTPA/TEA no representa suficientemente bien la disponibilidad de Ni, ya que con estos extractantes se disuelve una gran proporción de níquel independientemente de la fase a la que se encuentre unido. La mezcla DTPA/ CaCl_2 /TEA daba resultado y correlaciones más satisfactorias respecto a su asimilación por las plantas. No obstante los mejores resultados se obtienen con CaCl_2 . En este mismo sentido se manifiesta Deluisa *et al* (1996), comprobando la capacidad del CaCl_2 para caracterizar la biodisponibilidad del cobre en suelos de viñedos. En este mismo sentido, Zachmann & Block (1994) recomienda el uso de BaCl_2 como extractante (basándose en la norma DIN 19 684-8), para estimar la posible acción a corto plazo de las formas químicas fácilmente extraíbles. Este mismo autor recomienda el empleo de procedimientos experimentales más complejos (extracciones secuenciales) para evaluar la acción de factores medioambientales a *largo plazo*.

Loring & Rantala (1988) han comparado la capacidad extractante relativa del ácido acético al 25% (v/v) frente al HCl 1M, para caracterizar los metales débilmente unidos a estas matrices. De esta forma, se obtiene una información más adecuada sobre elementos biodisponibles empleando ácido acético al 25 %,

en lugar de HCl 1M (Schramel, 1989), ya que este último reactivo libera importantes cantidades de metales integrados en la estructura aluminosilicatada de los suelos, y por tanto poco probable de ser disponibles por la biota.

Junto a estos métodos que sólo distinguen entre metal residual y metal no residual, existen otros más elaborados que hacen uso de extracciones con diversos extractantes utilizados en un orden determinado: *extracciones secuenciales*. Para ello emplea reactivos químicos con poder lixivante creciente, los cuales producen extractos acuosos en los que se mide las concentraciones de los metales liberados a partir del suelo. La información obtenida mediante estas extracciones secuenciales permiten establecer las trazas metálicas unidas a las distintas fases del sólido y su posible movilización, así como la caracterización de los procesos biogeoquímicos que se producen. A veces, este tipo de estudio precisa la determinación complementaria de los niveles de metales en las plantas o fauna que crecen o viven en los suelos y sedimentos estudiados.

La mayor parte de los procesos que controlan la movilidad y biodisponibilidad de metales están influidos por los cambios de pH. Los valores típicos de pH en el medio natural varían ampliamente: en los suelos se encuentran en el rango 4 a 9 (Baas-Becking, 1960) e incluso alcanzan valores más altos; en los sedimentos marinos, los valores normales de pH son 6-8; y en zonas mineras se pueden alcanzar valores de pH 2. Un descenso en el pH produce la liberación de los metales del suelo o sedimento, los cuales pueden servir de micronutrientes para las plantas o alcanzar niveles tóxicos para los diversos organismos. Por tanto, es necesario evaluar la concentración de metal liberado a los distintos pH que puedan afectar al medio natural.

Para ello se han descrito los métodos de *acidificación progresiva*, que evalúan la cantidad de metal liberado en sistemas naturales mediante cambios de pH (Lyle, 1984) o en experiencias de laboratorio en las que el sedimento se trata con soluciones amortiguadoras (Trefry & Metz, 1984) o con ácidos fuertes a distintas concentraciones (Gambrell, 1980).

El uso de extracciones secuenciales, aunque tedioso, proporciona una información más completa sobre el origen, forma en que se encuentra, disponibilidad físico-química y biológica, movilidad y transporte de elementos trazas. Se han comparado los resultados obtenidos con el método de la acidificación progresiva con el esquema de extracción secuencial de Tessier (Tessier, 1979), llegándose a la conclusión de que la información obtenida por ambos procedimientos puede ser complementaria: la extracción secuencial muestra la distribución del metal en las distintas fases mientras que la acidificación sucesiva informa sobre la liberación de metal a partir del suelo cuando cambian las condiciones de pH del medio (Rauret, 1991).

Los esquemas de fraccionamiento o *extracciones secuenciales* de metales en sedimentos o suelos pueden clasificarse, según la forma operativa de

aplicarse, en técnicas en discontinuo y técnicas en columna, aunque estas últimas presentan importantes inconvenientes (Vidal & Rauret, 1993).

En las *técnicas en discontinuo* se somete a la muestra de suelo a la acción de una serie de reactivos, cada vez más enérgicos bajo unas condiciones específicas. La ventaja fundamental del uso de estos esquemas para la estimación a largo plazo de los efectos de los factores medioambientales exógenos en la movilidad de metales, se encuentra en la posibilidad de poder evaluar la distribución de los mismos entre las diversas fases sólidas. La biodisponibilidad y movilidad de los metales decrecen en el mismo orden que la secuencia de extracción (Harrison *et al*, 1981). Así, con estos esquemas, se obtiene una información con un estimable valor potencial en la predicción de la biodisponibilidad, velocidad de lixiviado o movilidad de los elementos, así como las transformaciones posibles que pueden producirse entre distintas formas químicas del mismo elemento presentes en los suelos.

4.2.3.2.- *Optimización de los procedimientos de extracción secuencial. Selección de reactivos y condiciones de trabajo*

A pesar de las ventajas aparejadas al empleo de los análisis diferenciales o secuenciales, estos presentan también problemas en la interpretación de los datos, con objeto de obtener previsiones correctas sobre los posibles procesos de movilización de los elementos. Por ello, la selección de un esquema de especiación adecuado para cada problemática ambiental concreta, y su optimización, constituye en la actualidad uno de los temas fundamentales de estudio, en este campo de la especiación analítica. Siendo fundamental encontrar principios generales de interpretación de los resultados.

Uno de los problemas que presenta la aplicación de estos esquemas secuenciales es lograr la adecuada *selectividad* de los reactivos, con objeto de que sólo se solubilice una determinada forma de un elemento metálico en el sedimento. Generalmente, estas formas químicas se definen de *forma operativa*, esto es en función del procedimiento de extracción y del reactivo utilizado, como ocurre con los elementos "intercambiables" extraídos con sales neutras, o "los solubles en ácido", es decir, la fase cuyos metales asociados se liberan empleando ácido acético 0.44 M. Otras formas químicas de los elementos quedan definidas según el *substrato* al que está unido el metal, como los elementos unidos a óxidos de manganeso (liberados con clorhidrato de hidroxilamina) o unida a materia orgánica (liberados con pirofosfato potásico o con peróxido de hidrógeno). Sin embargo, en el empleo de estos reactivos de forma secuencial, constituyendo un esquema de fraccionamiento, es necesario tener en cuenta la selectividad de los mismos, evitando o minimizando la posible solubilización de más de una fase con un sólo extractante.

En los esquemas de extracción secuencial se emplean, pues, diferentes extractantes cuya función consiste en la disolución selectiva de ciertas fracciones o fases minerales del sedimento que contienen los metales.

