

**LA CONTAMINACIÓN
EN IBEROAMÉRICA
(Xenobióticos y Metales Pesados)**

**RED IBEROAMERICANA DE FÍSICA Y
QUÍMICA AMBIENTAL (RiFyQA)**

Editores:

Xenobióticos orgánicos: EMETERIO IGLESIAS y ROSA M. TORRES

Metales pesados: M^a ISABEL GONZÁLEZ y ALICIA F. DE IORIO

SiFyQA, Salamanca (2008)

FOTOGRAFIA DE PORTADA: *Contaminación de las orillas de un presa cercana a Casas de Don Antonio (Extremadura, España).*

(Fotografía y comentarios: Juan F. GALLARDO LANCHO; CSIC, España)

Gran parte de las orillas de los cuerpos de agua son frecuentadas por *domingueros*, es decir, ciudadanos procedentes de medianas y grandes urbes que pasan gran parte de los días festivos en el campo. Ello ocasiona que los subproductos de sus mejores niveles de vida sean trasladados (en unas horas) desde las ciudades a esas zonas rurales (muchas de ellas casi despobladas), dejando sus más o menos abundantes residuos (siempre concordantes con sus niveles de vida) por donde van circulando, independientemente de que las autoridades locales suelen colocar (o no) recipientes de basuras en lugares adecuados. Consecuentemente, los subproductos se van amontonando a orillas de ríos, lagos y embalses, pasando de ahí a los cuerpos de agua o sus sedimentos. Se traslada, pues, contaminación propiamente urbana a sitios focalizados de ambientes rurales.

FOTOGRAFIA DE CONTRAPORTADA: *Partículas de composición metálica encontradas en suspensión y en sedimentos del Río Lerma, Estado de México (México).*

(Fotografía y comentarios: Q. Leticia CARAPIA y Graciela ZARAZÚA; ININ, México).

El valle de Toluca (Estado de México) es una zona industrialmente muy activa, con una producción agrícola importante, así como un acelerado crecimiento urbano e industrial: En este área se localiza el Curso Alto del Río Lerma, convertido en el principal colector de desechos industriales y domésticos arrastrados por canales y arroyos de todo el valle. Las imágenes mostradas pertenecen a metales de partículas en suspensión y de sedimentos del contaminado río Lerma, obtenidas por microscopía de barrido de alto vacío y una sonda para análisis químico elemental por energía dispersiva de Rayos X, EDS (resolución 140 eV); a 25 kV y utilizando un detector de electrones retrodispesados para la obtención de imágenes. Las micrografías (ordenadas de arriba a abajo y de izquierda a derecha) muestran: Óxidos de Fe y Cr; óxidos de Fe, Cr y Ni; óxidos de Pb; óxidos de Fe y Ti; óxidos de Mo; y sulfuro de Fe.

FOTOGAFIAS DE SOLAPAS:

- Contaminación de una playa argentina (Diciembre 2007, Caleta Córdova, Argentina) por derrame de petróleo (Fotografía: M. Isela GUTIÉRREZ).
- Déficit de micronutrientes en eucaliptos producidos por un exceso de Mg (serpentinitas); son evidentes los síntomas negativos en los árboles (Fotografía: Juan F. GALLARDO).

Juan F. GALLARDO LANCHO (Coord.)

LA CONTAMINACIÓN EN IBEROAMÉRICA

(Xenobióticos y Metales Pesados)

**Red Iberoamericana
de Física y Química Ambiental**

<www.sifyqa.org.es>

Editores de este volumen:

Xenobióticos orgánicos: EMETERIO IGLESIAS y ROSA M. TORRES

Metales pesados: M^a ISABEL GONZÁLEZ y ALICIA F. DE IORIO

**SOCIEDAD IBEROAMERICANA DE FÍSICA Y QUÍMICA AMBIENTAL
SALAMANCA (ESPAÑA)**

COORDINADOR

Juan F. GALLARDO LANCHO (Presidente SiFyQA).

EDITORES

Xenobióticos orgánicos: Emeterio IGLESIAS y Rosa M. TORRES.

Metales pesados: M^º Isabel GONZÁLEZ y Alicia F. de IORIO.

REVISORES

Han actuado como revisores (por pares) anónimos de los artículos publicados los siguientes científicos: Francis ANDREUX, Enrique BARRIUSO, Pierre BENOIT, Michel BROSSARD, Lucrecia BRUTTI, Tarsy CARBALLAS FERNÁNDEZ, Armando CARRASQUERO, María Dos SANTOS AFONSO, José A. EGIDO RODRÍGUEZ, Jorge D. ETCHEVERS BARRA, José Luis FERNÁNDEZ TURIEL, Juan F. GALLARDO LANCHO, Carlos GARCÍA IZQUIERDO, Emeterio IGLESIAS JIMÉNEZ, Jorge MARCOVECCHIO, Liliana MÁRQUEZ, Carlos A. MARTÍN, Gerardo MORENO, Esmeralda MORILLO, José Manuel MURILLO, Héctor OROZCO, Gustavo PORRAS, Francisco J. REY, M. Sonia RODRÍGUEZ CRUZ, María Jesús SÁNCHEZ MARTÍN, Nicola SENESI y Graciela ZARÁZUA.

Esta Obra es producto de la Red RiFyQA (Red Iberoamericana de Física y Química Ambiental) y del apoyo de la S.E.U.I. (antiguo Ministerio de Educación y Ciencia, actualmente Ministerio de Ciencia e Innovación).

© **SiFyQA** <www.sifyqa.org.es>

RESERVADOS TODOS LOS DERECHOS.
PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL DE ESTA
OBRA POR CUALQUIER PROCEDIMIENTO, INCLUIDA
LA FOTOCOPIA, SIN PERMISO ESCRITO DEL EDITOR.

I.S.B.N.: 978-84-612-7719-3

Depósito legal: S. 1709-2008

GRÁFICAS CERVANTES, S.A.
Ronda de Sancti-Spíritus, 9-11
37001 SALAMANCA (España)

Impreso en España
Printed in Spain



BREVES *Curricula* DE AUTORES Y EDITORES

Andrés H. ARIAS

Doctor en Biología, Universidad Nacional del Sur (Argentina). Especialista en Hidrocarburos como contaminantes persistentes en el medio ambiente. Participa en diversos proyectos de investigación sobre sistemas costeros antropizados y en un proyecto acerca del papel de los *biofilms* como agentes fotosintetizadores en estuarios y efectos de la contaminación de los sedimentos sobre los mismos. Ha publicado diversos artículos en revistas especializadas y capítulos de libros. Desempeña actividad docente universitaria y ha obtenido un premio a la excelencia académica. Dirección Postal: Instituto Argentino de Oceanografía (IADO-CONICET-UNS), Laboratorio de Química Marina. CCT, C/ Florida 4000, Edificio E-1. Casilla de Correo 804. Bahía Blanca 8000 (R. Argentina). Te/Fax: +54.291.486.1112/1519 (int.174). E-mail: <aharias@criba.edu.ar>.

Marcelo J. AVENA

Doctor en Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba (Argentina). Especialista en procesos de adsorción en la superficie de minerales y en sustancias húmicas (Universidad de Wageningen, Holanda y Universidad de Ginebra, Suiza). Actualmente Profesor de la Universidad Nacional del Sur (Bahía Blanca) e Investigador de CONICET (Argentina). Ha sido profesor/investigador visitante en varias universidades europeas. Ha publicado 40 artículos en revistas internacionales y cuatro capítulos de libro. Revisor regular de revistas internacionales. Ha recibido varios Premios. Dirección postal: Departamento de Química, Universidad Nacional del Sur, Avenida Alem 1253, Bahía Blanca 8000 (R. Argentina). Tfono.: +54.291.4595101 (ext. 3593); FAX: +54.291.4595160. E-mail: <mavena@uns.edu.ar>.

Miria T. BASQUINI

Doctora en Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba (Argentina). Profesora de Grado y Posgrado de la Universidad Nacional del Comahue, Neuquén (Argentina). Ha dirigido proyectos de Investigación en adsorción de compuestos orgánicos, fármacos y pesticidas sobre minerales arcillosos y fangos naturales usados con fines terapéuticos. Ha publicado 9 artículos en revistas científicas y más de 20 en *Proceedings* de congresos. Ex-Directora de Departamento de Química. Revisora de revistas internacionales y evaluadora de proyectos de investigación. Dirección postal: Universidad Nacional del Comahue, C/ Buenos Aires 1400, Neuquén 8300 (R. Argentina). Tfono: +54.299.4490300 int 288. Fax +54.299.4490300 (int. 286). E-mail: <miria@uncoma.edu.ar>.

María Josefina BARROS

Ingeniera Agrónoma, Universidad de Buenos Aires (Argentina), *Master* en EIA-IIIE (España) y D.E.A. en Recursos Vegetales y Edáficos, Universidad de Vigo

(España). Profesora adjunta de Química Analítica (FAUBA). Es docente-investigadora en proyectos relacionados con la recuperación y rehabilitación de suelos contaminados con metales pesados, dinámica y biodisponibilidad de contaminantes en sistemas fluviales, pautas para la remediación de dichos sistemas y especiación de elementos traza en suelos y sedimentos. Ha publicado numerosos trabajos científicos en revistas internacionales, en libros y Congresos, trabajos didácticos y capítulos de libro. Ha participado como expositora en jornadas, congresos y seminarios. Ha sido consultora en el área de Agronomía en proyectos del Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD) y de Programas Nacionales del Ministerio de Trabajo y Seguridad Social (Argentina). Ha desempeñado responsabilidades de gestión en la Facultad de Agronomía de la U. B. A. (Argentina). Dirección postal: Avda. San Martín 4453, Ciudad Autónoma de Bs. 1417 As. (R. Argentina). Teléfono: +54.11.45248085; FAX: +54.11.45248085. E-mail: <mbarros@agro.uba.ar>.

Sandra E. BOTTÉ

Doctora en Biología, Universidad Nacional del Sur (Argentina) e investigadora en el área Química Ambiental, Instituto Argentino de Oceanografía (IADO-CONICET). Docente ayudante del Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional del Sur. Especialista en Metales Pesados en medio acuático y Elementos esenciales para plantas y animales acuáticos. Ha participado en las áreas de diversidad y taxonomía de aves, parasitología de organismos marinos, medición y monitoreo de metales en ambientes estuarinos y en elaboración de planes de manejo para Reservas Naturales. Participa en diversos proyectos de investigación relacionados a diferentes sistemas costeros nacionales, en trabajos a terceros y en la formación de recursos humanos. Ha publicado diversos artículos y capítulos de libros. Con más de 30 comunicaciones en congresos nacionales e internacionales. Dirección postal: Instituto Argentino de Oceanografía (IADO), Área de Oceanografía Química, CCT Bahía Blanca-CONICET-UNS, Florida 4000, Edificio E-1. Casilla de Correo 804, Bahía Blanca 8000 (R. Argentina). Tel: +54.291.486-1112/1519 (int.175). FAX: +54.291.4861527. E-mail: <sbotte@iado-conicet.gob.ar>.

Tarsy CARBALLAS FERNÁNDEZ

Profesora de Investigación (Doctora “*Ad Honorem*”; CSIC-IIAG), Académica Numeraria (Academia de Farmacia de Galicia) y Presidenta do *Consello Asesor de I+D+I* de Galicia; ex-Directora del IIAG y ex-Vicepresidente Comisión II de la IUSS. Doctora en Farmacia y Licenciada en Química (USC); D.E.A en *Pédologie* (*Université de Nancy*, Francia). *Chargé de Recherche* (CNRS, *Centre de Pédologie Biologique*, Nancy, Francia); Profesora de la U.S.C. (España) y/o invitada en Centros/Universidades europeas e iberoamericanas. Especialista en Materia orgánica del suelo. Creó y dirigió el Grupo de Bioquímica del Suelo (1980-2004). Coordinadora de varios proyectos europeos (INCO) y Directora o participante en mas de 35 proyectos españoles sobre: Química, Bioquímica y Cartografía de Suelos; Reciclado de residuos orgánicos; Preven-

ción y extinción de incendios forestales (Modelos de predicción de zonas de riesgo y de gestión de recursos y suelos quemados); y Recuperación de suelos (impacto, protección, restauración); y Secuestro de C en suelos. Más de 250 publicaciones (artículos, libros, etc.). Recibió numerosos premios. Fue miembro de numerosas Comisiones nacionales e internacionales. Dirección postal: IIAG-CSIC, Apartado 122, Santiago de Compostela 15780 (España). Tfono.: +34.981590958; FAX: +34.981592504. E-mail: <tcf@iiag.csic.es>.

Federico DELUCCHI

Bioquímico (2001) y Doctor en Biología (2007), Universidad Nacional del Sur (UNS) (Argentina). Auxiliar de docencia de Bioquímica (UNS) desde 1999. Pasantía (2001-2002) en el Laboratorio de Química Marina del Instituto Argentino de Oceanografía sobre Contaminación por metales pesados de sedimentos estuarinos. Especialista en contaminación por TBT (Tributilestaño) en zonas costeras bajo intervención antrópica. Ha publicado diversos artículos en revistas especializadas internacionales y capítulos de libros; coautor de un libro sobre fundamentos y aplicaciones de métodos bioanalíticos. Con comunicaciones en congresos nacionales e internacionales. Dirección postal: Instituto Argentino de Oceanografía (IADO-CONICET-UNS), Área de Oceanografía Química. CCT, Bahía Blanca, Camino La Carrindanga, km. 7, Edificio E-1. CC 804, Bahía Blanca B8000FWB (R. Argentina). Tel: +54.291.486-1112/1519 (int.175). FAX: +54.291.4861527. E-mail: <fdeluc@iado-conicet.gob.ar>.

Montserrat DÍAZ RAVIÑA

Doctora en Biología, Universidad de Santiago de Compostela. Estancia postdoctoral de 3 años y medio en la *Rothamsted Experimental Station, The Scottish Crop Research Institute* y en la *Lund University*. Científico Titular del CSIC en el IIAG y Prof. de la Universidad de Vigo. Ex-Jefe del Departamento de Bioquímica del Suelo del IIAG-CSIC. Revisora de revistas internacionales. Especialista en Ecología microbiana, principalmente en la respuesta de la microbiota edáfica (masa, actividad y diversidad) frente a procesos de Degradación y prácticas de Conservación de suelos y en la utilización de la microbiótica edáfica como bioindicador de la Calidad del suelo. Ha publicado más de 40 trabajos en revistas nacionales e internacionales sobre Microbiología y Ciencia del Suelo. Dirección postal: IIAG-CSIC, Aptado. 122, Santiago de Compostela 15780 (España). Tfono: +34.981590958; FAX: +34.981592504. E-mail: <mdiazr@iiag.csic.es>.

Elsa Mónica FARFÁN TORRES

Licenciada en Química, Universidad Nacional de Salta (Argentina); Doctora en Ciencias Naturales Aplicadas, *Université Catholique de Louvain* (Bélgica). Especialista en procesos de adsorción y desarrollo de adsorbentes para aplicaciones ambientales y catalíticas. Dirige proyectos de investigación en el área de remoción de contaminantes inorgánicos, en especial en tratamientos de aguas arsenicales. Responsable de nodo del grupo de la Universidad Nacional de Salta (Argentina) en la Red CyTED Iberoarsen. Ha dirigido y dirige proyectos

de tesis doctorales en el área de la Ciencia de Materiales y Química ambiental. Ha publicado numerosos artículos en revistas internacionales y capítulos de libros. Desempeña actividad docente universitaria; Coordinadora del Doctorado en Ciencias, Área Química Aplicada de Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de Salta. Es investigador científico del CONICET. Dirección postal: Instituto de Investigaciones para la Industria Química, INIQUI. Avda. Bolivia 5150 Salta 4400 (R. Argentina) Tel./Fax: +54.387.425.5410/1006. E-mail: <mfarfán@unsa.edu.ar>.