La *fracción soluble* se libera simplemente poniendo una alícuota del sedimento en contacto con un volumen determinado de agua (Nissenbaum, 1972). La *fracción intercambiable* se obtiene tratando de manera análoga una alícuota de sedimento con una disolución salina ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, CaCl_2 , KNO_3 , MgCl_2 , BaCl_2 , KF) (Meguellati *et al.*, 1983; Stover *et al.*, 1976), de determinada concentración (0.05-1M), a temperatura ambiente, hasta alcanzar el equilibrio (0.5-24 h). A veces, puede discriminarse entre el metal *altamente biodisponible*, que se adsorbe de forma inespecífica (por intercambio iónico o difusión) y elemento o fracción *biodisponible* constituida por metales adsorbidos de forma más específica, a través de procesos de intercambio de ligando y competencia aniónica. Los primeros se extraen con una disolución de KCl 0.25 M, durante 0.5 h a 22°C; mientras que los segundos precisan de una disolución de KH_2PO_4 0.1 M, durante 0.5 h. Finalmente, combinando reactivos como $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ +0.1 M $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, se liberan los iones metálicos unidos de forma covalente a grupos funcionales orgánicos u oxidantes (Ramamoorthy & Rust, 1978). Todos estos procesos de extracción se llevan a cabo pH neutro.

La liberación de metales presentes en los sedimentos por la acción de un *medio ácido*, proceso que se origina con frecuencia en los entornos ambientales, suele caracterizarse con reactivos como tampón ácido acético-acetato sódico (pH 5), ácido nítrico diluido (0.01 M), o mezcla 0.44 M CH_3COOH +0.1 M $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (Nelson & Melsted, 1955). La selección de estos reactivos es generalmente fundamental, ya que a veces no se consigue una buena discriminación entre metales de distinta categoría, como metal intercambiable y metal asociado a carbonato, cuando se emplea NaAc-HAc 1M a pH 5 durante 5 h en una sola extracción, o durante 2 horas en dos extracciones sucesivas.

Se han propuesto otra serie de reactivos para caracterizar los elementos que se liberan en *condiciones reductoras*. Como clorhidrato de hidroxilamina u oxalato amónico, bajo la acción de un medio ácido (ácido nítrico, ácido acético, ácido cítrico), aunque a veces se emplea un agente complejante (EDTA o ditionito sódico-citrato). La influencia de la temperatura reviste gran importancia, así al utilizar como extractante clorhidrato de hidroxilamina-ácido nítrico (pH 2) a temperatura ambiente, se liberan los metales unidos a los carbonatos y a los óxidos de manganeso, pero difícilmente los asociados a los óxidos de hierro (Chao, 1972). Sin embargo, si el tratamiento se realiza en caliente (96 °C) se disuelven los óxidos de hierro amorfos. La solubilización de los óxidos de hierro cristalinos requiere el empleo de 0.175 M $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ + 0.1 M $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$, a una temperatura de 85 °C, sometiendo además a la muestra a la acción de una radiación UV durante 3 h (DeEndredy, 1963).

Los metales unidos a los *sulfuros* y a la *materia orgánica*, se caracterizan oxidando la matriz con alguno de los siguientes reactivos: H_2O_2 en medio ácido, pirofosfato sódico o potásico, hipoclorito sódico, y perclorato potásico. Empleándose, a veces, conjuntamente algún agente complejante (acetato amónico). También se consigue disolver la materia orgánica en medio básico con hidróxido sódico.

El orden en el que se usan los reactivos extractantes es fundamental (Miller *et al*, 1986). Así el clorhidrato de hidroxilamina es sólo activo en medio ácido (Chao, 1972), y si se emplea antes de la fracción "unida a carbonatos", se perdería la información sobre la presencia de metales solubles en medio ácido. El peróxido de hidrógeno y el pirofosfato disuelven parcialmente los óxidos de manganeso (Schuman, 1983), por lo que deben usarse una vez obtenida la información sobre los metales lixiviables en condiciones reductoras.

Por otra parte, la materia orgánica puede recubrir los óxidos, por lo que en ocasiones es conveniente disolverla primero para poder liberar todo el metal unido los mismos. Este aspecto es importante, ya que los óxidos constituyen la fracción que retiene mayor cantidad de metales por sus propiedades adsorbentes superficiales (Miller *et al*, 1986).

Junto a la **selectividad** de los reactivos extractantes hay que considerar su **eficiencia** o capacidad para liberar de forma cuantitativa un elemento asociado a una determinada fases, o vinculado a un tipo de unión. La evaluación de la eficiencia se logra al aplicar los extractantes a fases modelo que contienen cantidades conocidas de elementos (Kheboian & Bauer, 1987). Cuando se aplica un tampón de oxalato, [0.175 M $(NH_4)_2C_2O_4$ - 0.1 M $H_2C_2O_4$] a pH 3.25, para caracterizar los metales unidos a carbonatos, no se disuelven cuantitativamente los carbonatos de Pb, Zn, Cu y Cd, pero ataca a un 10 % de CuS.

Por todo lo anterior los diversos esquemas de extracción propuestos suelen utilizar los reactivos extractantes en orden de agresividad creciente. Sometiendo a una alícuota de sedimento a la acción sucesiva de los diversos extractantes, separando en cada etapa el residuo sólido por centrifugación, para analizar los metales en los extractos.

Los esquemas de extracción secuencial propuestos en la bibliografía son numerosos, entre ellos destacamos los siguientes con las condiciones de trabajo recomendadas:

Tessier

1. Intercambiable	8 ml MgCl ₂ 1M; pH 7; 1h
2. Unido a carbonatos	8 ml NaOAc/HOAc 1M; pH 5; 5h
3. Unido a óxidos de hierro y manganeso	NH ₂ OH·HCl 0.04M + HOAc 25% (v/v); 96°C
4. Unido a materia orgánica	H ₂ O ₂ 30% + HNO ₃ , pH 2, 85°C + NH ₄ OAc 3.2M
5. Residual	HF; HClO ₄

Meguelliati

1. Intercambiable	16 ml BaCl ₂ 1M; 2h
2. Unido a materia orgánica	16 ml H ₂ O ₂ 30% + HNO ₃ 0.02M (5V+3V); 5h+1h 98°C. Extraer con 10 ml de NH ₄ OAc 3.5M, 1h
3. Unido a carbonatos	35 ml HOAc 1M + NaOAc 0.6M; 5h
4. Unido a óxidos de hierro y manganeso	35 ml 0.1 M NH ₂ OH·HCl + 25% (v/v) HOAc, 4h + 1h 98°C. Extraer con 3.5M NH ₄ OAc, 10 ml, 1h
5. Residual	12 ml HF-HClO ₄ (5V+V), 100-150 °C, evaporar a sequedad con 2 ml HClO ₄ conc, 100-150°C, 2 ml HNO ₃ , 60-80°C, 15-30 min

Förstner (Rapin & Forstner, 1983)