Rubén Hugo FREIJE

Bioquímico de la Universidad Nacional del Sur (Argentina). Doctor y D. E. A. en Oceanología, Universidad de Aix-Marsella II (Francia). Especialista en Productividad Primaria y nutrientes en zonas costeras. Ha desarrollado proyectos europeos y argentinos sobre Oceanografía Química y Biogeoquímica de sistemas estuarinos. Ha publicado más de 40 artículos y varios capítulos de libros. Profesor Asociado de Química Ambiental en la U.N.S. (Bahía Blanca, Argentina). Ha dictado Cursos de Postgrado en varias Universidades argentinas. Revisor de revistas internacionales. Dirección postal: Departamento de Química. U.N.S., Avda. Alem 1253, Bahía Blanca B8000CPB (R. Argentina). Tfono.: +54.291.4595101. E-mail: <qmfreiye@criba.edu.ar>.

Juan F. GALLARDO LANCHO

Doctor en Ciencias, Universidad de Salamanca (España) y D. E. A. en Pedología, Universidad Nancy I (Francia). Especialista en sustancias húmicas (W.R.D., *Geological Survey, U.S.A.*). Actualmente Presidente de la Sociedad Iberoamericana de Física y Química Ambiental (SiFyQA). Revisor internacional de Proyectos y revistas. Ha participado en 7 proyectos europeos y numerosos españoles sobre Edafología, Biogeoquímica ambiental, Ecología forestal, Sustancias húmicas y Rehabilitación de suelos, algunos desarrollados en Iberoamérica. Ha organizado congresos internacionales. Ha publicado más de 222 artículos y varios libros. Investigador del C.S.I.C. y Prf. de Universidad. Profesor Visitante o de Postgrado de varias Universidades iberoamericanas. Ex-Director del C.E.B.A.-I.R.N.A./CSIC de Salamanca. Ha recibido varios Premios. Dirección postal: C. S. I. C., Aptado. 257, Salamanca 37071 (España). Tfono.: +34.923272206; FAX: +34.923219609. E-mail: <jgallard@usal.es>.

Ana Rosa GARCÍA

Mr. Sc. en Ciencias del Suelo, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires (Argentina). El tema de la Tesis de Maestría fue efectos de la ganadería intensiva (*feedlot*) sobre las propiedades del suelo y transporte de contaminantes en el perfil edáfico. Docente e Investigadora de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (Argentina). Revisora de revistas nacionales y evaluadora externa de proyectos científicos de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (Ministerio de Educación, Ciencia y

Tecnología, Argentina). *E-mail*: <agarcia@agro.uba.ar> y <anagarciahoffmann@yahoo.com.ar>.

María Isabel GONZÁLEZ HERNÁNDEZ

Doctora en Ciencias Químicas, Universidad de Salamanca (España), Profesora Titular de Edafología y Química Agrícola de la misma Universidad. Imparte enseñanzas de Grado y Postgrado afines a Edafología y Química Agrícola. Coordinadora del Programa de Doctorado del Departamento sobre Manejos de los Recursos Naturales. Ha Participado en varios proyectos europeos y nacionales sobre Ciclos biogeoquímicos, Ecosistemas Forestales, Fertilidad de Suelos y Espacios Degradados. Autora de un centenar de trabajos de investigación, algunos capítulos de libros. Dirección postal: Facultad de Ciencias Agrarias y Ambientales. Avda. Filiberto Villalobos 119, Salamanca 37007 (España). Teléfono: +34.923294527; Fax: +34.923294774. *E-mail*: <mimig@usal.es>.

María Isela GUTIÉRREZ

Doctora en Química, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (Argentina). Posición post-doctoral en el *Lehrstuhl für Umweltmesstechnik*, Instituto Engler-Bunte de la Universidad de Karlsruhe (Alemania). Profesora e investigadora de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Comodoro Rivadavia (Argentina). Su área de trabajo es la fotoquímica y quimiometría, con aplicaciones a productos naturales. Dirección postal: Departamento de Química. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Comodoro Rivadavia 9000 (R. Argentina). *E-mail*: <isela@unpata.edu.ar>.

Emeterio IGLESIAS JIMÉNEZ

Licenciado en Ciencias Biológicas, Universidad de Salamanca (1980); Doctor en Ciencias Biológicas (1990), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC, IPNA-Tenerife, Islas Canarias). Tesis Doctoral sobre compostaje de residuos urbanos y aplicación agronómica del *compost*, Universidad de La Laguna. Premio al mejor trabajo de investigación de Tesis Doctoral en Tenerife, Gobierno de Canarias (1991). Becario Post-Doctoral en el *Centre de Pédologie Biologique (CPB)* del CNRS (Nancy, Francia) sobre estudio y caracterización de la materia orgánica del Suelo, y en la *Unité de Science du Sol* del INRA (Thiverval-Grignon-París, 1994) sobre interacción *compost-xenobióticos* orgánicos. Desde 1995 Científico Titular del CSIC en el IRNA de Salamanca. Trabaja en reutilización agronómica de residuos orgánicos, así como en aspectos relacionados con contaminación de suelos. Miembro de la Sociedad Española de la Ciencia del Suelo (SECS), Red Española de Compostaje (REC), Sociedad Iberoamericana de Física y Química Ambiental (SIFyQA) e “*International Humic Substances Society*” (IHSS). Dirección postal: Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Salamanca (CSIC). Cordel de Merinas 40-52, Salamanca 37008 (España). Tfno: +34.923219606. Fax: +34.923219609. *E-mail*: <emeterio.iglesias@irnasa.csic.es>.

Adriana del L. MANGANI

Bioquímica, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (Argentina). Realizando una maestría en Ecología Marina Bentónica sobre fotodegradación de petróleo en agua de mar. Docente e investigadora de la Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Comodoro Rivadavia (R. Argentina). *E-mail*: <adrianamangani62@yahoo.com.ar>.

Alicia Beatriz MARCHIARO

Doctora en Ingeniería Química y Ambiental, Universidad de Santiago de Compostela (España). *Magister* en Ingeniería Química, Universidad Nacional del Sur (Argentina). Docente e investigadora de la Facultad de Ciencias Naturales y de la Facultad de Ingeniería en la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Comodoro Rivadavia (Argentina). Ha realizado trabajos de investigación en sistemas de productos naturales, en especial medición del equilibrio entre fases y equilibrio líquido-líquido. *E-mail*: <aliciam@unpata.edu.ar>.

Jorge Eduardo MARCOVECCHIO

Doctora en Ciencias Biológicas, Universidad de Mar del Plata (Argentina) e Investigador Post-Doctoral (orientación Química Ambiental) en el *Ehime University* (Matsuyama, Japón). Especialista en Oceanografía química y contaminación en ambientes acuáticos. Responsable del área de Oceanografía Química del Instituto Argentino de Oceanografía (IADO-CONICET-UNS, Argentina). Ha desarrollado proyectos argentinos, latinoamericanos e internacionales sobre Contaminación de Ambientes Costeros, Biogeoquímica Marina, Indicadores de Contaminación, y Modelos Numéricos en Estuarios y Sistemas Marinos Costeros. Ha publicado más de 120 artículos y capítulos en libros, así como un libro. Investigador Principal del CONICET (Argentina) y Profesor de la Universidad Tecnológica Nacional (UTN-FRBB) y de la Universidad FASTA (Argentina). Profesor Visitante o de Postgrado de varias Universidades latinoamericanas. Revisor de revistas internacionales. Miembro del Comité Editor de "*Chemistry & Ecology*". Ha recibido varios Premios. Dirección postal: IADO, CCT-CONICET, Bahía Blanca; C.C. 804, Bahía Blanca 8000 (R. Argentina). Tel: +54.291.4861112; FAX: +54.291.4861527. *E-mail*: <jorgemar@criba.edu.ar>.

Conrado MIRÓ RODRÍGUEZ

Doctor en Ciencias Física, Universidad de Extremadura (España). Especialista en dispersión ambiental de contaminantes químicos y radiactivos. Profesor Titular de la Universidad de Extremadura. Profesor/investigador visitante de varios centros de investigación y universidades europeas e iberoamericanas. Ha publicado 55 artículos y capítulos de libros en editoriales internacionales. Revisor de revistas internacionales. Asesor científico de la Fundación Carolina (España). Dirección postal: Departamento de Física Aplicada, Facultad de Veterinaria, Universidad de Extremadura. Av. Universidad s/n, Cáceres 10071 (España). Tfono.: +34.927257152; FAX: +34.927257110. *E-mail*: <cmiro@unex.es>.

José Luis NIQUI ARROYO

Doctor en Ciencias Químicas, IRNASE-CSIC (Sevilla). Estudia las bases fisicoquímicas y biológicas que rigen la biodisponibilidad de contaminantes orgánicos en suelos y sedimentos y, particularmente, en el efecto que la aplicación de un campo eléctrico produce tanto sobre la bioaccesibilidad como sobre el patrón de desorción de los hidrocarburos aromáticos policíclicos en dichos sistemas. Continuará su investigación en la empresa “*spin-off*” *Bio-Iliberis Research and Development*, en colaboración con el CSIC y la Agencia de Innovación y Desarrollo de Andalucía (IDEA). Miembro del comité organizador local del 4th *International Workshop “Bioavailability of pollutants and soil remediation”* (Sevilla 2006) y en el próximo 21st *SETAC Annual Meeting* (Sevilla 2010). Dirección postal: IRNASE/CSIC, Apdo. 1052, Sevilla 41012 (España). Tfno.: +34.954624711; FAX: +34.954624002. E-mail: <niqui@irnase.csic.es>.

María E. PAROLO

Licenciada y Profesora en Química, Universidad Nacional del Sur (Bahía Blanca, Argentina). Docente Investigador de la Universidad Nacional del Comahue. Ha desarrollado proyectos sobre las arcillas y su intervención en medio ambiente y salud, y exploración de recursos minerales metalíferos e hidrocarburíferos. Ha publicado artículos sobre adsorción de antibióticos en montmorillonitas en Actas de congresos y revistas. Dirección postal: Universidad Nacional del Comahue, C/ Buenos Aires 1400, Neuquén 8300 (R. Argentina). Tfno: +54.299.4490300 (Int. 288); FAX: +54.299.4485344. E-mail: <meparolo@uncoma.edu.ar>.

Gisela Roxana PETTINARI

Geóloga y Doctora en Ciencias Geológicas. Universidad Nacional de Córdoba (R. Argentina), Especialista en Mineralogía y Minerales Arcillosos. Integrante, asesor y codirectora de diferentes proyectos de investigación sobre arcillas de la Norpatagonia. Trabaja desde 1989 en el CIMAR (Centro de Investigación en Minerales Arcillosos), Departamento de Geología y Petróleo, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Comahue. C/ Buenos Aires 1400, Neuquén. 8300 (R. Argentina). E-mail: <gpettina@uncoma.edu.ar>.

Zdenka PREMUZIC

Ingeniera Agrónoma, Universidad de Buenos Aires; Doctora en Química, Universidad Autónoma de Madrid (España); D. E. A. Química (Agrícola Alimentaria y Ambiental), Universidad Autónoma de Madrid (España); *Master* en Fertilizantes y Medio Ambiente, Universidad Autónoma de Madrid. Miembro de la Sociedad Internacional de Horticultura (*ISHS*). Ha publicado numerosos artículos en revistas y capítulos en libros nacionales e internacionales. Investigadora y Profesora de la Universidad de Buenos Aires. Ha recibido Premios, (FLEA, Federación Latinoamericana, de Educadores Ambientales) y distinciones. Ha Participado en Proyectos de Investigación en colaboración con la Universidad Autónoma de Madrid, España (Agroalimentos y Fertilización). Participa en proyectos de Investigación de U.B.A. y del Instituto de Tecnología

Agropecuaria (INTA) sobre Contaminación, Remediación, Fitoremediación y Desinfecciones químicas. Coordinadora de Sedes Regionales de FAUBA en Bolsón, Prov. de Río Negro y Belén de Escobar, Provincia de Buenos Aires (Argentina). Dirección postal: FAUBA (Facultad de Agronomía) Av. San Martín 4453, Buenos Aires 1417 (R. Argentina). FAX.: 54.11.45248085. Email: <premuzic@agro.uba.ar>.

Francisco PRIETO GARCÍA

Doctor en Química, Universidad de Valladolid (España). Especialista en Química analítica ambiental. Coordinador del Cuerpo Académico de Ciencias Ambientales, perteneciente al Área Académica de Química (AAQ) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH), México. Ha desarrollado y participado en proyectos europeos, españoles y en México sobre ciclos ecotóxicos de metales pesados en aguas, suelos, lodos y cultivos; trabaja en la Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento (LGAC) sobre el Evaluación y control del impacto ambiental. Ha publicado más de 75 artículos y varios capítulos de libros. Es Profesor-Investigador Titular del sistema de la UAEH; pertenece al Sistema Nacional de Investigadores (SNI) en México. Es Investigador Titular por la Academia de Ciencias de Cuba desde 1994. Ha recibido varios Premios en Cuba, España y México. Dirección postal: Centro de Investigaciones Químicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Carretera Pachuca-Tulancingo, km 4.5, Pachuca de Soto 42076, Hidalgo (México). Tfono.: +52.771.7172000, ext. 2220, 6501; FAX: +52.771.7172000, ext 6502. E-mail: <prietog@uaeh.edu.mx>.

Rosa M. TORRES SÁNCHEZ

Doctora en Ciencias, *Université Catholique de Louvain-la-Neuve* (Bélgica). Especialista en caracterización de materiales arcillosos y componentes de suelos, cargas eléctricas superficiales y en procesos de absorción de contaminantes metálicos y agroquímicos. Ha sido profesora/investigadora visitante en universidades europeas, EE. UU. y Japón. Participa en diversos proyectos de investigación sobre utilización de arcillas como adsorbentes de contaminantes para su modelado en suelos; síntesis de nuevos materiales; adsorbentes de metales para el uso como bactericidas y posterior aplicación en la descontaminación de aguas, y su inclusión en polímeros. Ha publicado 65 artículos en revistas internacionales y 11 capítulos de libros. Revisor regular de revistas internacionales. Desempeña su actividad como investigador del CONICET argentino y ha obtenido un premio a la investigación. Dirección: Centro de Tecnología de Recursos Minerales y Cerámica (CIC-CONICET-CCT, La Plata), Camino Centenario y 506, CC 49. M. B. Gonnet 1897, La Plata (R. Argentina). Tel.: +54.221.4840247; FAX: +54.221.4710075. E-mail: <rosats@cetmic.unlp.edu.ar>.

Fernando VALENZUELA LOZANO

Profesor Titular de la Universidad de Chile y Químico por la misma Universidad. *Master* en Ingeniería Química, Universidad de Kyushu (Japón). Académico docente e investigador especializado en el área de Hidrometalurgia:

Recuperación de metales con valor económico (tanto de minerales como de soluciones acuosas) y remoción de iones metálicos tóxicos (tanto de soluciones residuales de procesos industriales como de aguas ácidas de mina). Autor de más de 50 publicaciones científicas internacionales; coautor de capítulos de libros y patentes de invención industrial. Ex-Presidente de la Sociedad Chilena de Química (Santiago de Chile). Dirección postal: Laboratorio de Operaciones Unitarias e Hidrometalurgia, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile; Avda. Vicuña Mackenna 20, Providencia, Santiago (Chile). Tfono.: +56.2.9781660; FAX: 56.2.2227900. E-mail: <fvalenzu@uchile.cl>.

Jorge Manuel VALLÉS

Doctor en Ciencias Geológicas, Universidad de Buenos Aires (Argentina). Especialista en Evaluación de Impacto Ambiental, Universidad Politécnica de Madrid (España). Investigador del CONICET (Argentina) y Profesor y Director del Departamento de Geología y Petróleo en la Universidad Nacional del Comahue (Argentina). Actualmente coordinador del Centro de Investigaciones en Minerales Arcillosos. Participa y dirige proyectos de investigación en el campo de la tecnología, mineralogía y geología de arcillas. Con numerosos cursos y publicaciones en revistas científicas y congresos internacionales. Es miembro de la *Clay Mineral Association* y de la *AIPEA (Association Internationale pour l'étude des argiles)*. Premio Alfredo Ahlfeld por su trayectoria en Mineralogía Aplicada. Dirección postal: Facultad de Ingeniería, C/ Neuquén 8324, Buenos Aires 1400 (R. Argentina). E-mail: <jvalles@uncoma.edu.ar> y <jvalles@arnet.com.ar>.

Graciela ZARAZÚA ORTEGA

Doctora en Ingeniería, Énfasis en Ciencias del Agua, por la Universidad Autónoma del Estado de México (México). Especialista en contaminación ambiental. Trabaja en el Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ). Investigadora participante en diversos proyectos de investigación. Especialista en Calidad de cuerpos de agua y experta en Fluorescencia de Rayos X según el Organismo Internacional de Energía Atómica. Ha publicado diversos artículos en revistas especializadas, así como capítulos de libros. Dirección: Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, Gerencia de Ciencias Ambientales. Carretera México-Toluca s/n. La Marquesa, Ocoyoacac, México 52750 (México). Tel: +52.55.53297235; FAX: +52.55.53297388. E-mail: <graciela.zarazua@inin.gob.mx>.

ÍNDICE

<i>Presentación.</i> J. F. Gallardo Lancho	19
--	----

PARTE I

XENOBIÓTICOS ORGÁNICOS

<i>Niveles de pesticidas organoclorados en C Cyprinus carpio (Linnaeus, 1758) Lago de Tecocomulco, Hidalgo, México.</i> J. Aguilar Martínez, F. Prieto García, A. Delia Román Gutiérrez, W. Scott Monks Sheets y G. Pulido Flores	23
<i>Composición y origen de los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAHs) detectados en el estuario industrializado de Bahía Blanca (Argentina).</i> Andrés Arias, Jorge Marcovecchio y Hugo Freije	45
<i>Dynamics and effects of atrazine in agricultural soils from temperate humid zone (Galicia, NW Spain).</i> M. Díaz Raviña, J. Mahía, A. Martín, A. Cabaneiro y T. Carballas	69
<i>Presencia de Hidrocarburos de petróleo en agua de mar.</i> Adriana Mangani, Alicia Marchiaro y María Isela Gutiérrez	89
<i>Efecto del tratamiento electrocinético sobre la bioaccesibilidad de hidrocarburos aromáticos policíclicos en suelos contaminados.</i> J.L. Niqui-Arroyo y J.J. Ortega-Calvo	111
<i>Modificación de la superficie de Montmorillonita para la adsorción de Iprodion.</i> M. Pantanetti, M. dos Santos Afonso, R. M. Torres Sánchez.....	139
<i>Efecto del Cation de intercambio en la retención de Tetraciclina sobre Montmorillonita.</i> M.E. Parolo, M.J. Avena, G.R. Pettinari, J.M. Vallés y M.T. Baschini	159

PARTE II

METALES PESADOS

<i>Copper and Butyltin compounds in Bahía Blanca estuarine sediments and its relationship with antifouling paints, Argentina.</i> Federico Delucchi, Sandra Botté, Hugo Freije y Jorge Marcovecchio	177
---	-----

<i>Estudio de variables indicativas de riesgo de la toxicidad del Arsénico.</i> Elsa Mónica Farfán Torres, Analía Boemo y Liliana E. Lorenzo	195
<i>Fitoextracción de Cinc por Ricinus communis.</i> E. Fass, D. Wassner, M. J. Barros, A. F. de Iorio y A. Rendina	215
<i>Dinámica de Cinc y Cobre en un suelo afectado por corrales de engorde (feedlot).</i> A. García, V. Rodríguez Salemi, I. Ciapparelli, C. Weigandt y A. F. de Iorio	227
<i>Modelo para el estudio de la dispersión de Metales Pesados en el mar de Alborán: tiempos característicos.</i> C. Miró y R. Periañez	251
<i>Estabilización de metales en suelos afectados por sedimentos dragados mediante la aplicación de vermicomposts.</i> Z. Premuzic, M.J. Barros, A.E. Rendina, A.R. F. de Iorio	267
<i>Nuevas metodologías eficientes de remoción y recuperación de Metales Pesados desde las soluciones residuales industriales y de minería.</i> Fernando Valenzuela, Claudio Araneda, Carlos Basualto y Jaime Sapag-Hagar	283
<i>Metales Pesados en agua y sedimento del río Lerma (México).</i> G. Zarazúa, P. Ávila-Pérez, S. Tejeda, L. Carapia-Morales y C. Díaz-Delgado	313

PRESENTACIÓN

Es una enorme satisfacción prologar esta nueva obra sobre *CONTAMINACION EN IBEROAMÉRICA* que continúa la serie sobre diferentes aspectos del medio ambiente de Ibero-América, fruto de la interacción, cooperación y colaboración mutua de los científicos de esta región en el marco de la **Red Iberoamericana de Física y Química Ambiental** (RiFyQA) que, a su vez, promueve la Sociedad homónima (SiFyQA).

Ante todo, deseo hacer constancia del agradecimiento a la Secretaría de Estado de Universidades e Investigación (Ministerio de Educación y Ciencia español, actualmente Ministerio de Ciencia e Innovación) por la generosa ayuda otorgada a la RiFyQA, que ha permitido la aparición de esta segunda obra de la Red RiFyQA.

Si la anterior obra *La captura de C en ecosistemas terrestres iberoamericanos* (2007) se centró en un aspecto del problema de la reducción de CO₂ atmosférico (en lo que atañe a los países iberoamericanos), en ésta se exponen algunos problemas de contaminación, separando (aunque no es infrecuente que ambas contaminaciones se den al unísono) los xenobióticos de naturaleza orgánica de los llamados metales pesados, asunto de gran preocupación mundial.

El presente Título **Contaminación en Iberoamérica: Xenobióticos y Metales pesados** recoge 15 aportaciones (pertenecientes a aquellos países iberoamericanos que han estudiado con más profundidad estos temas) que versan sobre las diferentes casuísticas que concurren en cada país.

Se incluyen nueve trabajos sobre **Argentina**; en el de **Arias** y colaboradores se expone la problemática del estuario de Bahía Blanca y su contaminación por hidrocarburos aromáticos policíclicos; en el de **Mangani** y col. se estudia la presencia de hidrocarburos en la costa de Comodoro Rivadavia, donde no son infrecuentes los vertidos de petróleo; en el de **Pantanetti** y col. se realiza un estudio teórico de la interacción de un pesticida y una arcilla; en el de **Parolo** y col. también se aborda un caso de adsorción pero, en este caso, de un antibiótico; en el de **Delucchi** y col. se incide en la contaminación del estuario de Bahía Blanca para considerar, esta vez, la del cobre; en el de **Farfán** y col. se expone la problemática de la contaminación por arsénico, tan frecuente en el Noroeste argentino; en el de **Fass** y col. se aborda la posibilidad de utilizar el ricino como fitoacumuladora útil para la descontaminación; en el de **García** se detalla la contaminación de cinc y cobre producida por la ganadería estabulada; y, por último, en el de **Premuzic** y col. se intenta utilizar el *vermicompost* como una manera de reducir la toxicidad de suelos contaminados por sedimentos provenientes de ríos contaminados.

Sólo hay un trabajo de **Chile** que, obviamente, trata de minería; se explicitan metodologías de descontaminación de sus frecuentes lugares

contaminados por las actividades extractivas, valorando sus posibilidades (limitadas por los costos), expuesto por **Valenzuela** y colaboradores.

Se incluyen dos trabajos sobre **Méjico**. El primero, de **Aguilar** y col., versa sobre los niveles de pesticidas que se acumulan en un pez abundante y comestible (carpa) en un lago no lejano del Distrito Federal de México; y un segundo, de **Zarazúa** y col., que describe la contaminación del río Lerma a lo largo de su tramo alto (en la planicie de Toluca).

Tres trabajos proceden de **España**; el primero lo exponen **Díaz Raviña** y col., que versa sobre los efectos de la atrazina en la agricultura gallega, típico ambiente húmedo; el segundo, de **Niqui y Ortega**, discute las posibilidades de un interesante método de descontaminación de suelos usando su conductividad eléctrica; y el último, de **Miró y Perriñez**, expone un modelo de movimientos de metales pesados desde la entrada del Mediterráneo, tras su dispersión por un posible vertido en el Estrecho de Gibraltar.

Por tanto, en esta obra hay dos tipos de trabajos: Los que pretenden indicar la presencia de contaminantes y aquellos otros que intentan remediar las contaminaciones. Obviamente, la solución sería prevenirlas y no provocarlas, pero dado que evitar la contaminación parece imposible (es un subproducto inherente a los crecientes niveles de vida y, siempre existe el riesgo de un accidente puntual) lo importante sería disminuir todo lo posible ese riesgo y los niveles de contaminación y, en las ya producidas, recuperar los sistemas o darle una aplicación en consonancia para evitar que los contaminantes continúen su periplo siguiendo cadenas tróficas o flujos hídricos.

Esperamos que el lector, tras la lectura de los diferentes artículos, tenga una visión más completa y profunda de la diversidad de los problemas ambientales en cada uno de los ambientes referidos y valore algunas de las técnicas de descontaminación aquí expuestas. No se debe olvidar que, una vez producida la contaminación, es imposible eliminarla, pero existen técnicas para trasladarla desde lugares de alta peligrosidad a otros restringidos, o bien, inactivarla *in situ*.

Nuestro deseo es que esta obra (emanada de la Red **RiFyQA**) sea de utilidad a la sociedad iberoamericana, en general, y que futuros nuevos títulos abarquen otros temas emergentes y urgentes (*v. g.*, ya se están recogiendo manuscritos sobre emisiones de gases de efecto invernadero en Iberoamérica) en las previsibles siguientes publicaciones. Queremos finalizar haciendo una llamada de colaboración a científicos, organismos y empresas interesados en temas ambientales.

Salamanca, doce de Octubre de 2008.

Juan F. GALLARDO.

Presidente de la SiFyQA y coordinador de la obra.

XENOBIÓTICOS ORGÁNICOS

Editores

EMETERIO IGLESIAS y ROSA M. TORRES

NIVELES DE PESTICIDAS ORGANOCLORADOS EN *Cyprinus carpio* (LINNAEUS, 1758) DEL LAGO DE TECOCOMULCO, HIDALGO, MÉXICO

J. Aguilar Martínez¹; F. Prieto García¹; A. D. Román Gutiérrez¹;
W. Scott Monks Sheets² y G. Pulido Flores²

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. ¹ Centro de Investigaciones Químicas; ² Centro de Investigaciones Biológicas. Carretera Pachuca-Tulancingo, km. 4,5, Ciudad Universitaria, Pachuca 42076, Hidalgo (México). E-mail: <prietog@uaeh.edu.mx>

Resumen: El objetivo de este trabajo fue evaluar el contenido de algunos pesticidas organoclorados en diversos órganos de *Cyprinus carpio* en su hábitat del lago de Tecocomulco en el Estado de Hidalgo (México), que se cosecha desde hace más de 20 años. Los pesticidas, por su reducida reactividad, son estables y esta estabilidad se manifiesta como persistencia en el medio ambiente, que se incrementa a mayor cloración del compuesto. Los ejemplares (hembras) tomados del lago durante un año (cuatro muestreos, antes y después del desove) fueron, secados y separados los órganos y tejidos en 5 grupos: Piel, vísceras, branquias, músculo y hueso. Se evaluó los contenidos de lípidos y se determinó el contenido de pesticidas organoclorados por cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas. Se utilizó un estándar analítico (mezcla de 16 pesticidas organoclorados) a partir del cual se prepararon diluciones de 0 a 10 mg mL⁻¹. Se identificaron 7 pesticidas (DDT o Dicloro Difenil Tricloroetano, DDE o Dicloro Difenil Etano, Aldrín, Dieldrín, Endrín, Endrín Aldehído y Endosulfán 2), ya que los mismos tienden a bioacumularse en órganos de *C. carpio* con alto contenido lipídico. Se encontró mayor concentración en piel, vísceras y branquias; fueron menores entre Marzo-Abril que entre Octubre-Noviembre debido a que durante el desove su alimentación es más restringida y producen menores cantidades de lípidos. Los organoclorados encontrados en *C. carpio* que están dentro del límite permisible indicado en la Norma Oficial Mexicana fueron Endrín y Endosulfán 2 (en músculo y piel), pero ello no es indicativo de que no exista contaminación y, por tanto, deberían ser monitoreados sistemáticamente. Superan los límites permisibles los cinco organoclorados restantes, lo que significa una limitante para su comercialización. Por primera vez se reporta la determinación de pesticidas organoclorados bioacumulados en carpa común (*Cyprinus carpio*) en su hábitat del lago de Tecocomulco, en el Estado de Hidalgo (México).

Palabras clave: Pesticidas organoclorados; acuicultura; bioacumulación; órganos; carpa común.

Levels of organochlorine pesticides in *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) from Tecocomulco Lake, Hidalgo, Mexico

Abstract: The objective of this work was to evaluate the bioaccumulation of organo-chloride pesticides in *Cyprinus carpio* in its habitat of the lake of Tecocomulco in the State of Hidalgo, Mexico. This fish is harvested for more than 20 years. Pesticides, by his reduced reactivity, are stable and this stability is pronounced like persistence on the environment that is increased to higher chlorination of the compound. The units (females) taken from the lake during a year (four samplings, before and after the egg-laying), were dried and separated the organs and weaves in 5 groups; skin, visceral, gills, muscle, and bone. The lipid content was evaluated gravimetrically and the determination of organ-chloride pesticides was performed gas chromatography with detector of mass spectrometry. An analytical standard (mixtures of 16 organ-chloride pesticides) with $20 \mu\text{g mL}^{-1}$, was used; from which were prepared dilutions 0 to $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ protecting the flasks of the light and the air. Seven pesticides were identified (DDT o Dichloro Diphenil Trichloroethane, DDE o Dichloro Diphenil Ethane, Aldrín, Dieldrín, Endrín, Endrín Aldehido y Endosulfán 2), since they tend to bioaccumulate in organs of *C. carpio* with high lipidic content. The major concentration was found in skin, viscera, and gills; they were lowen between March-April than between October-November, because during the egg-laying the feeding of the fishes is restricted and produce smaller amounts of lipids. The organ-chlorids found in *C. carpio* that they are within the indicated permissible limit in the Mexican Official Norm were Endrín and Endosulfán 2 (in muscle and skin), but this is not indicative of which contamination does not exist, and therefore will have to be monitored systematically. The other five are outside the permissible limit. This must be considered like an obstacle for its commercialization. It is the first time that determination of organ-chloride pesticides in *Cyprinus carpio* in lake of Tecocomulco, Hidalgo, Mexico, is reported.

Key words: Organo-chlorines pesticides; aquaculture; bioaccumulation; organs; common carp.

INTRODUCCIÓN

El *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758), o carpa común, es un pez típico de aguas calmadas, cálidas y fondos fangosos; es originaria del extremo oriente de Asia (Huss, 1998). El objetivo de este trabajo fue evaluar el contenido de pesticidas organoclorados en *Cyprinus carpio* en diferentes meses, en su hábitat del lago de Tecocomulco en el Estado de Hidalgo (México), donde es recolectado.

Los sistemas acuáticos constantemente se ven amenazados por contaminaciones del medio debido a la descarga de aguas residuales a las lagunas

o ríos, por el arrastre de contaminantes con el agua de lluvia, o por encontrarse cerca de campos de cultivos (por hacerse uso de diferentes productos químicos como son los pesticidas organoclorados y organofosforados).

Los pesticidas son productos químicos que se utilizan para proteger los cultivos de los insectos (insecticidas), de las malas hierbas y los hongos (herbicidas y fungicidas) y de los roedores (rodenticidas; SEMARNAP, 1997). La mayoría de estos productos son tóxicos y el principal argumento contra su uso es el riesgo que suponen para la salud y el peligro de que se contamine el medio ambiente. Estas preocupaciones constituyen la base de todas las regulaciones que controlan el uso de plaguicidas, que establecen las normas de seguridad y vigilan su presencia en los alimentos. La exposición a los pesticidas trae como consecuencia síntomas de intoxicación que incluyen complicaciones para la reproducción, niños nacidos con defectos, discapacidad mental, órganos dañados y varios tipos de cáncer (entre ellos leucemia, cáncer de pecho y tumores cerebrales; Murty, 2000). De 90 plaguicidas que han sido cancelados o restringido en los Estados Unidos, 30 se usan en México (INEGI, 1992). De ellos un 60 % de los 22 plaguicidas se consideran perjudiciales para la salud y el medio ambiente, mientras que el 42 % se fabrican en el país.