- | | |
|---|--|
| 1. Intercambiable | 10 ml NH ₄ OAc 1M, pH 7, 20°C |
| 2. Unido a carbonatos | 20 ml NaOAc 1M, pH 5 (con HOAc), 5h, 20°C |
| 3. Unido a óxidos de hierro y manganeso | 20 ml NH ₂ OH·HCl 0.04M en HOAc 25% (v/v), 6h, 96°C |
| 4. Unido a materia orgánica | 5 ml HNO ₃ 0.02M + 5 ml H ₂ O ₂ 30%, pH 2, 2h, 85°C; 5 ml H ₂ O ₂ 30%, 3h, 85°C; 10 ml NH ₄ OAc 3.2M en HNO ₃ 20% (v/v), 5h, 20°C |
| 5. Residual | 20 ml HNO ₃ , 4h, 120°C |

BCR

- | | |
|---|---|
| 1. Intercambiable y unido a carbonato | 20 ml HOAc 0.1M, 16h |
| 2. Unido a óxidos de hierro y manganeso | 10 ml NH ₂ OH·HCl 0.1M, pH 2, 16h |
| 3. Unido a materia orgánica | 5 ml H ₂ O ₂ 30%, pH 2, 1h a 25°C, 1h a 85°C, reducir el volumen. 5 ml de H ₂ O ₂ 30%, 1h 85°C; extracción con 25 ml H ₄ OAc 1M, 16h |

Brannon

1. Extraíble en agua	H ₂ O
2. Intercambiable	NH ₄ OAc 1M
3. Unido a óxidos de hierro y manganeso amorfo	NH ₂ OH·HCl 0.1M
4. Unido a óxido de hierro cristalino	Na ₂ S ₂ O ₄ + citrato de sodio
5. Unido a materia orgánica	H ₂ O ₂ 30% + HNO ₃ , pH 2, 95°C + NH ₄ OAc 1M
6. Residual	HF, HNO ₃

Gibbs

1. Intercambiable	MgCl ₂ 1M
2. Oxido de hierro	Na ₂ S ₂ O ₄ + citrato de sodio
3. Unido a materia orgánica	NaClO, pH 8.5
4. Residual	LiBO ₂ , 1000 °C

Ivanovich (Plater *et al*, 1992)

- | | |
|--|--|
| 1. Intercambiable | MgCl ₂ 1M |
| 2. Acido húmico y óxidos amorfos | P ₂ O ₇ Na ₂ , pH 9.8 |
| 3. Carbonatos | NaOAc-HOAc, pH 5 |
| 4. Oxidos de hierro y manganeso | (NH ₄) ₂ C ₂ O ₄ -H ₂ C ₂ O ₄ , pH 3 |
| 5. Oxidos cristalino de hierro y manganeso | Citrato-ácido cítrico |
| 6. Residual | |

Gupta y Chen

- | | |
|-------------------------------------|---|
| 1. Intercambiable | NH ₄ OAc 1M |
| 2. Unido a carbonato | NaOAc 1M |
| 3. Unido a óxidos | NH ₂ OH·HCl 0.01M + HNO ₃ |
| 4. (a) Oxido de hierro amorfo | citrato de sodio + Na ₂ S ₂ O ₄ |
| (b) Oxido de hierro cristalino | NH ₂ OH·HCl 0.04M + HOAc 25%, 100°C |
| 5. Unido a materia materia orgánica | H ₂ O ₂ 30%, 85°C.
(a) 1M NH ₄ OAc + 6% HNO ₃ pH 2.2
(b) 0.02M HNO ₃ |
| 6. Residual | HF, HClO ₄ , HNO ₃ |

Todos los esquemas son muy semejantes aunque presentan algunas *características* peculiares. El esquema de Brannon incluye un paso que determina la cantidad de metal soluble en agua. Los esquemas de Tessier, Meguellati, Förstner, Ivanovich, Gupta y Chen se distinguen del propuesto por el BCR en que presentan una etapa de extracción adicional, la correspondiente a los metales intercambiables, aunque cada uno de ellos emplea un reactivo específico. El esquema del BCR, por tanto, no distingue entre metal "intercambiable" y "unido a carbonato", reuniéndolos en una misma fracción. Otra característica del procedimiento propuesto por el BCR es eliminar el reactivo oxidante por evaporación en caliente, lo que puede favorecer las pérdidas de ciertos metales volátiles como el mercurio. Los esquemas de Meguellati y de Ivanovich se distinguen de los restantes por estudiar la materia orgánica previamente a la fracción de carbonatos y óxidos. Todos los esquemas coinciden en disolver los óxidos de hierro y manganeso con clorhidrato de hidroxilamina en medio ácido, salvo el de Ivanovich, que distingue entre óxidos amorfos y cristalinos.

Algunos de estos esquemas se han aplicado al mismo tipo de muestra para comprobar si se obtiene la misma información y determinar cual es el más adecuado. Así, se ha *comparado* un esquema modificado de Tessier para contenidos de metales elevados con el propuesto por el BCR, concluyéndose, que mientras que para sedimentos con niveles bajos de metales los resultados obtenidos con ambos esquemas son semejantes, para suelos contaminados, las cantidades de metales que quedan en la fracción residual son inferiores al utilizar el esquema de Tessier modificado. Este hecho, unido a que ambos esquemas invierten el mismo tiempo en obtener los resultados, aconseja la selección del esquema de Tessier modificado (López Sánchez *et al*, 1993) para los análisis de rutina.

Estos esquemas clásicos propuestos en la bibliografía se han ido modificando con objeto de reducir el tiempo de extracción, generalmente utilizando una fuente intensa de energía (horno de microondas) con la ayuda de recipientes de teflón (Real *et al*, 1994). En algunos casos se emplean recipientes de teflón cerrados para conseguir una alta presión. En otros casos se usan dispositivos abiertos que permiten un ahorro de tiempo sustancial. El trabajo con microondas implica un ajuste del tiempo y potencia necesarias para cada cantidad de material, debido a que la energía del microondas es repartida por igual entre todas las masas sensibles a la misma. Por ello que si se introducen cantidades de muestra diferentes sin realizar el correspondiente ajuste de potencia, la cantidad de energía recibida por cada unidad de masa también variará (Nadkarni, 1984; Kingston & Jassie, 1986).

En general, el tipo de *información* que se quiere obtener mediante el empleo de estos esquemas tiene diversos puntos en común. Por ejemplo, con el esquema de Tessier, la información obtenida es la siguiente:

1- *Fracción intercambiable:*

Metales asociados al sedimento por adsorción electrostática o adsorbidos específicamente, pero que se movilizan al incrementar la salinidad.

2- *Fracción unida a carbonato:*

La lixiviación del metal se produce al disminuir el pH (por ejemplo por la acción de la lluvia ácida o de un efluente).

3- *Fracción unida a óxidos de hierro y manganeso:*

Los óxidos de hierro y manganeso existen como nódulos o concreciones, o bien actúan como cemento de unión entre partículas minerales, o simplemente recubriendo a las mismas. Son inestables bajo condiciones anóxicas (es decir, a bajo potencial redox).