Por su clasificación taxonómica *C. carpio* (Linnaeus, 1758) pertenece a la familia *Cyprinidae*, orden *Cypriniformes*, clase *Actinopterygios* (peces con aletas radiadas). Puede alcanzar una longitud de 120 cm, un peso máximo de 3,7-3,8 kg y tener una edad máxima de 20 años <<http://filaman.ifm-geomar.de/search.php>> consultado en Octubre 2007; Charles, 1993). Su cuerpo es robusto, poco comprimido y ligeramente curvado en el vientre, cubierto por escamas gruesas, aleta dorsal y anal con espina aserrada en la parte anterior; generalmente barbas presentes y dientes faríngeos, una aleta caudal con 3 espinas dorsales; resistente y tolerante a una amplia variedad de condiciones. Es omnívoro, con predominancia bentófago; por su forma de alimentación, basada en la remoción de sedimentos, incrementa la turbidez en el medio pudiendo causar serios problemas en el sistema (Love, 1970). Se alimenta de insectos acuáticos, crustáceos, anélidos, moluscos, semillas de plantas acuáticas y algas (<<http://filaman.ifm-geomar.de/search.php>>; consultado en Octubre 2007). La época de desove empieza en Marzo y acaba a principios de Julio, poniendo huevos pegajosos en la vegetación baja. Una hembra de 47 cm de longitud produce alrededor de 300.000 huevos (<<http://filaman.ifm-geomar.de/search.php>>, consultado en Octubre 2007).

El estado de Hidalgo (México) se encuentra en la parte central del país, entre los 19° 35' 52" y 21° 25' 00" de latitud Norte y 97° 57' 27" a 99° 51' 51" de longitud Oeste, con una superficie territorial de 20.905,12 km². Cuenta con un considerable potencial acuícola de manantiales, aguas termales, ríos, lagos y presas. De acuerdo con la Carta Nacional Pesquera (Diario Oficial de la Federación, 2000) en el Estado se localizan 23 cuerpos de agua, dos de ellos son embalses naturales. Se ubica en la cuenca de Tecocomulco, la

región de Tepeapulco, a la que pertenece el lago en estudio. Es una región rica en recursos naturales, forestales, pesqueros y con abundante avifauna. Actualmente queda poco de la vegetación original y la extensión del lago de Tecocomulco ha sido disminuida en superficie debido a diversos factores; destacan la expansión de tierras para actividades agropecuarias, asentamientos humanos e industrias establecidas en la cuenca. El lago Tecocomulco se localiza en el Sur del Estado, 75 km al Sureste de Pachuca (capital del Estado) y Noreste de ciudad Sahagún y Tepeapulco. La región central es una cuenca cerrada, con coordenadas 19° 52' 00" de latitud Norte y 98° 24' 00" de longitud Oeste, con una altitud de 2.450 m snm, y una superficie aproximada de 1.700 ha. Se le considera dentro del grupo de las cuencas cerradas de la Región Hidrológica No. 26 (Diario Oficial de la Federación, 2001; SEMARNAP, 2001).

El lago es un relicto del antiguo ecosistema lacustre que predominó en toda la cuenca del Valle de México hasta finales de los años 1940; a partir de este año empezó a sufrir un secado drástico. Se le considera como el último humedal relicto en el que se refugian y habitan peces, anfibios y aves acuáticas. Actualmente el agua es utilizada para riego, uso turístico y piscicultura en pequeña escala, beneficiándose las comunidades de la región (CNA, 2002). No es profundo (profundidades máximas de 1,5 m) y presenta una comunidad acuática compuesta por una gran variedad de plantas y es visitado por varias especies de aves migratorias. Desde el 2004 está considerado como Área Natural Protegida (FIRCO, 1992; SEMARNAP, 1997).

La mayor fuente de contaminación por pesticidas de dicho lago es por depósitos que resultan de aplicación de productos químicos para controlar plagas agrícolas en cultivos, masas forestales, suelos y aguas estancadas. Los pesticidas llegan al suelo por aplicación directa, por tratamiento de la vegetación, a través del agua de lluvia que arrastra el plaguicida suspendido o disuelto en la atmósfera, o por el agua de riego contaminada (Raldúa, 1995). Debido al peligro que los pesticidas organoclorados representan para la fauna silvestre y para el hombre (y debido también a que los insectos han desarrollado resistencia a ellos), el uso de los organoclorados como el DDT está disminuyendo con rapidez en todo el mundo occidental, aunque siguen usándose en grandes cantidades en los países en vías de desarrollo. En México, la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) el 6 de Septiembre de 1968 dio a conocer la base legal de las restricciones al uso, registro y autorización de productos fitosanitarios, el cual prohibió el uso de insecticidas organoclorados en campos naturales y praderas implantadas y/o cultivadas, excepto para hormigueros localizados.

En 1988 se revocó el registro y dio autorización de venta de Endrín para todo uso agronómico. En 1989 se permitió el uso de insecticidas organoclorados con restricción de uso sólo como hormiguicidas. En ese mismo año, el Endosulfán y Endrín se exceptúan de los alcances restrictivos. Tienen diferente estructura química, con uno o varios átomos de Cl; por ello también

se les llama hidroclorados, halogenados o halobencenos (Garrido-Lestache y Garrido-Lestache, 1988). Su estructura cíclica, su peso molecular y la ausencia de grupos funcionales hidrofílicos, los diferencian químicamente de los hidrocarburos clorados usados como solventes y fumigantes. Los organoclorados pueden ser divididos en cinco grupos, DDT y análogos, hexaclorohexanos y similares, ciclodienos y compuestos similares, toxafeno y compuestos relacionados y los de estructuras tipo mirex y clordecone (Smith, 1991).

Las principales propiedades físico-químicas de los organoclorados son gran estabilidad química por una baja reactividad, solubilidad en disolventes orgánicos y lípidos e insolubles en agua, gran estabilidad frente al aire, la luz y el calor (algunos de ellos sensibles a la luz U.V., como el DDT); tienen estructura cíclica, notable resistencia al ataque de los microorganismos y tienden a acumularse en el tejido graso de los organismos vivos. Ofrecen resistencia a la biodegradación y tienen una baja presión de vapor (Alvarez y Cruz, 1989). Por su reducida reactividad son estables y esta estabilidad se manifiesta como una persistencia en el medio ambiente, que se incrementa a mayor cloración del compuesto. El tamaño y masa del átomo de Cl da como resultado una gran molécula que tiene una presión de vapor muy reducida, incrementa el punto de ebullición y reduce la solubilidad en agua (Soler, 2002). La adición de átomos de Cl incrementa así la partición de los lípidos y por consiguiente, la bioconcentración. Las características mencionadas son las responsables de problemas de contaminación de alimentos, tanto de origen animal como vegetal, y de la posterior acumulación en los tejidos grasos de las personas (Raldúa, 1995). Una propiedad común de los derivados ciclodiénicos, es su gran persistencia en el medio ambiente y, de modo especial, su identidad de comportamiento biológico al ser transformados en sus epóxidos; así el aldrín pasa a dieldrín y el heptacloro a heptacloro epóxido tanto en el suelo como en animales o en sistemas biológicos (Tabla 1).

Todos los plaguicidas antes mencionados presentan el inconveniente de acumularse en el suelo, especialmente cuando los tratamientos se repiten año tras año; persisten largo tiempo y su presencia en residuos ha sido comprobada después de algunos años del tratamiento, señalándole la circunstancia de que los suelos orgánicos retienen mayor cantidad de residuos que los arenosos. También ha sido comprobada una cierta movilización del insecticida, que puede ser absorbido por raíces aprovechables de ciertos cultivos, como la zanahoria; ha sido demostrada igualmente su acumulación en grasa y leche de los animales alimentados con pastos tratados o creciendo en zonas tratadas con dichos plaguicidas (Barberá, 1989).

Los crustáceos y peces captan compuestos organoclorados por absorción branquial, directamente desde el agua por mecanismos activos o pasivos (Lledos *et al.*, 1992). Los niveles de organoclorados en peces han sido estudiados en el continente americano. Saiki y Schmitt (1986) encontraron concentraciones de DDT (p,p'-DDD + p,p'-DDE + p,p'-DDT) en *C. carpio*

capturados en el río San Joaquín (USA) entre 1,43 y 2,21 mg kg⁻¹ expresadas en peso fresco. Eaton y Lydy (2000) detectaron entre 0-22,3 µg kg⁻¹ tejido fresco de p,p'-DDE y entre 0-1,59 mg kg⁻¹ de p,p'-DDT en músculo de *C. carpio* capturadas en el río Arkansas, en el Estado de Kansas (EE. UU.). Fernández y colaboradores (1984) determinaron niveles de organoclorados en diversas especies de peces capturados en el Parque Nacional de Doñana (España).

Tabla 1. Características de algunos pesticidas organoclorados.

Grupo de organoclorados al que pertenece	Nombre del pesticida	Propiedades	Usos
DDT	DDT (Dicloro Difenil Tricloroetano)	Insoluble en agua, se descompone lentamente con rayos UV, se descompone a 100 °C (Matsumura, 1985), capaz de persistir durante años en los sistemas acuáticos (Dimond <i>et al.</i> , 1971 en Soler 2002).	Plaguicida; obtención de mayores rendimientos y mejora de la calidad en las cosechas.
Análogos del DDT	Metoxicloro	Es el análogo más conocido y empleado, no se acumula en los tejidos grasos ni pasa a la leche, se metaboliza rápidamente (Barberá, 1989), y es menos tóxico que el DDT (Matsumura, 1985)	Tratamientos ganaderos y sobre vacas lecheras.
	DDE (Dicloro Difenil Etano)	Es menos tóxico que el DDT (Matsumura, 1985); es el primer metabolito del DDT y es capaz de persistir durante años en los sistemas acuáticos (Dimond <i>et al.</i> , 1971 en Soler 2002).	Metabolito derivado del uso del DDT.
	DDD (Dicloro Difenil Dicloroetano)	Es de 0,1 a 0,2 veces menos tóxico que el DDT (Matsumura, 1985); es el segundo metabolito del DDT y es capaz de persistir durante años en los sistemas acuáticos (Dimond <i>et al.</i> , 1971 en Soler 2002).	Metabolito derivado del uso del DDT.
HCH Ó BHC	HCH (Hexaclorociclohexano) ó BHC (Hexacloruro de benceno)	Tiene 4 isómeros; el isómero gamma (lindano) es muy estable al calor; posee alta presión de vapor, lo que permite que pueda ser vaporizado mediante calor externo sin descomposición apreciable (Raldúa, 1995).	Plaguicida; obtención de mayores rendimientos y mejora de la calidad en las cosechas.
Derivados Ciclodienicos	Aldrín	Es uno de los pesticidas más persistentes que se conocen; cuando entra en el medio ambiente, la luz solar, las bacterias, las plantas y los animales lo transforman a dieldrín (Raldúa, 1995).	Fue utilizado como pesticida para maíz y algodón, pero en 1987 la Agencia de Protección Ambiental (EPA) lo prohibió por su alta toxicidad.
	Dieldrín	Es un pesticida muy persistente; se descompone sólo con tratamientos con ácidos fuertes a largas exposiciones a luz UV (Barberá, 1989); se degrada lentamente en el medio ambiente o se almacena en grasa eliminándose muy lentamente.	Fue utilizado como pesticida para maíz y algodón, pero en 1987 la Agencia de Protección Ambiental (EPA) lo prohibió por su alta toxicidad.
	Endrín	Se degrada fácilmente por el calor y la luz, pero en determinadas condiciones perdura hasta 10 años. Es elevadamente tóxico, no se disuelve bien en agua, por lo que su descomposición es en los sedimentos. Con altas temperaturas y luz se puede transformar en aldehído (Barberá, 1989).	Se ha utilizado para controlar insectos, roedores y pájaros (Matsumura, 1985).

.../...

.../...

Otros derivados	Heptacloro	Es un producto químico sintético. En el ambiente no se disuelve bien en agua, se une fácilmente a moléculas sólidas en suspensión y se evapora lentamente. Lo más común es que se convierta en epóxido, el cual es más tóxico que el heptacloro. Este epóxido permanece en suelo y agua durante muchos años (Barberá, 1989).	Se usó en el pasado contra insectos y plagas en el maíz, pero en 1988 su uso fue prohibido por la Agencia de Protección Ambiental (EPA).
	Endosulfán	Cuando se aplica, las moléculas en aerosol pueden viajar a largas distancias por el aire. No se disuelve bien en agua, por lo que en un medio acuático se une a los sedimentos, con lo que tarda años en destruirse del todo (Raldúa, 1995). En mamíferos se transforma en endosulfán-diol (endosulfán 2), de baja toxicidad y en parte, también se forma sulfato de toxicidad similar a la del endosulfán (Barberá, 1989).	Es muy usado en el control de insectos en alimentos, cultivos no alimentarios y como protector de la madera (Matsumura, 1985).

El estudio mostró niveles de DDT en anguila, de 0,128 y 0,391 mg kg⁻¹ en dos localizaciones distintas y en la carpa común fueron de 0,666 y 0,130 mg kg⁻¹. López y colaboradores (1995) analizaron muestras de *Cyprinus carpio*, *Ictalurus melas*, *Micropterus salmoides*, *Salmo trutta*, *Anguila anguila* y *Gobio gobio* en diversos ríos de Cataluña (España). Encontraron niveles de 0,21 mg kg⁻¹ de HCHs, de 0,081 mg kg⁻¹ de DDT y de 0,046 mg kg⁻¹ de epóxido de heptacloro. En el 100% de las muestras se detectó p,p'-DDE y el lindano fue el más abundante de los derivados del HCH, con una concentración media de 0,017 mg g⁻¹. Un estudio realizado en la India por Dua y colaboradores (1996) reportó niveles de DDT de 2,26 mg kg⁻¹ en suelo y 0,18 mg L⁻¹ en agua en una zona alejada a un centro poblado donde se controlaba malaria.

En 1995 un estudio de mujeres embarazadas en Tailandia reveló la presencia de pesticidas organofosforados en sangre en concentraciones de 0,80 a 10,15 mg L⁻¹. Además reveló que los neonatos tenían niveles de 0,62 a 5,05 µg L⁻¹, siendo los pesticidas detectados el p'p DDE, DDT, Lindano, HCH y Heptacloro (Atisook *et al.*, 1995). De la misma manera, un estudio realizado en Veracruz México por Waliszewski *et al.* (1996) demostró que en jóvenes menores de 20 años de edad los niveles de contaminación con DDT eran altísimos, encontrándose entre 9 y 20 µg L⁻¹. Respecto a la protección de los consumidores existe la Norma Oficial Mexicana NOM-004-ZOO-2001 (Diario Oficial de la Federación, 2001 b) que establece el control de residuos tóxicos en grasa, hígado, músculo y riñón en aves, bovino, caprino, cérvido, equino, ovino y porcino, los límites máximos permisibles y los procedimientos de muestreo. Es destacable que no se establecen valores para pescados o mariscos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron 4 campañas de muestreos entre Octubre 2006 y Abril 2007, dos campañas en periodo de desove y dos campañas de muestreos en el periodo posterior al desove. En cada uno de los muestreos se tomaron tres ejemplares (hembras) frescos del lago de Tecocomulco; posteriormente se procedió a limpiar cada ejemplar (se eliminaron escamas y se lavó con abundante agua); después se realizó una disección y se separaron los órganos y tejidos en 5 grupos: Piel, vísceras, branquias, músculo y hueso. Cada una de las muestras fue sometida a temperatura de 45 °C por 5 días para su secado.

Para realizar la determinación de pesticidas organoclorados en *C. carpio* se utilizó cromatografía de gases (NOM-028-ZOO-1995) con detector de espectrometría de masas (MS). Todo el material de vidrio se lavó con detergente y agua, se enjuagó con agua destilada y se lavó con acetona y posteriormente con éter etílico o hexano. Se obtuvo de cada órgano los contenidos de grasas totales (base seca) por el método de extracción en equipo soxhlet (AOAC, 1995). Las grasas extraídas fueron almacenadas con 2 mL de éter etílico en viales con tapón de rosca de 5 mL de capacidad, etiquetados, pesados en vacío y almacenados a 4 °C, protegidos de la luz y aire para evitar la oxidación de las grasas.