4- *Fracción unida a la materia orgánica y sulfuros:*

La materia orgánica presente en los sedimentos está constituida por organismos vivos, detritos, recubrimientos orgánicos de partículas minerales, etc. Las propiedades de complejación o peptización de esta fase constituye la base de bioacumulación de ciertos microorganismos. La materia orgánica, bajo condiciones oxidantes puede degradarse liberando trazas metálicas.

5- *Fracción residual:*

Metales asociados con minerales primarios y secundarios, como silicatos, sulfuros y material orgánico refractario, que retienen metal en su interior. Los metales de esta fase son químicamente estables e inactivos biológicamente.

4.2.4.- Determinación de compuestos orgánicos

4.2.4.1.- Análisis de clorofenoles

a) Introducción

No existen procedimientos establecidos internacionalmente para el análisis de clorofenoles en muestras de suelos, siendo la extracción de estos compuestos a partir del suelo la etapa más crítica del análisis.

El método que se propone se basa en la extracción de los clorofenoles con una mezcla acetona-hexano a pH bajo, seguida por la acetilación y análisis de los compuestos derivatizados por cromatografía de gases con detector de captura de electrones (GC-ECD).

b) Pretratamiento de la muestra

El método de extracción se basa en el descrito por Tschoner y *col.* (1989), que presenta una elevada reproducibilidad.

A 5-10 g de suelo húmedo se añade 2,4,6-tribromofenol (TBrP) como patrón interno, y se extraen con una mezcla de 75 ml de acetona/hexano (1:1) y 1 ml de HCl concentrado. La mezcla se somete a la acción de ultrasonidos durante 2 min cada intervalo de 10 min a lo largo de 1 h. La mezcla se deja decantar y el sobrenadante se transfiere a un embudo de decantación para extraerlo 2 veces con 40 ml de NaOH 0.1 M. Los extractos combinados se acidifican con HCl concentrado y se extraen 2 veces con 50 ml de hexano. La disolución de hexano es entonces reextraída 2 veces con 35 ml de K₂CO₃ 0.1 M. Los extractos alcalinos se reúnen en uno solo y los clorofenoles presentes se derivatizan mediante acetilación de la siguiente forma: al extracto que contienen los clorofenoles se añade 1 ml de anhídrido acético y la mezcla se agita vigorosamente para eliminar el CO₂ formado. La mezcla se deja en reposo durante 10 min con agitación ocasional, añadiendo finalmente 5 ml de hexano. La mayor cantidad posible de hexano se transfiere a un vial con 1 g de Na₂SO₄ anhidro y se agita. El hexano se lleva a otro vial con Na₂SO₄ y se almacena a 4°C. El análisis debe llevarse a cabo lo más rápidamente posible.

c) Método instrumental

Instrumentación: sistema GC/ECD con dos columnas o GC/MS.

Programa de temperatura: 80°C, 1.5 min, rampa de 20°C/min hasta 140°C, rampa de 2 °C/min hasta 210 °C, rampa de 20°C/min hasta 270°C e isoterma durante 5 min.

Patrones: patrones de clorofenoles comercialmente disponibles y 2,4,6-TBrP (Ehrendorfer (Alemania) o Ultra Scientific (USA)).

Calibración: se basa en el empleo de la altura de pico y en la respuesta de patrón interno. Se realiza a un nivel adecuado de concentración. Se recomienda hacer calibraciones a diferentes niveles de concentración. La cantidad de patrón interno debe ser tan próxima como sea posible a la cantidad de los compuestos analizados. Una diferencia de más de un orden de magnitud afecta a los resultados. Cuando se emplea patrones externos, se debe conocer el volumen exacto de líquido analizado. También se pueden emplear patrones marcados isotópicamente.

En este método se emplean dos columnas de distinta polaridad para asegurar la identidad de cada compuesto, y calibraciones independientes se emplean para cada columna. Se calcula el promedio de las concentraciones obtenidas a partir de ambas columnas. Si las respuestas difieren, por ejemplo, debido a una elución simultánea de impurezas de la muestra de suelo, la concentración debe basarse en la respuesta más pequeña.

Los análisis deben incluir siempre un blanco y una muestra patrón. Se recomienda hacer dos extracciones paralelas de cada muestra.

d) Presentación de resultados

Los resultados deben darse como media \pm desviación estándar. Los resultados deben calcularse y expresarse como mg/kg en peso seco. Se deben proporcionar datos sobre cada clorofenol individual así como la concentración de clorofenol total. El informe debe incluir una copia del cromatograma correspondiente al análisis.

4.2.4.2.- *Análisis de compuestos orgánicos volátiles*

a) Introducción

Los compuestos orgánicos volátiles (VOC) comprenden en un grupo muy heterogéneo de compuestos de diferentes propiedades físicas y químicas, con puntos de ebullición por debajo de 300°C.

Los residuos de los VOC's en suelos se determinan mediante cromatografía de gases (CG) del extracto separado a partir del suelo. Los compuestos se introducen en el cromatógrafo como extracto líquido o en fase gaseosa (espacio de cabeza estático o dinámico). Se pueden emplear distintos tipos de detectores como el de ionización de llama (FID), el de captura electrónica (ECD), de conductividad electrolítica (ELCD) o espectrometría de

masas (MS). No existe un único método analítico que permita el análisis cuantitativo de todas las clases de VOC, y, por tanto se proponen dos métodos:

Método 1: Análisis de VOC en suelos mediante extracción con disolventes
(Modificado a partir del método 8270 de la EPA)

La muestra de suelo se extrae con metanol:pentano conteniendo una mezcla de patrones internos. Se separa la fase orgánica y se seca con Na_2SO_4 . El extracto se transfiere a un vial de CG y se analiza con columna capilar y detección mediante espectrometría de masas (GC-MS). Los compuestos identificados individualmente se cuantifican comparando la respuesta del detector sobre la muestra y sobre patrones externos, después de corregir la respuesta mediante el empleo de un patrón interno. El método caracteriza los VOC con punto de ebullición mayor de 50°C . Los límites de detección se encuentran en el rango de 0.02-0.2 mg/kg.

Método 2: Técnica de espacio de cabeza dinámico
(Basado en los métodos 8240 y 8260 de la EPA)

La muestra de suelo se recoge en un vial para espacio de cabeza equipado con un septum de teflón y conteniendo metanol como presevante. Se introduce a través del septum una mezcla de patrones internos. El contenido en VOC se concentra utilizando la técnica de espacio de cabeza dinámico (Purge & Trap), y se analiza mediante GC/MS. Cada compuesto individual se cuantifica comparando la respuesta del detector sobre cada analito de la muestra con patrones externos una vez corregida la respuesta mediante el empleo de patrones internos. El método permite la caracterización de VOC con puntos de ebullición en el rango 0 a 250°C . Los límites de detección que se alcanzan son 0.005-0.05 mg/kg.

b) Pretratamiento de las muestras

La homogeneización de la muestra bruta antes del análisis puede originar pérdidas de VOC por volatilización, y debe ser evitada. El material grueso se elimina antes de tomar submuestras.

Método 1: Preparación de muertas para la extracción con disolvente.

10-20 g de suelo refrigerado a $<5^\circ\text{C}$ se introducen en el sistema de extracción, y rápidamente se añaden los patrones internos (benceno- d_6 , 1,2-dicloroetano- d_4 , 1,4-difluorobenceno, tolueno- d_8 , clorobenceno- d_5 , 1,2-diclorobenceno, hexacloro-1,3-butadieno y

naftaleno-d8) y los disolventes de extracción (mezcla de 10 ml de agua a pH 2 con 20 ml de pentano (o diclorometano) y 10 ml de metanol. La mezcla suelo/disolventes se agita manualmente hasta que se obtiene una suspensión, posteriormente se trata con ultrasonidos al menos durante 5 min y se extrae durante 45 min en un extractor mecánico. Se añaden 10 ml de agua a pH 2 y la mezcla se agita cuidadosamente, dejando que se separen las fases, para centrifugar finalmente la muestra. El extracto orgánico se seca con Na_2SO_4 anhidro. Si es necesario, el extracto se concentra con corriente de nitrógeno a temperatura inferior a 30°C . Una alícuota del extracto se transfiere al vial de CG y se analiza.

La cantidad de patrón interno depende de la muestra y del tipo de detector empleado. Generalmente, cuando se emplea el detector de masas se añaden 50-500 mg de cada patrón, pero la cantidad se reduce cuando se emplean detectores de carácter más selectivo, como ECD o ELCD.

Método 2: Preparación de la muestra para análisis por espacio de cabeza

El método distingue entre dos niveles de concentración. Para concentraciones bajas (<1 mg/kg), se utilizan 5 g de muestra de suelo granular o poroso que se transfieren al vial de espacio de cabeza y se mezclan con 10 ml de agua. A la mezcla se le añaden los patrones internos (1-5 μg de cada uno) disueltos en metanol. La muestra se calienta para volatilizar los VOCs y estos se purgan y analizan. Para concentraciones altas, 1-5 g de suelo se extraen con 10 ml de metanol. Una alícuota de este metanol se diluye con agua que contiene la mezcla de patrones internos y se analiza. Para niveles de VOCs en el rango 1-10 mg/kg, se emplea una dilución de 1:10, la cual se aumenta a 1:100 para concentraciones mayores.

c) Métodos instrumentales

Para una evaluación general de la presencia de VOCs, se recomienda el empleo de un sistema GC/MS que trabaje en modo de barrido o en modo de selección de ion (SIM). Si sólo se deben evaluar compuestos halogenados, se pueden emplear ECD o ELCD. Cuando se emplean detectores selectivos, se recomienda tratar el extracto con H_2SO_4 concentrado antes del análisis cromatográfico cuando es elevada la cantidad de interferencias. Se recomiendan las siguientes columnas capilares:

1- J&W DB624, 30 m, 0.25 mm d.i., 1.4 mm de grosor, o equivalentes.

2- J&W DB5, 30 m, 0.25 mm d.i., 0.25-1.0 mm de grosor, o equivalentes.

Las condiciones operativas del CG/MS son las siguientes: temperatura del inyector 250°C, programas de temperatura: (1) 35°C durante 2 min, rampa de 6°C/min hasta 120°C, rampa de 10°C/min hasta 260°C e isoterma a esta temperatura durante 10 min. (2) 0°C durante 2 min, rampa de 6°C/min hasta 120°C, rampa de 10°C/min hasta 260°C e isoterma durante 5 min. Gas portador: He a 0.8 ml/min. Volumen de inyección: 1 ml. Temperatura de la interfase: 260°C. Parámetros del MS: 1 barrido/s, 35-300 amu, o detección SIM.

Los VOC se identifican mediante los tiempos de retención cromatográficos y los espectros de masas. Cuando se opera en modo SIM, el compuesto de interés se identifica por su ión primario y un ión secundario. Analitos y patrones internos se determinan mediante el área de pico. En mezclas complejas con picos cromatográficos solapados, puede ser preferible usar algún fragmento de masa.

Los patrones externos se preparan y analizan de la misma forma que las muestras. Se debe establecer una recta con al menos 4 puntos, con el nivel más bajo <5 x el límite de detección, y el mayor nivel equivalente a 20-50 mg/kg para cada compuesto. La calibración se basa en el área de pico. La respuesta de los patrones internos se emplea para corregir cualquier pérdida de disolvente durante el pretratamiento de la muestra. Deben prepararse blancos empleando suelos limpios junto a cada serie de muestras. Cada 12 muestra se debe analizar una muestra control con cantidades conocidas de VOCs seleccionados.

d) Presentación de resultados

El informe debe incluir la identificación de la muestra, la fecha de muestreo, la descripción de la muestra, la fecha de llegada al laboratorio, las condiciones y tiempo de almacenamiento, una tabla de resultados incluyendo límites de detección y peso de muestra seca, comentarios de los resultados, conclusiones y descripción del método analítico.

4.2.4.3.- *Análisis de bifenilos policlorados*

a) Introducción

Los bifenilos policlorados (PCBs) han sido los más estudiados entre los contaminantes del medio ambiente durante más de dos décadas. Recientemente, se han efectuado grandes progresos en el análisis de los PCBs, especialmente debido a la disponibilidad de estándares para congéneres de PCB individuales. Esto ha conducido a nuevas condiciones para la extracción, purificación y cuantificación de PCBs que necesita urgentemente ser coordinada, y llevar a cabo ensayos interlaboratorio con objeto de que los resultados sean comparables.

El siguiente método está basado principalmente en el método usado en la Agencia de Protección del Medio Ambiente Suizo (Nylun et al, 1992) con algunas modificaciones. El suelo es extraído con acetona y hexano y los PCBs son analizados por GC/ECD o GC/MS. Los niveles de los congéneres de PCB individuales o PCBs totales son expresados en peso seco.

b) Pretratamiento de las muestras

Las muestras son homogenizadas una vez tamizadas por un tamiz de 8 mm de paso de luz. Se hace una primera estimación del contenido en PCBs para determinar la cantidad de muestra necesaria, la cantidad y clase de patrón de recuperación y la necesidad de los procesos de purificación del extracto.

c) Reactivos

Los disolventes usados deben ser todos como mínimo *para análisis*, los congéneres de PCB individuales son comercialmente suministrados por Promochem (Alemania) o Accustandard (USA) en forma de cristales puros o disoluciones de concentraciones certificadas. Las disoluciones madre de 0.1-0.2 mg/ml en isooctano deben ser guardadas en frigorífico y los matraces deben ser pesados antes y después de retirar cualquier alícuota. Las disoluciones de trabajo (1-500 pg/ μ l de cada conéner) deben ser preparadas por dilución gravimétrica en isooctano.

En el mercado se dispone de disoluciones de Aroclor (1242, 1254 y 1260) en aceite de transformador con concentraciones de 50 y 500 mg/kg (Supelco).