Para la identificación de los pesticidas organoclorados se buscaron las condiciones óptimas de operación, así como también se realizó una curva de calibrado, utilizando un estándar analítico de una mezcla de 16 pesticidas organoclorados (*Organochlorine Pesticides Mixture*), de la marca *Ultra Scientific*. La curva de calibrado se realizó a partir del estándar analítico con concentración de 20 mg mL⁻¹ por cada uno de los 16 pesticidas; a partir de éste se prepararon diluciones a concentraciones de 0 a 10 mg mL⁻¹. Los matraces que contenían estas diluciones fueron protegidos de la luz y del aire.

Se utilizó un cromatógrafo de gases marca HP 5890, equipado con detector de masas. Las condiciones de operación fueron: Columna capilar HP-5 (30 m largo x 0,25 mm de diámetro y 0,25 mm de espesor), soporte 5 % fenilmetil polisiloxano, helio como gas portador, con flujo total de 1 mL min⁻¹, temperatura del detector 300 °C, temperatura de la columna 60 °C, rampa 25 °C min⁻¹ hasta llegar a 100 °C, rampa 5 °C min⁻¹ hasta llegar a 300 °C, temperatura del inyector 300 °C y volumen de muestra inyectado de 1 mL. Se utilizó el programa *MS Data Análisis #1*, con el que se obtuvo directamente la curva de calibrado y su regresión lineal.

El análisis del cromatograma indicó los tiempos de retención y peso molecular aproximado para cada pesticida. Para la cuantificación de pesticidas organoclorados las muestras de grasas extraídas de cada grupo (piel, vísceras, branquias, músculo y hueso) obtenidas (tres réplicas por muestreos) fueron

inyectadas en el cromatógrafo y se obtuvieron los correspondientes cromatogramas. Los tiempos de retención y orden de aparición de los picos de cada uno de los plaguicidas que fueron evaluados se indican en la Tabla 2. En la Fig. 1 se presenta la curva de calibrado realizada inyectando la mezcla de los 16 pesticidas a diferentes concentraciones.

Tabla 2. Tiempo y orden de aparición de los organoclorados utilizados como patrón de pesticidas en la columna capilar.

Pesticida	Tiempo medio de retención (minutos)
1. a-BHC	20,820
2. b-BHC	22,012
3. g-BHC	22,265
4. d-BHC	23,309
5. Heptacloro	24,075
6. Aldrín	25,316 *
7. Heptacloro epóxido	26,750
8. Endosulfan 1	28,368
9. Dieldrín	29,836 *
10. DDE	30,846 *
11. Endrín	31,706 *
12. Endosulfan 2	32,085 *
13. DDD	32,463
14. Endrin aldehído	32,830 *
15. Endosulfan sulfato	33,748
16. DDT	33,908 *

(*) Indica que fueron detectados experimentalmente.

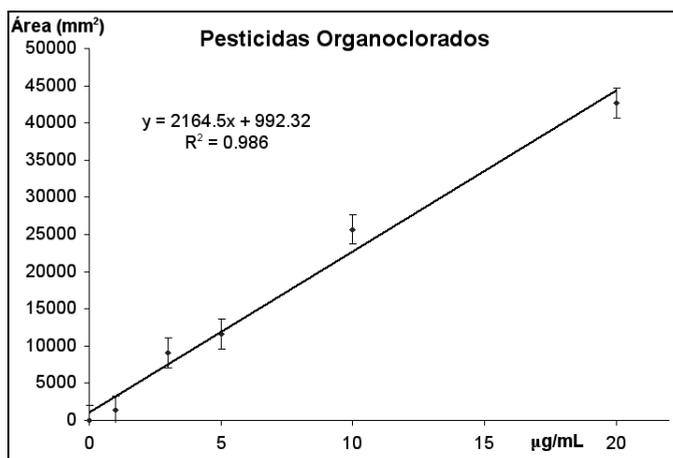


Figura 1. Curva de calibrado de pesticidas organoclorados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los ejemplares de *C. carpio* (hembras) presentaron un peso aproximado de 210 g \pm 10 g. Las *C. carpio* que poseen este peso están en estado reproductivo, lo que puede verse en el grado de desarrollo de la gónada. De cada uno de los grupos de órganos se obtuvieron los pesos promedios de grasas expresados en porcentaje que se muestran en la Fig. 2. Se observa la variación estacional del % de grasa de *C. carpio*; comparando el % de grasas de los 4 muestreos se aprecia que en el mes de noviembre todas las partes de *C. carpio* (músculo, piel, vísceras y branquias) excepto el hueso, tuvieron un mayor porcentaje de grasa. Esto se debe a que Octubre y Noviembre son periodos de intensa alimentación, por lo cual el contenido de lípidos muestra un marcado y rápido aumento.

Después del desove el pez recobra su comportamiento de alimentación; por lo contrario, cuando se acerca la época de desove los peces se encuentran con un contenido mínimo de lípidos (Marzo-Abril). Los resultados obtenidos concuerdan con Borresen (1992). También se muestra en la Fig. 2 que las partes con una mayor fracción lipídica son la piel (78,4 %), vísceras (60,7 %) y branquias (51,7 %).

Siete de los 16 pesticidas organoclorados evaluados en este estudio fueron encontrados en los diferentes órganos de *C. carpio*; en la Tabla 2 se

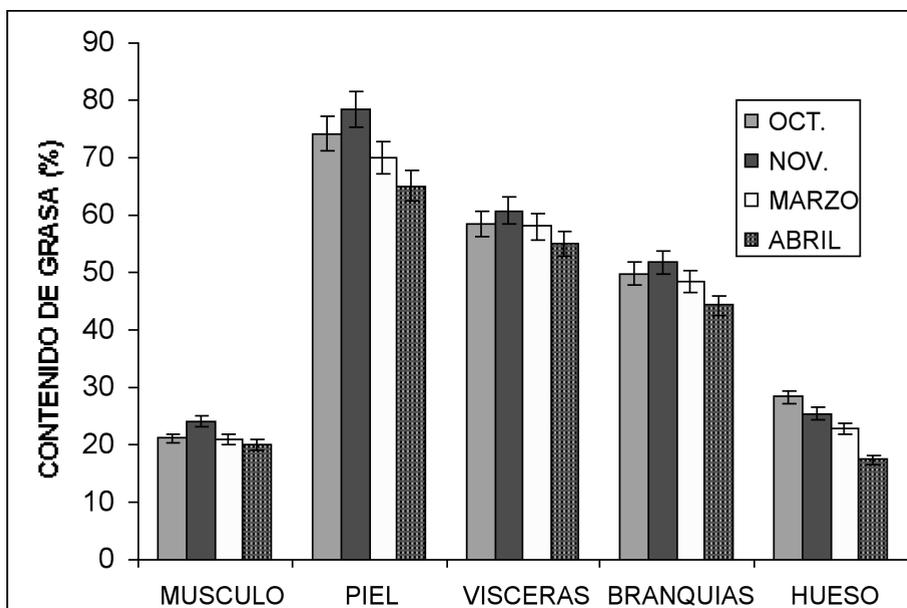


Figura 2. Variación estacional de grasa (%) en diferentes órganos de *Cyprinus carpio*. Se indican las desviaciones estándar (máximas \pm 2,5 %).

indican con asteriscos (*). Los niveles detectados de cada uno de ellos se discuten separadamente. Así los niveles de DDT y DDE se reflejan en las Tablas 3 y 4 (entre paréntesis se señalan los valores de desviación estándar). Igualmente en la Tabla 5 se muestran los niveles detectados de Aldrín.

El DDT y el Aldrín son insecticidas que han sido prohibidos por la Administración Federal de Drogas y Alimentos (FDA) de los Estados Unidos (USA), ya que son altamente tóxicos para organismos acuáticos en cultivo y peligrosos para la salud humana (Soler, 2002). La presencia o detección de ciertos niveles de concentración en pescados de pesticidas, así como sus metabolitos, es consecuencia en primera instancia de aplicaciones en zonas cercanas al acuífero que los hospeda y en segunda instancia a que estos productos son capaces de persistir durante años en los sistemas acuáticos, en particular, como metabolito principal en peces (Dimond *et al.*, 1971).

En la Tabla 3, destaca que en el mes de Octubre del 2006 los niveles de DDT aparecieron en concentraciones detectables en todas las partes de *C. carpio*; en el mes de Noviembre, la concentración de DDT fue mayor que en Octubre. De Marzo a Abril hubo una disminución progresiva en la concentración de DDT tanto en músculo y vísceras, como en piel. En branquias y hueso el DDT no fue detectado. En Noviembre se detectó el más alto nivel de DDT (en piel $2,33 \text{ mg kg}^{-1}$) y la concentración mínima en Abril (en músculo $1,75 \text{ mg kg}^{-1}$). En sentido general en la piel se detectaron los más altos niveles de concentración, lo que está en correspondencia de que ésta es la parte que está en contacto directo con el agua y siendo el DDT un pesticida que ha mostrado la característica de persistir durante años en los sistemas acuáticos (Dimond *et al.*, 1971) justifica que sea detectado en *C. carpio* en el lago.

Estos resultados corroboran que existe relación entre la concentración de pesticidas organoclorados bioacumulada y la cantidad de grasa en el pescado; por ello se observó un incremento en la bioacumulación de DDT en todos los órganos entre Octubre y Noviembre (Fig. 2). Esto se asocia al fenómeno que ocurre posterior al desove, en que *C. carpio* tiene un incremento en la cantidad de grasa, alcanzando su nivel máximo en Noviembre. También es posible que esté asociado con la entrada del invierno, época en que disminuye la temperatura del lago y *C. carpio* necesita de mayores niveles de energía para mantener su temperatura corporal, acumulando mayores cantidades de grasa.

Borresen (1992) afirmó que los organoclorados son afines a las sustancias de carácter lipofílico, lo que explica que de Marzo a Abril exista una disminución progresiva en la concentración de DDT. Estos meses coinciden con el periodo de desove y el *C. carpio* tiene una disminución del contenido de lípidos (Borresen, 1992). Se puede resaltar que el nivel más alto de DDT se detectó en piel, que presenta un alto contenido de grasa en Noviembre. El nivel mínimo de DDT fue detectado en músculo en el mes de Abril,

Tabla 3. Niveles promedio de DDT (mg kg^{-1}) detectados en *Cyprinus carpio* del lago de Tecocomulco, Hidalgo (desviación estándar; $n = 5$).

DDT	Músculo	Vísceras	Piel	Branquias	Hueso
Oct-2006	1,77(0,03)	2,00(0,00)	2,16(0,03)	1,90(0,02)	1,81(0,00)
Nov-2006	1,82(0,03)	2,20(0,11)	2,33(0,01)	2,19(0,03)	1,91(0,01)
Mar-2007	1,80(0,02)	1,91(0,02)	2,05(0,07)	ND	ND
Abr-2007	1,75(0,11)	1,76(0,03)	2,02(0,03)	ND	ND

Tabla 4. Niveles promedio de DDE (mg kg^{-1}) detectados en *Cyprinus carpio* de Tecocomulco, Hidalgo (desviación estándar; $n = 5$).

DDE	Músculo	Vísceras	Piel	Branquias	Hueso
Oct-2006	0,24(0,02)	1,26(0,02)	1,60(0,03)	0,28(0,01)	0,06(0,00)
Nov-2006	0,46(0,00)	1,29(0,01)	2,00(0,02)	0,51(0,03)	0,30(0,00)
Mar-2007	0,16(0,02)	0,96(0,11)	1,40(0,03)	0,22(0,03)	0,10(0,01)
Abr-2007	0,13(0,03)	0,73(0,15)	1,26(0,03)	0,15(0,01)	0,05(0,03)

Tabla 5. Niveles promedio de Aldrín (mg kg^{-1}) detectados en *Cyprinus carpio* del lago de Tecocomulco, Hidalgo (desviación estándar; $n = 5$).

Aldrín	Músculo	Vísceras	Piel	Branquias	Hueso
Oct-2006	0,53(0,04)	1,11(0,01)	1,40(0,03)	0,77(0,03)	0,48(0,00)
Nov-2006	0,64(0,01)	1,66(0,00)	1,86(0,03)	1,56(0,04)	1,00(0,03)
Mar-2007	0,60(0,02)	1,00(0,01)	1,60(0,03)	0,56(0,02)	0,53(0,03)
Abr-2007	0,52(0,02)	0,98(0,03)	1,35(0,03)	0,50(0,01)	0,47(0,00)

coincidiendo con que el músculo presenta su mínima cantidad de grasa en dicho mes. Todas las concentraciones de DDT encontradas en *C. carpio* están dentro del límite permisible indicado en la Norma Oficial Mexicana (NOM-004-ZOO-2001), que indica como límite máximo permisible de DDT

hasta 5 mg kg⁻¹. Esto es significativo por cuanto este compuesto bioacumulable debe ser monitoreado de manera permanente antes de que se comercialicen los pescados y lleguen a la cadena alimentaria.

Eaton y Lydy (2000) detectaron valores de hasta 1,59 mg kg⁻¹ de DDT en músculo de la *C. carpio* capturadas en el río Arkansas, en el Estado de Kansas (USA), valores que están por debajo de los niveles hallados en este estudio; sin embargo estos autores indican que, aunque no son críticas estas concentraciones, debe ser controlado el proceso de comercialización del pescado. El contenido medio de DDT en general para todas las muestras evaluadas entre Marzo y Abril fue de 1,12 ± 0,03 mg kg⁻¹ (CV= 2,88 %), en Octubre y Noviembre fue de 2,00 ± 0,11 mg kg⁻¹ (CV= 5,70 %). Estos resultados demuestran que existe una bioacumulación de pesticidas mayor en la época posterior al desove que durante el desove.

El DDE (Tabla 4) es un metabolito derivado del DDT que también apareció en los 4 meses del estudio, aunque en menores cantidades que el DDT. Como se observa en Noviembre la concentración de DDE en todas las partes de *C. carpio* fue mayor que en los otros meses. De Marzo a Abril hubo una disminución progresiva en la concentración del mismo, coincidiendo el comportamiento del DDT por tratarse de un metabolito de éste.

La concentración máxima de DDE (2 mg kg⁻¹) se detectó en piel con un alto contenido de grasa y nuevamente en el mes de Noviembre. La concentración mínima (0,05 mg kg⁻¹) se detectó en hueso en Abril. El hueso es la parte de *C. carpio* en donde se encuentra una mínima cantidad de grasa. Esto se corresponde con lo discutido anteriormente sobre el DDT. De Octubre a Noviembre hay un incremento en la bioacumulación de DDE asociado al período posterior al desove, referido a un incremento en la cantidad de grasa, alcanzando su máximo en Noviembre.

También se manifiesta que todas las concentraciones de DDE encontradas en *C. carpio* están dentro del límite permisible indicado en la NOM (<5 mg kg⁻¹). El músculo y la piel, partes comestibles de *C. carpio*, presentan una concentración media de 0,24 y 1,56 mg kg⁻¹, estando éstas, igualmente, dentro del límite que indica la NOM, pero que deberán ser monitoreadas antes de la comercialización de los pescados.

Moriarty (1972) apuntó que la distribución de los valores de contaminantes no se suele distribuir alrededor de la media, es decir, no suelen seguir una distribución normal y en caso de los organoclorados la mayor variación entre los valores se observa entre las muestras de diferentes individuos aunque pertenezca a la misma población; este autor comenta que es muy común que estudios con individuos del mismo tamaño, peso y sexo, recogidos incluso en la misma época del año, muestren porcentajes de desviaciones estándar relativas, entre el 30 y 40 % de la media; esto coincide con reportes de otros autores (Ketchum *et al.*, 1976 en Soler, 2002). Por ello en este estudio se encontraron para el DDE valores de coeficientes de

variabilidades (CV) más elevados. El contenido medio de DDE en *C. carpio* entre Octubre y Noviembre 2006 (posterior al desove) fue de $0,8 \pm 0,15$ mg kg⁻¹ (CV = 19,79 %). Para los meses de Marzo y Abril 2007 (época de desove) fue inferior y resultó de $0,51 \pm 0,07$ mg kg⁻¹ (CV = 14,25 %). Estos resultados corroboran nuevamente que existe una bioacumulación de pesticidas mayor en la época posterior al desove que durante el desove. Se corresponde igualmente con lo discutido para el pesticida DDT.