Reactivo TBA-sulfito

Se prepara disolviendo 3.39 g de hidrogen sulfato de tetrabutilamonio en 100 ml de agua y se extrae tres veces con 20 ml de hexano, saturándose entonces con sulfito sódico (25 g).

Preparación de la columna de sílica gel

Se emplea gel de sílice 60 (0.063-0.2 mm) (Merck, Alemania) activada durante la noche a 280°C. 15 g de gel de sílice se mezclan con 7.5 g de H₂SO₄ durante 2 h. Posteriormente, la mezcla se dispone en una pipeta Pasteur sobre lana de vidrio y hasta una altura de 40 mm. Cubrir con lana de vidrio y acondicionar con 5 ml de hexano.

Patrones de recuperación

Se selecciona uno de los siguientes: PCB # 53 (2,2',5,6'-tetraCB) para arocloros con alto contenido en cloro (A1260); PCB # 112 (2,3,3',5,6-pentaCB), componente traza de las mezclas de Arocloros y Clophenos que no coeluye con ningún PCB en columnas con fases DB5 o DB1701; para arocloros de bajo contenido en cloro (A1242) se emplea el PCB # 198 (2,2',3,3',4,5,5',6-octaCB). El hexaclorobenceno (HCB) constituye una alternativa cuando el análisis preliminar de la muestra no revela la presencia de HCB en suelos contaminados.

d) Extracción

El suelo humidificado con agua se mezcla con un patrón de recuperación (100-100 ng, según el grado de contaminación). Después de 15 min, la muestra se extrae con acetona (3-5 ml/g) durante 5 min utilizando ultrasonidos y, posteriormente, se agita vigorosamente durante 1 h. Una vez centrifugado (1200 g durante 10 min), la fase orgánica se extrae con una mezcla de NaCl 0.2M y H₃PO₄ 0.1M. A la muestra sólida se añade una mezcla de acetona:hexano (1:3, 3-5 ml/g) y se extrae con ultrasonidos durante 5 min, agitando a continuación vigorosamente durante 1 h. La fase orgánica se adiciona a la mezcla anterior en el embudo de decantación, se agita y se dejan separar las fases. Se recoge la fase orgánica y la fase acuosa se lava dos veces con 10 ml de una mezcla de hexano:éter etílico (9:1), los cuales se añaden al extracto orgánico anterior. Se añade 1 ml de isooctano y el disolvente orgánico se evapora hasta casi sequedad a 60°C en un baño de agua.

e) Purificación

a) eliminación del material graso. La muestra se disuelve con 2 ml de hexano y se trata con un volumen equivalente de H₂SO₄ concentrado en un tubo de centrífuga agitándolo 20 veces, y, posteriormente, centrifugado. Si es necesario, se repite el procedimiento. La capa superior se analiza o se somete a otro procedimiento de purificación.

b) eliminación de sulfuro. Si el suelo es muy húmico, algunos picos que aparecen pronto en el cromatograma pueden interferir con los PCBs. La muestra se disuelve con 1-2 ml de hexano y se agita con 2 ml de 2-propanol, 2 ml de TBA-sulfito y sulfito sódico (porciones de 100 mg hasta que resulte un residuo sólido) durante 1 min a 50°C. Se añaden 5 ml agua, se agita durante 1 min y se centrifuga. La capa superior se analiza o se somete a otro procedimiento de purificación.

c) fraccionamiento de otros compuestos relacionados. La muestra se redisuelve con 1 ml de hexano y se hace pasar por la columna de gel de sílice, recientemente preparada. Se eluye con 5.5 ml de hexano, recogiendo los últimos 3.5 ml.

La muestra se seca bajo una corriente de nitrógeno y se redisuelve en 1-2 ml de isooctano conteniendo el patrón de inyección (50 ng/ml).

f) Métodos instrumentales

Los congéneres y los arocloros se analizan mediante CG-ECD o CG-MS con columnas capilares de 60 m de dos polaridades (DB5 y DB1701) con 0.25 d.i. y grosor de 0.2-0.4 mm. El gas portador utilizado es helio o hidrógeno y el gas auxiliar nitrógeno, empleando una velocidad lineal de al menos 20 cm/s. Las inyecciones (1 µl o menos) se realizan con sistemas de introducción “on-column” o “splitless”. Las condiciones de temperatura del sistema deben ser las siguientes: temperatura del inyector 270°C; interfase 290°C; programa de temperatura de la columna: 85°C durante 2 min, rampa de 30°C/min hasta 210°C, isoterma de 28 min, rampa de 2°C/min hasta 250°C, rampa de 7°C/min hasta 280°C (DB1701) o 310°C (DB5).

Los congéneres se evalúan individualmente (PCB # 28, 52, 101, 105, 118, 138, 153, 156 y 180), aunque algunos se pueden cuantificar conjuntamente (128, 149 y 170). PCB # 28, 52, 153 y 180) se cuantifican sobre DB5 y PCBs # 52, 101, 105, 118, 153 y 156 sobre DB1701. Los PCBs # 138 y 163 se cuantifican conjuntamente con las dos columnas utilizadas utilizándose los valores más bajos obtenidos. Los patrones deben ser analizados simultáneamente al estudio de las muestras, o bien pueden analizarse antes y después para determinar el curso de la separación. Si la forma de los picos del cromatograma es semejante a la de las mezclas de arocloros, la cuantificación se lleva a cabo sumando 6-10 picos mayoritarios y comparándolos a los de una curva de valoración del respectivo aroclor. Los límites de detección son cercanos a 10 µg/kg.

g) Presentación de los resultados

Los resultados se expresan como mg/kg para cada congénere en base seca, como media de al menos dos medidas. El informe debe incluir: fecha de muestreo, fecha de llegada al laboratorio, descripción de la muestra, tiempo y condiciones de almacenamiento, descripción de los métodos analíticos, límites de detección, cromatogramas y comentarios de los resultados.

4.2.4.4.- *Análisis de hidrocarburos totales*

a) Introducción

El método está diseñado para la medida de la concentración de los productos del petróleo extraíbles en pentano a partir de muestras de suelos. Con este procedimiento es posible determinar componentes individuales como

benceno, tolueno, etilbenceno, xilenos y productos como petróleo, gasóleo y algunos aceites lubricantes. Los cuales se encuentran en la serie de n-alcano en el rango C₆ a C₃₅, con puntos de ebullición de 70 °C a 490 °C.

b) Pretratamiento de la muestra

En un matraz de 100-250 ml cubierto con una membrana se introducen 50 g de suelo. Añadir 20 ml de pentano con dos patrones interno de distinta volatilidad (clorofluorbenceno, bromobenceno, clorobenceno, ortoterfenilo, escualeno, escualano o n-triacontano) y 20 ml de pirofosfato 0.05 M a través de la membrana. Se agita durante 2 h (agitador mecánico, 7 cm de amplitud y una frecuencia de agitación de 150 ciclos por minuto). La fase orgánica se separa mediante centrifugación y el pentano se transfiere a viales de cromatografía.

c) Patrones

Compuestos aromáticos volátiles: benceno, tolueno, etilbenceno, xilenos (3 isómeros), trimetilbenceno, tetrametilbenceno.