Casi todos los estudios indican que el DDT, el DDE y el DDD se absorben a través del agua por ingestión y absorción dérmica en los peces. Son pobremente metabolizados y el DDT se convierte en su mayoría a DDE. La conversión de DDT a DDE también es lenta, aunque depende más de las especies (Murty, 2000). Generalmente en muestras medio ambientales el DDE es el componente predominante del DDT. En un modelo de ecosistema el DDT se degrada la mayoría a DDE y muy poco a DDD. Esto no corresponde exactamente a lo señalado por Murty (2000) pues según este autor todo el DDT se convierte a DDE, pero sí está acorde cuando indica que esta conversión puede resultar lenta, dependiendo de la especie. Al parecer para *C. carpio* ocurre un proceso de metabolización y conversión del DDT a DDE de forma lenta.

El Aldrín fue encontrado en todos los meses del estudio y en todas las partes de *C. carpio* (Tabla 5). En Noviembre, la concentración de Aldrín en todas las partes fue mayor que en octubre; de Marzo a Abril hubo igualmente una disminución ligera, la misma tendencia discutida para los dos pesticidas anteriores. La concentración máxima de Aldrín (1,86 mg kg⁻¹), se detectó en piel (Noviembre) y la mínima (0,47 mg kg⁻¹) en hueso (Abril). Los resultados, al igual que los anteriores, confirman la relación entre concentración de pesticidas organoclorados y cantidad de grasa.

Es importante destacar que ninguna de las concentraciones de Aldrín encontradas en *C. carpio* están dentro del límite permisible indicado en la NOM, donde se indica un límite máximo de 0,3 mg kg⁻¹. Los valores de Aldrín encontrados variaron entre 0,47 y 1,86 mg kg⁻¹. El valor promedio máximo excede al establecido por la NOM en 2,5 veces, en tanto el mínimo excede en 1,3 veces. Los coeficientes de variación (CV) oscilaron entre 8,19 % y 31,21 %. Los valores promedios, aunque con una variabilidad relativamente alta de resultados, indican de que exceden los valores recomendables están asociados a la variabilidad en la cantidad de grasa que presenta *C. carpio* en los distintos meses, debido a diversos factores como pueden ser el desove y a la presencia de lluvia en Marzo y Abril 2007.

Desde 1950 hasta 1970 el Aldrín fue uno de los pesticidas más usados para el maíz y el algodón pero, como consecuencia del daño que causa al medio ambiente y a la salud humana, la Agencia de Protección Ambiental (EPA) prohibió el uso total en 1987. En México la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), en

Septiembre de 1968, dio a conocer la base legal de las restricciones para el uso, registro y autorización de productos fitosanitarios, prohibiendo el uso de Aldrín en campos naturales y praderas implantadas y/o cultivadas. Sin embargo, aunque han transcurrido cerca de 40 años desde esta restricción y aunque es conocido su posible persistencia en sistemas acuáticos aún se detectan concentraciones muy apreciables de este pesticida.

El Dieldrín, epóxido del Aldrín, fue detectado también en los 4 meses del estudio en músculo, vísceras y piel. Como se puede observar en la Tabla 6 en branquias sólo fue detectado en Octubre, Noviembre y Marzo. En hueso el Dieldrín no fue detectado en ninguno de los meses. Las concentraciones encontradas de dicho pesticida son bajas comparadas con las encontradas de DDT y DDE, pero similares a las de Aldrín. La concentración máxima de Dieldrín ($1,6 \text{ mg kg}^{-1}$) se detectó igualmente en piel, con un alto contenido de grasa en el mes de Noviembre, y la concentración mínima ($0,6 \text{ mg kg}^{-1}$) se detectó en músculo en el mes de Marzo.

En la Tabla 6 se aprecia que de Octubre a Noviembre hay un incremento en la concentración de Dieldrín, meses en que se presentan los más altos niveles lipídicos, debido al periodo posterior al desove o a la temporada de invierno. De forma similar al Aldrín ninguna de las concentraciones de Dieldrín encontradas en *C. carpio* están dentro del límite permisible indicado en la NOM, que al igual que para el Aldrín indica un límite máximo de $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$. Los valores variaron de $0,6$ - $1,60 \text{ mg kg}^{-1}$ (de 2 a 5 veces por encima del valor máximo). El contenido medio de Dieldrín entre octubre y noviembre 2006 fue de $0,86 \pm 0,07 \text{ mg kg}^{-1}$ (CV=9,20%), en tanto entre marzo y abril 2007 fue ligeramente menor, $0,52 \pm 0,26 \text{ mg kg}^{-1}$ (CV=21,95 %). Igualmente estos resultados demuestran la bioacumulación de Dieldrín mayor en los meses en que *C. carpio* tiene un mayor contenido lipídico. Desde 1950 a 1970 el Dieldrín al igual que el Aldrín fueron unos de los pesticidas más usados y la EPA prohibió su uso en 1987.

Tabla 6. Niveles promedio de Endrín (mg kg^{-1}) detectados en *Cyprinus carpio* del lago de Tecocomulco, Hidalgo (desviación estándar; n=5).

Dieldrín	Músculo	Vísceras	Piel	Branquias	Hueso
Oct-2006	0,62(0,00)	1,30(0,01)	1,40(0,01)	0,70(0,03)	ND
Nov-2006	0,70(0,02)	1,40(0,03)	1,60(0,00)	0,88(0,03)	ND
Mar-2007	0,60(0,02)	1,06(0,03)	1,20(0,01)	0,69(0,03)	ND
Abr-2007	0,00(0,00)	0,80(0,02)	0,91(0,03)	ND	ND

ND: No Detectado.

Debe señalarse que se sabe que el Dieldrín es uno de los pesticidas más persistentes que se conocen y sólo con tratamientos a base de ácidos fuertes y a largos periodos de exposiciones a luz ultravioleta se puede descomponer (FAO, 1983). Esto permite pensar que este pesticida organoclorado se pudo haber utilizado hace mucho más de 10 años y sigue presente en el ambiente. Cuando el Aldrín y el Dieldrín entran en el medio ambiente, la luz solar, las bacterias, las plantas y los animales los transforman se degradan muy lentamente en el medio ambiente o se almacenan en las grasas de donde puede producirse su eliminación de manera muy lenta <<http://www.hhs.gov/>>; consultado en Octubre 2006).

La Tabla 7 muestra los resultados promedios de las concentraciones bioacumuladas de Endrín en *C. carpio*. El Endrín igualmente se detectó en todas las partes de *C. carpio* excepto en el hueso en los 4 meses (caso similar al dieldrín). Para este pesticida todas las concentraciones en todas las partes evaluadas de *C. carpio* se encuentran dentro del límite permisible indicado en la NOM (<0,3 mg kg⁻¹). De todas las partes de *C. carpio* los niveles más bajos de Endrín se presentaron en el músculo, disminuyendo éste su concentración en Marzo, llegando a los niveles más bajos en el mes de Abril.

La concentración máxima de Endrín (0,3 mg kg⁻¹) se detectó en piel, que presenta el más alto contenido de grasa en el mes de Noviembre. La concentración mínima (0,08 mg kg⁻¹) se encontró en músculo en Abril. Esto ratifica de nuevo la relación directa entre la concentración de pesticidas organoclorados y el contenido lipídico. Hay un incremento en la bioacumulación de Endrín, así como también ocurrió con los otros pesticidas evaluados (DDT, DDE y Aldrín). Estos incrementos se corresponden con el incremento en la cantidad de grasa en *C. carpio*, con su nivel máximo en Noviembre.

Los órganos en que se encontraron los niveles más altos de Endrín fueron piel y vísceras; estas últimas no son parte comestible pero la piel si lo es. El músculo y la piel presentaron una concentración media que varió de 0,14 y 0,22 mg kg⁻¹ de este pesticida, valores que se encuentran dentro del límite permisible indicado en la Norma. El contenido medio de Endrín en *C. carpio* entre Octubre y Noviembre 2006 fue de 0,17 ± 0,02 mg kg⁻¹ (CV=12,85 %) y entre marzo y abril 2007 de 0,12 ± 0,02 mg kg⁻¹ (CV=19,54 %). Coincide con lo reportado por Weatherly y Gill (1987) que indican que *C. carpio*, debido al aumento del tamaño de las gónadas, su carácter lipofílico, los compuestos organoclorados (que en este estado fisiológico se introducen en el organismo), suelen acumularse en mayor proporción. Sin embargo, el desove, como procedimiento natural, ayuda a la eliminación de estos residuos. Algunos estudios estiman que el Endrín perdura en suelo hasta 10 años y que puede transformarse en aldehído y cetoaldrín como resultado de la exposición a altas temperaturas y a la luz (AEP, 1983; EPA, 1990; Mc Donald *et al.*, 1999; <<http://www.hhs.gov/>>;

consultado en Octubre 2006). Como se observa en la Tabla 8 los niveles de Endrín aldehído aparecieron en el mes de Octubre solo en vísceras y piel. En Noviembre fue detectado en el músculo, vísceras, branquias y piel. En Marzo sólo fue detectado en las vísceras, al igual que en el mes de Abril. Esto indica que la presencia de este pesticida organoclorado se encuentra en muy bajas concentraciones en las aguas, quizás no detectable (ND), pero sin embargo sí bioacumulables por *C. carpio*.

La bioacumulación de Endrín aldehído está relacionada con el contenido lipídico, al igual que el DDT, DDE, Aldrín y Endrín. La mayor concentración de éste ($0,8 \text{ mg kg}^{-1}$) se encontró en piel, la menor concentración ($0,1 \text{ mg kg}^{-1}$) en el músculo. También se observa que de Octubre a Noviembre hay un incremento en la bioacumulación de Endrín aldehído, coincidiendo así con el aumento del contenido de grasa en *C. carpio* en dichos meses.

Resultados similares fueron reportados por Weatherly y Gill (1987). El Endrín aldehído se detectó en vísceras todos los meses. Esto puede deberse a que *C. carpio* lleva una vida libre, se alimenta del sedimento, plantas y restos de animales los cuales pudieron estar contaminados de pesticidas. Al ser consumidos por *C. carpio* tienen contacto directo con las vísceras. La migración de dichos compuestos a otras partes u órganos de *C. carpio* toma tiempo y, mientras tanto, éstos permanecen en las vísceras. No existe en la NOM parámetro alguno que indique los límites máximos permisibles para el Endrín aldehído, por lo cual no es posible catalogarlo en este sentido.

Normalmente el Endosulfán es un pesticida que se elimina con relativa facilidad en unas pocas semanas; también puede ser que se una fuertemente a las partículas sólidas que pueden conformar los sedimentos en lagos, depositados en los fondos o en estado suspendido. En estas condiciones es posible predecir que tarde años en destruirse y/o biodegradarse del todo, razón por la cual puede persistir en el medio acuoso (<<http://www.hhs.gov/>>; consultado en Octubre 2006). También es conocido que el Endosulfán no se disuelve

Tabla 7. Niveles promedio de Endrín (mg kg^{-1}) detectados en *Cyprinus carpio* del lago de Tecocomulco, Hidalgo (desviación estándar; n=5).

Endrín	Músculo	Vísceras	Piel	Branquias	Hueso
Oct-2006	0,15(0,02)	0,24(0,00)	0,25(0,03)	0,16(0,00)	ND
Nov-2006	0,19(0,01)	0,26(0,02)	0,30(0,01)	0,21(0,04)	ND
Mar-2007	0,16(0,02)	0,18(0,01)	0,19(0,01)	0,17(0,00)	ND
Abr-2007	0,08(0,02)	0,15(0,03)	0,17(0,00)	0,13(0,03)	ND

ND: No Detectado.

Tabla 8. Niveles promedio de Endrín aldehído (mg kg^{-1}) detectados en *Cyprinus carpio* del lago de Tecocomulco, Hidalgo (desviación estándar; $n=5$).

Endrín aldehído	Músculo	Vísceras	Piel	Branquias	Hueso
Oct-2006	ND	0,40(0,01)	0,60(0,01)	ND	ND
Nov-2006	0,11(0,00)	0,70(0,03)	0,80(0,01)	0,30(0,02)	ND
Mar-2007	ND	0,60(0,02)	ND	ND	ND
Abr-2007	ND	0,20(0,01)	ND	ND	ND

ND: No Detectado.

bien en agua, por lo que en el medio acuático se une a las partículas de sólidos disueltas o en los sedimentos. En mamíferos que pueden ingerir aguas contaminadas con este pesticida o en las partículas suspendidas en las aguas se transforma en endosulfán-diol (endosulfán 2), de baja toxicidad y, en parte, también se forma sulfato de toxicidad similar a la del endosulfán (Barberá, 1989). Así mismo se ha demostrado un cierto poder de biomagnificación de este pesticida en algunos animales.

La concentración media de Endosulfán 2 en *C. carpio* en Marzo y Abril 2007 fue de $0,18 \pm 0,01 \text{ mg kg}^{-1}$. En Octubre y Noviembre (2006) fue de $0,53 \pm 0,09 \text{ mg kg}^{-1}$. Como se puede observar en la Tabla 9 en Octubre se detectó Endosulfán 2 en todas las partes de *C. carpio*, excepto en el hueso. En el mes de Noviembre se detectó en músculo, vísceras y piel, en tanto que en Marzo y Abril solo fue detectado en las vísceras. El endosulfán no es la excepción, por ello se puede observar que los niveles de Endosulfán 2 son mayores en las partes u órganos de *C. carpio* que tienen un mayor contenido lipídico. También se observa que el Endosulfán 2 está presente en los cuatro meses de estudio en las vísceras. Esto puede indicar una contaminación de *C. carpio* reciente por dicho compuesto. La migración de dichos compuestos de las vísceras a otras partes de *C. carpio* toma tiempo.

Es de destacar que la concentración de Endosulfán 2 en vísceras, piel y branquias no se encontró dentro del límite permisible indicado en la NOM, cuyo máximo es de $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$. En este estudio el valor máximo encontrado fue de $0,8 \text{ mg kg}^{-1}$ en piel, en el mes de noviembre (cuatro veces superior). En el músculo en los dos meses en que se detectó Endosulfán 2 se encontró dentro del límite máximo permisible. Es importante recordar que las branquias y las vísceras no son parte comestible de *C. carpio*, pero la piel y el músculo sí lo son y constituyen por tanto los órganos que en este estudio toman mayor importancia. El músculo presenta niveles de Endosulfán 2

Tabla 9. Niveles promedio de Endosulfán (mg kg⁻¹) detectados en *Cyprinus carpio* del lago de Tecocomulco, Hidalgo (desviación estándar; n=5).

Endosulfán 2	Músculo	Vísceras	Piel	Branquias	Hueso
Oct-2006	0,08(0,01)	0,50(0,02)	0,62(0,03)	ND	ND
Nov-2006	0,13(0,02)	0,60(0,01)	0,80(0,01)	0,40(0,03)	ND
Mar-2007	ND	0,30(0,0)	ND	ND	ND
Abr-2007	ND	0,20(0,0)	ND	ND	ND

ND: No Detectado.

permitidos por la NOM, pero la piel presenta 4 veces más de lo que indica dicha norma. Esto puede acarrear de alguna manera, efectos de toxicidad.

El Endosulfán 2 es ingerido por los herbívoros o penetra directamente a través de la piel de organismos acuáticos como los peces y diversos invertebrados. Los pesticidas se concentran aún más al pasar de los herbívoros a los carnívoros. Alcanzan elevadas concentraciones en los tejidos de los animales que ocupan los eslabones más altos de la cadena alimentaria, como el halcón peregrino, el águila calva y el quebrantahuesos (Wayland *et al.*, 1991).

Los compuestos organoclorados generalmente interfieren en el metabolismo del Ca de las aves, produciendo un adelgazamiento de la cáscara de los huevos y el consiguiente fracaso reproductivo. Como resultado de ello algunas grandes aves depredadoras y piscívoras se encuentran al borde de la extinción (Cecil *et al.*, 1972; Haegele *et Hudson*, 1974 y Wiemeyer *et al.*, 1984). Estos autores detectaron niveles de Endosulfán en 5 ng g⁻¹ (5 mg kg⁻¹) en músculo de *C. carpio* y la tenca (*Tinca tinca*) capturadas en los ríos del sur de Italia.