Productos: diesel (DIN EN 590, HFO)

n-alcános: C₁₀, C₂₅, C₃₅

referencias para la identificación: gasolina (95 sin plomo), keroseno (Jet A 1), diesel, fueloil, tricloroetileno, tetracloroetileno, naftaleno, 1- y 2-metilnaftaleno, fenantreno, antraceno, pireno, criseno, fluoranteno, benzo(a)pireno

d) Método instrumental

El extracto de pentano se analiza mediante cromatografía de gases capilar con detector de ionización de llama, con condiciones que permitan una separación adecuada entre C₆ y C₃₅. Los factores de respuesta deben ser uniformes en todo el rango cromatográfico, para lo cual la temperatura de inyección y la isoterma final sea suficientemente larga y elevada. Se inyectan de 1 a 5 µl. Los patrones internos se emplean para el control de calidad de los tiempos de retención y de la técnica de inyección, así como para corregir cualquier pérdida durante el pretratamiento de la muestra.

Los componentes individuales y los patrones internos se integran siguiendo los principios de valle a valle, mientras que la cantidad total de hidrocarburos se integran sobre la proyección de la línea base, después de sustraer el área de los patrones internos determinados previamente. Sustraer el fondo resultante del análisis de pentano o aire.

La calibración se lleva a cabo con al menos 5 puntos en el rango 10-2000 mg/l para el diesel, 50-5000 mg/l para fueloil y 0.2-20 mg/l para los compuestos individuales. En cada serie de análisis se debe incluir, al menos, una muestra control, preparada dopando 50 g de suelo/arena limpia con 1 ml de disolución de los componentes de interés en metanol.

e) representación de los resultados

El informe debe incluir la identificación de la muestra, la concentración en mg/kg en base seca de cada componente o fracciones para hidrocarburos totales, fecha de recepción y de comienzo de análisis de la muestra y una información cualitativa, incluyendo una breve descripción de la muestra.

4.2.4.5. *Análisis de hidrocarburos aromáticos policíclicos*

a) Introducción

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) constituye una familia de numerosos compuestos, unos 300, la mayoría de los cuales no se encuentran en estado puro. Por tanto, solo se analiza un pequeño grupo de los mismos. Por otro lado, aunque los hidrocarburos aromáticos policíclicos se asocian con compuestos con más de dos anillos aromáticos algunos países incluyen el naftaleno y sus derivados metilados entre los PAHs, no obstante, como los naftalenos también se incluyen entre los hidrocarburos totales, solo se considerarán aquí como PAHs los hidrocarburos con más de tres anillos. El método que se propone se basa en el procedimiento propuesto en la norma ISO 5725-2 (Pritzl, 1997).

b) Pretratamiento de las muestras

50 g de suelo se extraen en recipientes cerrados de vidrio con 20 ml de pirofosfato sódico 0.05 M y 20 ml de tolueno durante 16 h en una mesa agitadora.

c) Método instrumental

El extracto se analiza con CG/MS, con un programa de temperaturas suficientemente elevado que permita la elución del benzo(a)pireno. La cuantificación se lleva a cabo mediante patrones externos corregidos con patrones internos. El límite de detección es de 0.1 mg/kg. Con cada serie de muestras, se debe analizar un blanco de tolueno.

4.3.- BIBLIOGRAFÍA

Referencias Generales

Bernhard M, Brinckman FE & Sadler PJ (eds.). (1986). The Importance of Chemical "Speciation" in Environmental Processes. Springer-Verlag, Berlin

Boulding J.R. 1994. Description and sampling of contaminated soils. A field guide. Second edition. CRC Press. Florida, USA

F.A.O. (1984). S.I. Units and Nomenclature in Soil Science. FAO. Roma

Guitián F & Carballas Fernández T. (1975). Técnicas de Análisis de Suelos. Ed. Pico Santo. Santiago de Compostela.

ISSS-ISRIC-FAO. (1994). World Reference Base for Soil Resources. Fraaije, Wagenin. Roma

Jackson ML. (1982). Análisis Químicos de Suelos. 4º ed. Ed. Omega. Barcelona

Karstensen KH. (1996). Nordic Guidelines for Chemical Analysis of Contaminated Soil Samples. Noedest Report. NT Technical Report 329. Noruega

López Ritas J & López Melida J. (1990). El Diagnóstico de Suelos y Plantas. Métodos de Campo y Laboratorio. 4º De. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid

López Santiago F & Ayala Carcedo FJ (eds.). (1995). Contaminación y Depuración de Suelos. I.T.G.E., Madrid

Marr IL, Cresser MC & Gómez Ariza JL. (1989). Química Analítica del Medio Ambiente. Serv. Publ. Univ. de Sevilla

Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. (1986). Métodos Oficiales de Análisis de Suelos y Plantas. Serv. Publ. M.A.P.A. Madrid

Primo Yúfera E & Carrasco Dorrien JM. (1981). Química Agrícola. I. Suelos y Fertilizantes. Ed. Alhambra Madrid

Soil Conservation Service U.S.D.A.. (1973). Investigación de Suelos. Métodos de Laboratorio y Procedimientos para Regoger Muestras. Ed. Trillas. México.

Referencias Específicas

Baas-Becking LGM, Kaplan IR & Moore OJ. (1960). J. Geol, 68:243-284

Chao TT. (1972). Soil Sci Soc Am J, 36:764-768

DeEndredy AS. (1963). Clay Miner Bull, 9:209-217

Deluisa A, Giandon P, Aichner M, Bortolami P, Bruma L, Lupetti A, Nardelli F, Stringari G. (1996). Commun Soil Sci Plan Anal, 27:1537-1548

DIN 19 684-8 - Deutsche Normen. (1977). Bodenuntersuchungsverfahren in Landwirtschaftlichen Wasserbau; chemische Laboruntersuchungen; Bestimmung der Austauschkapazität des bodensund der austauschbaren Kationen. Beuth verlag. Berlin

EPA. (1986). Test Methods for Evaluating Solid Waste, Volume 1A: Laboratory Manual Physical/Chemical Methods, Method 3050 "Acid digestion of sediments, sludges and soils".