CONCLUSIONES

Los organoclorados tienden a bioacumularse en las partes de *C. carpio* con alto contenido lipídico. Se encontró la mayor concentración de pesticidas organoclorados en piel, vísceras y branquias del *C. carpio*. La concentración de organoclorados en todas las partes del pescado fue menor en el período Marzo-Abril que en Octubre-Noviembre, lo cual se debe en lo fundamental a que durante el desove su alimentación es más restringida y con ello producen menores cantidades de lípidos. El Endrín aldehído y Endosulfán 2 son organoclorados que se detectaron en los 4 meses de estudio. Cuando se detectan pesticidas organoclorados sólo en las vísceras durante Octubre-Noviembre y Marzo-Abril es señal de una contaminación reciente.

Los organoclorados encontrados en *C. carpio* que están muy por debajo del límite permisible indicado en la Norma Oficial Mexicana fueron Endrín y Endosulfán 2 (en músculo y piel), pero ello no indica de que no exista contaminación, por lo que deberán ser monitoreados sistemáticamente. Están por encima del límite permisible el Aldrín, Dieldrín y Endosulfán 2 (en vísceras, piel y branquias) lo cual debe considerarse como una limitante para su comercialización. Por primera vez se reporta la determinación de pesticidas organoclorados en *Cyprinus carpio* en el lago de Tecocomulco de Hidalgo (México).

Agradecimientos: Los autores agradecen el financiamiento al macroproyecto "Helmintos parásitos de los vertebrados y calidad ambiental del Lago Tecocomulco, Hidalgo, México" del Fondo mixto del Consejo de Ciencia y Tecnología y el Gobierno del Estado de Hidalgo, México (clave: FOMIX-HGO-2005- C01-1). Así mismo, J. Aguilar Martínez agradece al fondo la beca concedida para su trabajo de Tesis.

BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez D. y Cruz M. 1989. Contaminación agraria difusa. En: Arellano A.M. (ed.) *Unidades Temáticas Ambientales de la Secretaría General del Medio Ambiente*, MOPU, Centro de publicación, TASGMA, México. Pp: 20-52.
- Anuario Estadístico de la Producción (AEP). 1983. Agropecuaria. Documento técnico de pesca, n° 212, parte 9. Ciudad Lerdo, Durango (México).
- AOAC. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist*. 1995. Volumen I. Kenneth Herlich (ed.). Pp.: 78-79, 237, 247, 272.
- Atisook R., Kham N., Toongsuwan S. y Punnakanta L. 1995. Organochlorine compounds in perinatal blood samples maternal and neonatal measurements at Sirijat Hospital. Sirijat. *Hospital Gazette*, 47: 8 712.717. Bangkok. Tailandia.
- Barberá C. 1989. Pesticidas agrícolas. 4ª ed. Ediciones Omega, Barcelona.
- Borresen T. 1992. Quality aspects of wild and reared fish. En: H.H. Huss, M. Jacobsen y J. Liston (eds.) *Quality Assurance in the Fish Industry*. Proceedings of an International Conference, Copenhagen, Dinamarca. Elsevier, Amsterdam. Pp.: 1-17.
- Cecil H.C.; Fries G.F.; Bitman J.; Harris S.J.; Lillie R.J. y Denton C.A. 1972. Dietary p,p'-DDT, o,p'-DDT or p,p'-DDE and changes in egg shell characteristics and pesticides accumulation in egg contents and body fat of caged white leghorns. *Poultry Sci.*, 51: 130-139.
- CNA, 2002. Comisión Nacional del Agua del Estado de Hidalgo, Subdirección General Técnica, Gerencia de Aguas Subterráneas, Subgerencia de Evaluación y Modelación Hidrogeológica, *Determinación de la disponibilidad de agua en el acuífero Tecocomulco, Estado de Hidalgo*. CNA, México D.F.
- Diario Oficial de la Federación, 2000. Carta Nacional Pesquera. Tomo DLXIII, Número 20,28. México D.F.
- Diario Oficial de la Federación, 2001a. Carta Nacional Pesquera. Tomo DLXII, Número 20,27. México D.F.

- Diario Oficial de la Federación, 2001b. Norma Oficial Mexicana NOM-004-ZOO-2001. Establece el control de residuos tóxicos en grasa, hígado, músculo y riñón en aves, bovino, caprino, cérvido, equino, ovino y porcino, los límites máximos permisibles y los procedimientos de muestreo. México D.F.
- Dimond J.B.; Getchell A.S. y Blease J.A. 1971. Accumulation and Persistence of DDT in a Lotic Ecosystem. *J. Fish Res. Board. Canada*, 28: 1877-1882.
- Dua V.K., Pant C.S. y Sharma V.P. 1996. Determination of level of HCH and DDT in soil, water, and whole blood from bioenvironmental and insecticide sprayed areas of malaria control. *Indian Journal of Malariology*, 33: 1 7-15.
- Eaton H.J. y Lydy M.J. 2000. Assessment of water quality in Wichita, Kansas, using an index of biotic integrity and analysis of bed sediment and fish tissue for organochlorine insecticides. *Arch. Envirion. Contam. Toxicol.*, 39:531-540.
- Environmental Protection Agency (EPA)*. 1990. Method 3540B. Soxhlet Extracción. Revisión 2. November. Pp. 1-8. SAGARPA. 2005. México D.F.
- F.A.O. (1983). Análisis de presencia de metales y organoclorados en peces. Manual de métodos de investigación del medioambiente acuático. FAO, México. 212: 203-211.
- Fernández M.C.; Rico M.C.; Gonzales M.J.; Hernández L.M. y Baluja G. 1984. Contaminación organoclorada y metálica en organismos acuáticos del Parque Nacional de Doñana. *Rev. Agroquími. Technol. Aliment.*, 21: 94-98.
- FIRCO, 1992. Tomo 1. Fideicomiso de Riesgo Compartido. Ordenación de la cuenca de Tecocomulco. Pachuca, Hidalgo. Pp.: 10-13.
- Garrido Lestache R. y Garrido Lestache M.E. 1988. *Toxicología de pesticidas*. Ed, Garrido-Lestache, México. Pp.: 192-193.
- Haegle M.A. y Hudson R.H. 1974. Eggshell thinning and residues in mallards one year after DDE exposure. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 2: 350-356.
- Huss H.H. 1998. Fresh fish quality and quality changes. FAO fisheries Series N° 29. Kayak A. y Schwall D. (eds.). Food and Agricultural Organization, Roma. Pp.: 54-72.
- INEGI, 1992. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. México D.F. P.: 21.
- Ketchum B.H.; Zitko V. y Saward D. 1976. *Aspects of heavy metal and organohologen pollution*. CRC Press, Boca Ratón, Florida, USA. Pp.: 72-74.
- Lledos J.R.; Morell M.A. y Sánchez J. 1992. Distribución de los microcontaminantes orgánicos en un ecosistema fluvial. Significación de los sistemas de impacto. Medioambiente-RETAMA, Septiembre-Octubre, 65-70.
- López J.M.; Ruíz, J. y Borrell, A. 1995. Levels of organochlorine compounds in freshwater fish from Catalonia, N.E. Spain. *Chemosphere*, 31: 3523-3535.
- Love R.M. 1970. *The Chemical Biology of Fishes*. Academic Press, Londres.
- Masson C. 1993. *Enciclopedia práctica de peces y acuarios*. Ediciones Martínez Roca, México. Pp.: 51-52.
- McDonald L.; Seyed Jebellie J.; Chandra A.; Mootoo M. y Georges T. 1999. Pesticide mobility on a hillside soil in st. Lucia. *Agriculture Ecosystems and Environment.*, 72: 181-188.
- Matsumura F. 1985. *Toxicology of Pesticides*, 2ª ed., Plenum Press, New York. Pp.: 99.

- Moriarty F. 1972. The effect of pesticides on wildlife: exposure and residues. *Sci. Total Environ.*, 1: 262-267.
- Murty A.S. 2000. *Toxicity of Pesticides to Fish*, vol I. CRC Press, Boca Raton, Florida. Pp.: 85-86.
- Norma Oficial Mexicana NOM-028-ZOO-1995. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural (1996). Determinación de residuos de plaguicidas, en hígado y músculo de bovinos, equinos, porcinos, ovinos, caprinos, cérvidos y aves, por cromatografía de gases. México D.F. Pp.: 20-21.
- Raldúa D. 1995. Estudio de la contaminación por plaguicidas organoclorados y mercurio en la ictiofauna de los ríos altoaragoneses Gállego y Cinca. Tesis doctoral. Universidad de Extremadura, Badajoz (España). Pp.: 135-137.
- Reinitz G.L. 1983. Relative effect of age, diet, and feeding rate on the body composition of young rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 35: 19-27.
- Risso S.; Fernández S.; Ureta D.; Cordoba O.; Balzaretto V. y Sánchez E. 2000. Estudio de la Composición de la Carne de Palometa. *La Industria Cárnica Latinoamericana*, 118, 40-45.
- Saiki M.K. y Schmitt C.J. 1986. Organochlorine chemical residues in bluegills and common carp from irrigated San Joaquin Valley Floor, California. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 15: 357-366.
- SEMARNAP, 1997. Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca. Diagnóstico sobre la problemática del Lago de Tecocomulco, Delegación Federal de Hidalgo. Subdelegación de Recursos Naturales. Pachuca, Hidalgo. Pp.: 18-19.
- SEMARNAP, 2001. Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca. Programa Integral de Protección, Conservación, Restauración y Aprovechamiento de la Cuenca de Tecocomulco, Hidalgo, Delegación Federal de Hidalgo. Subdelegación de Recursos Naturales. Pachuca, Hidalgo. Pp.: 30-31.
- Smith A.G. 1991. Handbook of pesticide Toxicology. Academic Press, New York. Pp.: 731-868.
- Soler R.F. 2002. Estado actual de la contaminación por metales pesados y pesticidas organoclorados en el parque natural de Monfragüe. Universidad de Extremadura (España). Pp.: 13-94.
- Waliszewski S.M.; Pardio S.; Chantiri P. y Aguirre G. 1996. Organochlorine pesticide body burnen of young Mexican. *Fresenius Enviromental Bulletin*, 5: 357-360.
- Wayland J.; Hayes Jr.; Eduard R. y Laws R. 1991. Handbook of pesticides toxicology. Vol. I. General Principles. Academic Press. New York. Pp.: 210-215.
- Weatherly A.H. y Gill H.S. 1987. Tissues and Growth. The Biology of fish Growth. Academic Press, Harcourt Brace Jovanovich, New York. Pp.: 147-173.
- Wiemeyer S.N.; Lamont T.G.; Bunck C.M.; Sindelar C.R.; Grandich F.J.; Fraser D.J. y Byrd M.A 1984. Organochlorine pesticide, polychlorobiphenyl, and mercury residues in bald eagle eggs, 1969-79, and their relationships to shell thinning and reproduction. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 20: 13-22.

Paginas de Internet consultadas:

- <<http://filaman.ifm-geomar.de/search.php>>; consultado en Octubre 2007.
- <<http://www.hhs.gov/>>; consultado en Octubre 2006.

COMPOSICIÓN Y ORIGEN DE LOS HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS (PAHs) DETECTADOS EN EL ESTUARIO INDUSTRIALIZADO DE BAHIA BLANCA (ARGENTINA)

Andrés Arias^{1, 4}, Jorge Marcovecchio^{1, 2, 3} y Hugo Freije⁴

¹ Instituto Argentino de Oceanografía (IADO), CCT, CONICET, Bahía Blanca, C.C.Nº 804 Rep. Argentina. Tel/Fax: +054-0291-486-1112/1519. ² Universidad Tecnológica Nacional (UTN)-FRBB, Bahía Blanca (Argentina). ³ Universidad FASTA, Mar del Plata (Argentina). ⁴ Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca (Argentina). E-mail: <aharias@criba.edu.ar>, <jorgemar@criba.edu.ar>.

Resumen: A partir de los primeros descubrimientos sobre el potencial carcinogénico de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) en jóvenes deshollinadores del año 1775, así como en trabajadores del alquitrán de fines del siglo XIX, la cantidad de información toxicológica disponible ha crecido exponencialmente y, con ella, el interés en la determinación de PAHs en el ambiente y la evaluación de sus riesgos potenciales a la salud humana. Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAHs, del inglés, *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*) se presentan en ambientes como mezclas complejas, las cuales frecuentemente incluyen una serie de compuestos con gran actividad mutagénica y carcinogénica. Estos compuestos, de 2 a 6 anillos fusionados y pesos moleculares de 128 a 278 g mol⁻¹, son (en conjunto) moderada a altamente lipofílicos, químicamente estables y, por ello, incluidos dentro del grupo de los compuestos orgánicos persistentes. Existe gran interés acerca del comportamiento y destino de los PAHs en el medioambiente, en particular en sistemas costeros antropizados, altamente industrializados. El objetivo de este trabajo fue, en principio, desarrollar un protocolo de análisis para caracterizar la composición y fuentes de los PAHs contaminantes en ambiente reales y, al mismo tiempo, generar información de base para el área en estudio, para la cual no existen estudios previos de estos contaminantes, utilizando como caso de estudio un área densamente industrializada del estuario de Bahía Blanca (Argentina). Este último está ubicado entre los 38° 45' y 39° 25' de Latitud S y los 61° 45' y 62° 25' de Longitud O, en el litoral sudoccidental de la Provincia de Buenos Aires. Desde el punto de vista de la presión antrópica sobre el sistema, en la zona interna y sobre el veril Norte del estuario, se ubican varios puertos (Pto. Ing. White, Pto. Galván, Pto. Belgrano), ciudades (Bahía Blanca, Punta Alta y Gral. Cerri) que suman más de 350.000 habitantes y uno de los complejos industriales más grandes de Sudamérica (refinerías, terminal de *cracking* de componentes del gas de petróleo, planta de fertilizantes, complejos cerealeros, etc.), los cuales en conjunto determinan una incipiente problemática ambiental en torno a la acumulación de compuestos orgánicos persistentes. 16 PAHs (considerados prioritarios por la US-EPA) se analizan mediante Cromatografía Capilar gaseosa/Espectrometría de masas siguiendo protocolos analíticos normalizados. Se consideró amplio rango de concentraciones totales de PAHs con niveles en la zona de estudio

desde moderados a altos hasta zonas puntuales severamente contaminadas, con un riesgo asociado de daño inminente a los organismos de ese hábitat. Se demostró un papel regulador de las concentraciones de PAHs por el contenido de carbono orgánico en sedimentos, especialmente en sitios con altos niveles de contaminación ($>2000 \text{ ng g}^{-1}$ PAHs totales). La uniformidad en las abundancias de los distintos grupos moleculares de PAHs sugirió la existencia de un grupo relativamente uniforme de fuentes emisoras y la dominancia de compuestos de más de dos anillos estructurales tipificó las mismas como pirolíticas. Estos resultados fueron confirmados mediante la aplicación de un estudio de índices moleculares y técnicas estadísticas (Análisis de Componentes Principales, Regresión Lineal Múltiple).

Palabras clave: Contaminantes orgánicos persistentes, sedimentos, componentes principales, regresión lineal múltiple.