Gambrell RP, Khalid RA & Patrick WH. (1980). *Environ Sci Techn*, 14:431-436

Harrison RM, Laxen DPH & Wilson SJ. (1981). *Sci Techn*, 15:1378-1383

Holmgren GGS. (1967). *Sci Soc Am Proc*, 31: 210-211

Holmgren GGS, Meyer MY, Chaney RL & Daniels RB. (1992). Cadmium, lead, zinc, copper, and nickel in agricultural soils in the United States of America, *J Environ Qual*, 22:335-348

ISO/CD 11466 94-12, Soil Quality- Extraction of trace metals soluble in aqua regia

ISO/DIS 11464. Soil quality- Pretreatment of samples for physico-chemical analyses

Iyengar SS, Martens DC, Miller WP. (1981). Distribution and plant availability of soil zinc fractions, *Soil Sci Soc Am J*, 45:735-739

Kalra YP, Maynard DG, & Radford FG. (1989). Microwave digestion of tree foliage for multi-element analysis. *Can J For Res*, 19:981-985

Kheboian C & Bauer CF. (1987). *Anal Chem*, 59:1417-1423

Kingston HM & Jassie LE. (1986). *Anal Chem*, 58:2534-2541

Kirchner CH, Eagle GA, Henning HFKO. (1988). Investigation of a method for routine use of general-purpose Teflon bombs for the digestion of samples for trace metal analysis, 32:9-21

Krishnamurti GSR, Huang PM, Van Rees KCJ, Kozak LM, & Rostad HPW. (1994). Microwave digestion technique for the determination of total cadmium in soils. *Commun Soil Sci Plant Anal*, 25:615-625

Langston WJ & Spence SK. (1994). *Metal Analysis. A Handbook of ecotoxicology. volume 2.* London, Blackwell Sci. Publ.

Leclaire JP, Chang AC, Le Vesque CS, Sposito G. (1984). Trace metal chemistry in arid-zone field soils amended with sewage sludge: VI. correlations Between Zn uptake and extracted soil zinc fractions, *Soil Sci Soc Am J*, 48:509-513

Lim HC & Jackson ML. (1982). Dissolution for total elemental analysis, pag 1-12. En ALPage, RH Miller, DR Keeney (eds.) *Methods of soil Analysis, Part 2, Chemical and Microbiological Properties*, 2^a Edición. Soil Science Society of America, Madison, WI.

Littlejohn D, Egila JN, Gosland RM, Kunwar UK & Smith C. (1991). Grafite furnace analysis getting easier and achieving more, *Anal Chim Acta*, 250:71-84

Lopez Sanchez JF, Rubio R & Rauret G. (1993). *Intern J Environ Anal Chem*. 51:113-121

Loring DH & Rantala RTT. (1988). An intercalibration exercise for trace metals in marine sediments. *Mar Chem*, 24:13-28

Lyle M, Heath GR & Robbin JM. (1984). *Geochim Cosmochim Acta*, 48:1705-1715

- Meguelliati N, Robbe D, Marchandise P & Astruc M. (1983). Proc Inter Conf on Heavy Metal in the Enviroment. Edinburgo, 1090-1093
- Miller WP, Martens DC & Zelazny LW. (1986). Soil Sci Soc Am J, 50:598-601
- McLaren RG & Crawford DV. (1973). Studies on soil copper: 1. The fractionation of copper in soils. J Soil Sci, 24:172-181
- Nadkarni D. (1984). Anal Chem, 56:2233-2237
- Nelson JL & Melsted SW. (1955). Soil Sci Soc Am Proc, 19:439-443
- Nieuwenhuize J, Poley-Vos CH, van der Akker AH, & van Delft W. (1991). Comparison of microwave and conventional extraction techniques for the determination of metal in soil, sediment, and sludge samples by atomic spectroscopy. Analyst, 116:347-351
- Nissenbaum A. (1972). Israel J Earth Sci, 21:143-154
- Novozamsky I, Lexmond THM & Houba VJG. (1993). A single extraction procedure of soil for evaluation of uptake of some heavy metals by plants. Intern J Environ Anal Chem, 51:47-58
- Nylund K, Asplund L, Jansson B, Jonsson, P, Litzén K & Sellström U. (1992). Chemosphere, 24:1721-1730
- Plater AJ, Ivanovich M & Dugdale RE. (1992). Applied Geochemistry, 7:101-110
- Pritzl G. (1997). Nordiest intercomparison on : Polycuclic Aromatic Hydrocarbons (PAH's) in soil. NERI, P.O. Box 358, DK-4000 Roskilde.
- Rauret G, Rubio R, Pineda L, Lopez-Sanchez JF & Beltran JL. (1991). Fresenius J Anal Chem, 341:631-635
- Ramamoorthy S & Rust BR. (1978). Environ Geol, 2:165-172
- Rapin F & Forstner U. (1983). Proc Int Conf on Heavy Metals in the Environment. Edimburgo, 1074-1077
- Real C, Barreiro R & Carballeira A. (1994). The Sci of the Total Environ, 152:135-142
- Saurbeck DR & Hein A. (1991). The nickel uptake from different soils and its prediction by chemical extractions, Water, Air and Soil Poll, 57-58:861-871
- Sawhney BL & Stilwell DE. (1994). Dissolution and Elemental Analysis of Minerals, Soils and Environmental Samples, pag. 48-82. En: JE Amonette y LW Zelazny (eds), Quantitative Methods in Soil Mineralogy. Soil Science Society of America, Madison, WI,
- Schuman LM. (1983). Soil Sci Soc Am J, 47:656-660
- Schramel P. (1989). Detramination of some additional trace elements in certified standard reference materiales (soils, sludges, sediments) by ICP-emission spectrometry, Fresenius Z Anal Chem, 333:203-210
- Soil Survey Laboratory Staff. (1992). Soil Survey Laboratory Methods Manual. Survey Investigations Report No. 42, Ver. 2.0 USDA-SCS. US. Government Printing Office, Washington, DC.

- Stilweel DE. (1993). Elemental Analysis of composted sources separated municipal solid waste. *Compost Sic Util*, 1:23-33
- Stover Rs, Sommers LE & Silveira. (1976). *J WPCF*, 48:2165-1175
- Tessier A, Campbel PGC & Bisson M. (1979). *Anal Chem*, 51:844-852
- Tschochner F, Pilz-Mittenburg W, Benz T, Brunner H., Jager W & Hagenmair H. (1989). *Z. Wasser-Abwasser-Forsch*, 22: 267-271.
- Trefry JH & Metz S. (1984). *Anal Chem*, 56:745-749
- USEPA (U.S. Environmental Protection Agency). (1990). Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, and soils. SW846 Method 3051. U.S. Government Printing Office, Washington, DC
- van Raij B, (1994). New Diagnostiv techniques. Universal soil extractant. *Commun Soil Sci P Lan Anal*. 25:799-816
- Vidal M & Rauret G, (1993). *Intern. J. Environ. Anal Chem*, 51:85-95
- Wilson MA, Burt R, Lynn WC & Klameth LC. (1997). Total Elemental Analysis Digestion Method Evaluation on Soils and Clays, *Commun Soil Sci Plant Anal*, 28:407-426.
- Xiang B & Veneman PLM. (1998). Microwave digestion for analysis of metl in soils. *Commun Soil Sci PLant Anal*, 29:923-930
- Zachmann DW & Block R. (1994). Studies of the availability of toxic heavy elements in soils ans sediments in the vicinity of a lead emelting site (Germany). *Water, Air and Soil Pollution*, 78:317-334