Composition and sources of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) detected over an industrialized coastal area in Bahía Blanca Estuary (Argentina)

Abstract: Since first findings on Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) toxicity on young chimney sweepers at 1775 and tar workers at the XIX century ending, the amount of toxicology information and so as the public interest on environmental and public health PAHs evaluation had increased in an exponential way. PAHs generally occur in complex mixtures on environmental samples, including mutagenic and carcinogenic compounds. These PAHs structure is made of two to six aromatic fused rings, weighing from 128 to 278 g mol^{-1} . They are moderately to extremely lipophylic and stable, as a result they are included between the group of persistent organic pollutants (POPs). The scientific interest on environmental PAHs behaviour is stepping rapidly, in particular over heavy industrialized areas. The scope of this study was to develop a protocol to fully assess the composition and sources of PAHs in environmental soil/sediment samples simultaneously, generating baseline information for the study area, for which there are no previous records. The case study of this work was: Bahía Blanca estuary, Argentina. This estuary is located at 38° 45' S and 62° 45' W; it has a total surface of 2300 km^2 , of which about 410 km^2 of islands and 1150 km^2 of intertidal sector. It is a mesotidal system with very little fluvial input covered by extensive tidal flats and salt marshes. From an environmental impact point of view, the study area presents an intensive anthropogenic activity at the north shoreline: oil, chemical and plastic factories, two commercial harbours and a big industrial city with more of 350000 inhabitants, thus, defining a POPs pollution state concern over the area. A total of 16 USE-PA priority pollutants PAHs were analyzed by means of Gas Chromatography-Mass Spectrometry, following standardized analytical protocols. A wide range of Total PAHs concentrations were found at the estuary, ranging from moderate to heavily polluted zones asso-

ciated with frequent damage to the surrounding biota. Also, a partition equilibrium driving role was outlined for the Total Organic Carbon content in highly contaminated sediments. The uniform abundance pattern of distinct molecular groups of PAHs suggested the occurrence of relative homogeneous PAHs sources over the area, which were classified as pyrolytic type considering ring number abundances and molecular indices. These results were confirmed by means of Principal Components Analysis plus Multiple Linear Regression methodologies.

Key words: Persistent organic pollutants, sediments, estuary, principal components, multiple linear regression.

INTRODUCCIÓN

Durante el transcurso del siglo XX se produjeron innumerables cambios en el ritmo de crecimiento y producción de la civilización humana. El desarrollo de la agricultura intensiva, la concentración a gran escala de las zonas urbanas y la creciente industrialización han contribuido a la contaminación global de los ecosistemas marinos. Las principales sustancias introducidas por las actividades del hombre incluyen compuestos organoclorados, derivados del petróleo y metales pesados (Fowler *et al.*, 1990; Honda *et al.*, 1990). La mayoría de estos compuestos muestran un comportamiento conservativo y muchos se destacan por su carácter permanente y su reconocida toxicidad (Richardson *et al.*, 1995); por ello comúnmente son incluidos dentro de la categoría de compuestos orgánicos persistentes (COPs).

Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (*PAHs*, del inglés, *Policyclic Aromatic Hydrocarbons*) son constituyentes naturales del petróleo crudo, conformando una fracción de hasta el 20 % del total de hidrocarburos. También resultan de los procesos de combustión incompleta a alta temperatura de diversos tipos de materia orgánica. Este grupo de compuestos, entre todos los hidrocarburos, es potencialmente el más tóxico (Neff *et al.*, 1990). En general, se presentan como mezclas complejas en diversos ambientes, muchos de ellos presentando gran actividad mutagénica y carcinogénica. Los *PAHs* que ingresan a los sistemas acuáticos por vía atmosférica se absorben rápidamente sobre la materia particulada. Su destino final estará determinado por numerosos procesos de partición y transporte subsiguientes. Como la afinidad de los *PAHs* sobre las fases orgánicas es mayor que sobre agua, los coeficientes de partición entre solventes orgánicos y agua son altos (p. e., K_{ow}). De acuerdo con ello, las afinidades por las fracciones orgánicas en sedimentos, suelos y organismos son también altas, siendo estas últimas sus principales matrices de destino en los ambientes. Las mediciones de *PAHs* adsorbidos sobre sedimentos no implican directamente su libre biodisponibilidad; los enfoques actuales en torno a su biodisponibilidad involucran mediciones de *PAHs* sobre el agua intersticial o bien sobre la fracción de carbono orgánico de desorción rápida y lineal de *PAHs* (Ten Hulscher

et al., 1997; Cornelissen *et al.*, 1998), ambas fuera del alcance de los objetivos de este trabajo. En orden a considerar la biodisponibilidad al estudiar las concentraciones es aconsejable contrastarla con niveles guía obtenidos a partir de ensayos de biotoxicidad; por ejemplo, aquellos desarrollados por Long *et al.* (1995).

A partir de los primeros descubrimientos sobre el potencial carcinogénico de los PAHs en jóvenes deshollinadores del año 1775, así como en trabajadores del alquitrán de finales del siglo XIX (Eisler *et al.*, 1987), la cantidad de información toxicológica disponible ha crecido exponencialmente y, con ella el interés en la determinación de PAHs en el ambiente y la evaluación de sus riesgos potenciales a la salud humana. Como resultado, a día de hoy, un grupo seleccionado de 16 PAHs ha sido definido como prioritario en torno a su inclusión en programas de monitoreo (Neff, 1979; Meador *et al.*, 1995; Neilson *et al.*, 1998) e incluido entre los 100 contaminantes prioritarios por la US-EPA.

El foco primario del presente estudio se centró sobre estos 16 PAHs prioritarios más un derivado metilado: Naftaleno (Na), 2-metil-Naftaleno (2-Me-Na), Acenaftileno (Ac), Acenafteno (Ace), Fenantreno (Phe), Antraceno (An), Fluoranteno (Flu), Py (Pireno), Benzo-a-antraceno (BaA), Criseno (Cr), Indenopireno (IP), Dibenzo-ah-antraceno (DBA), Benzo-ghi-perileno (BghiP).

Estos compuestos poseen de 2 a 6 anillos fusionados, y pesos moleculares de 128 a 278 g mol⁻¹. Sus valores de solubilidad fluctúan desde altamente insolubles (por ej.: Benzo-ghi-perileno, 0,003 mg L⁻¹) hasta escasamente solubles (por ej.: Naftaleno, 31 mg L⁻¹); de forma similar, las presiones de vapor varían en un rango que va desde alta volatilidad (Naftaleno) hasta relativamente no volátiles (Dibenzo-ah-antraceno). Estos compuestos son, en conjunto, moderada a altamente lipofílicos y los logaritmos de sus coeficientes de partición octanol-agua varían desde 3,37 hasta 6,75.

Existe un interés firmemente sostenido en la comunidad científica acerca del comportamiento y destino de los PAHs en el medioambiente, en particular en sistemas costeros antropizados, altamente industrializados. En forma global se observa una tendencia creciente en el número de publicaciones científicas asociadas, así como un incremento a partir del 2005, y posterior mantenimiento del volumen de información relacionada al tema, incluido el tráfico por internet (más periódicos, noticias relacionadas al tema, publicaciones, *etc.*). Los máximos volúmenes de información relacionada a PAHs se hallan en los países asiáticos en plena expansión industrial: Japón, Corea de Sur, China, Tailandia, seguidos por Canadá, India, USA, Austria y Australia. Para Sudamérica y en particular para los más de 6000 km de costas marinas argentinas se registra sólo un escaso número de trabajos relacionados (Commendatore *et al.*, 2000; Cataldo *et al.*, 2001; Rehwagen *et al.*, 2005; Colombo *et al.*, 2005a y 2005b). En este sentido, el presente trabajo aporta valiosa información de base, inédita y estratégica desde la

óptica de un manejo sostenible de los recursos costeros. En cuanto a los antecedentes para el área en estudio, sólo pueden citarse mediciones aisladas de hidrocarburos totales en los años 80'; sin embargo, a la fecha de edición del presente trabajo no existen registros disponibles sobre el nivel de PAHs en sedimentos del estuario en estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio: El estuario de Bahía Blanca (Argentina), constituye un ecosistema muy particular dentro del extenso litoral marino argentino (Perillo *et al.*, 2000). Está ubicado entre los 38° 45' y 39° 25' de Latitud S y los 61° 45' y 62° 25' de Longitud O, en el litoral sudoccidental de la Provincia de Buenos Aires. Morfogénicamente ha sido clasificado como un estuario de planicies costeras (Perillo *et al.*, 2001); tiene forma de embudo y su sección transversal decrece exponencialmente desde la boca hacia su cabecera. Este ambiente está afectado por un sistema de mareas semidiurno (amplitud de mareas ~4 m, clasificación: mesomareal), el cual provoca que durante muchas horas del día grandes extensiones del espacio intermareal queden descubiertas. La bahía ocupa un área aproximada de 800 km² y, en marea alta, la superficie cubierta es del orden de los 2000 km², incluyendo una superficie del intermareal próxima a los 1200 km² (Perillo & Piccolo, 1999).

Las aguas del estuario evidencian el desarrollo de una alta productividad primaria (Freije *et al.*, 1988, Freije & Marcovecchio, 2004). Posee una elevada relación superficie/volumen de agua, por efecto de la escasa pendiente de sus marismas que se cubren en la incursión de la marea. En veranos secos llega a convertirse en "hipersalino" y ha sido definido como verticalmente homogéneo de tipo "C" según la nomenclatura tradicional de Pritchard y Cameron (1963; véase Freije *et al.*, 1981).

Desde un punto de vista físico-geológico la dinámica del ambiente condiciona la distribución de los materiales sedimentarios del estuario. En el estuario de Bahía Blanca la ausencia de importantes aportes terrígenos y la fuerte influencia de las condiciones marinas hacen del sistema un ambiente en permanente estado de erosión (Perillo & Piccolo, 1999), situación que se evidencia en la dinámica de sus canales y en las extensas islas y planicies degradadas. Los sedimentos más finos (limos y arcillas) se transportan en suspensión dentro de la columna de agua originando elevados valores de turbidez, mientras que las arenas son trasladadas por la acción de las corrientes mareales sobre el fondo (Cuadrado *et al.*, 2004). Esta característica cobra relevancia desde una óptica ambiental al evaluar los mecanismos de transporte de los contaminantes hidrofóbicos a través de los sedimentos.

Geográficamente, y desde el punto de vista de la presión antrópica sobre el sistema, en la zona interna y sobre el veril Norte del estuario se ubican varios puertos (Pto. Ing. White, Pto. Galván, Pto. Belgrano), ciudades (Bahía Blanca, Punta Alta y Gral. Cerri) que suman más de 350.000 habitantes y uno de los complejos industriales más grandes de Sudamérica (terminales de petróleo, refinerías, terminal de *cracking* de componentes del gas de petróleo, planta de fertilizantes, complejos cerealeros, etc.). En particular la zona de muestreo se ubicó sobre los sedimentos costeros adyacentes al Puerto Galván y el complejo petroquímico anteriormente citado, una zona costera altamente industrializada, disectada por canales inundables con la marea, de acceso marítimo.

Muestreo: Los sedimentos se muestrearon sobre la zona intermareal, accediendo a ellas en condiciones de marea baja mediante una lancha oceanográfica. Un extensivo y preliminar análisis sobre toda la zona costera interna del área en estudio (Arias *et al.*, 2008) permitió definir que no existen variaciones estacionales significativas en torno a la concentración de PAHs en los sedimentos del estuario y que esta última es fuertemente dependiente de la distancia a las potenciales fuentes de emisión. Por esto, se consideraron para este trabajo 21 muestras simples (aprox. 300 g) de sedimentos superficiales (<5 cm) de manera de obtener un muestreo representativo del perímetro costero industrializado, recolectándolas en el período que se extiende desde Diciembre de 2005 a Abril de 2006. En todos los casos se utilizó material debidamente tratado y acondicionado para este tipo de análisis y las muestras se almacenaron en congelador (-18° C) hasta su posterior procesamiento. Los sedimentos obtenidos en cada sitio fueron debidamente mezclados previo a su procesamiento, a fin de obtener matrices homogéneas (Baumard *et al.*, 1997), lo que permitió la realización de análisis simples.

Determinación de humedad, carbono orgánico total y carbono inorgánico total en sedimentos: El C Orgánico Total (sigla TOC del inglés: *Total Organic Carbon*) fue estimado utilizando un método gravimétrico analíticamente robusto basado en la pérdida de peso por ignición de la materia orgánica (Byers *et al.*, 1978, Commendatore *et al.*, 2004). Inicialmente las alícuotas de sedimento fueron secadas a 100 ± 2 °C hasta peso constante en estufa. La diferencia de peso obtenida entre estos dos valores permitió obtener el contenido de humedad de las muestras. Luego los sedimentos fueron colocados en horno Mufla en condiciones estandarizadas de manera de lograr la ignición total de la materia orgánica. Se supone que la pérdida de peso lograda mediante este calentamiento es un buen estimador del contenido de materia orgánica total (MOT) de la muestra. Posteriormente, el TOC fue calculado a partir de dicho valor, utilizando un factor de conversión teórico

(Margalef, 1979). Por último, los sedimentos fueron calcinados a 1000 °C durante una hora de manera de obtener una estimación del Carbono Inorgánico Total (CIT) Este último se obtiene también por diferencia gravimétrica a consecuencia de las pérdidas de carbonatos como CO₂.

Análisis de PAHs: Las muestras se procesaron según procedimientos normalizados de la EPA 3540C y IOC N° 20 (UNEP, 1992) y se analizaron por cromatografía capilar gaseosa (Hewlett-Packard P68906C)/MS(HP 5972). Los sedimentos recolectados en frascos de vidrio libres de orgánicos (mediante extracciones sucesivas con solventes) y almacenados a -18° C, siguieron el siguiente protocolo analítico para cada grupo de muestras en análisis (las muestras fueron analizadas en baterías de 5/6 muestras + 2/3 controles de calidad). Previo a la extracción se adicionó a cada muestra el grupo de estándares subrogados deuterados: Naftaleno-d₁₂, Acenafteno-d₁₀, Fenantreno-d₁₀, Criseno-d₁₂. Luego se procedió al secado químico y homogenización de las muestras en un mortero, utilizando Na₂SO₄ como desecador. La extracción se realizó mediante reflujo de solventes orgánicos en dispositivos Soxhlet. A fin de lograr cromatogramas claros y bien definidos los extractos fueron percolados en columnas de vidrio (1 cm de diámetro interno) rellenas con sílicagel/alúmina desactivada con H₂O al 5 % (15 cm long.); posteriormente se eluyeron mediante la adición de 50 mL de hexano/cloruro de metileno (8:1, v/v). Los eluatos recogidos en balón se evaporaron en rotaevaporador en condiciones de presión negativa y calor (< 40°C) hasta aproximadamente 10 mL. Posteriormente, se continuó la evaporación bajo corriente de N₂ hasta 1 mL.

Los PAHs fueron separados e identificados utilizando un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard HP68906C acoplado a un espectrómetro de masas Hewlett-Packard HP5972. La columna cromatográfica utilizada fue de fase reversa (HP-5MS, 30 m; 0,25 mm d.i.; 0,25 µm espesor de capa). El gas utilizado como transportador fue Helio. El espectrómetro de masas fue operado mayoritariamente en el modo *EIM* (del inglés: *electron impact mode*, 70 eV). Las muestras fueron inyectadas en el modo *splitless* a 250 °C y el programa de temperaturas utilizado fue el siguiente: Temperatura inicial: 70 °C (2 min), calentamiento hasta 150 °C a una tasa de 30 °C min⁻¹, calentamiento hasta 310 °C a una tasa de 4 °C min⁻¹; finalmente 310 °C durante 10 min. Los PAHs fueron monitoreados a partir de espectrómetro de masas en modo de iones seleccionados (SIM, del inglés: *selected ion monitoring mode*). Los PAHs evaluados fueron:

Naftaleno (Na)	Benzo-a-antraceno (BaA)
2-Me-Naftaleno (2MNa)	Criseno (Cr)
Acenaftileno (Ac)	Benzo-b-fluoranteno (BbF)
Acenafteno (Ace)	Benzo-k-fluoranteno (BkF)

Fluoreno (Flu)	Benzo-a-pireno (BaP)
Antraceno (An)	Dibenzo-ah-antraceno (DBA)
Fenantreno (Phe)	Benzo-ghi-perileno (BghiP)
Fluoranteno (Fl)	Indenopireno (IP).
Pireno (Py)	

En todos los casos se trabajó con los siguientes controles de calidad: Blancos, muestras fortificadas y muestras certificadas (SRM-NIST 1944). El límite de detección del método (L. D.) se encontró alrededor de 10 ng g⁻¹ (peso seco, calculado según IOC N° 43 (UNESCO, 1993) para todos los PAHs analizados).

Análisis estadístico: Los datos fueron tratados analíticamente utilizando un software estadístico desarrollado en la Universidad Nacional del Sur (Argentina); el análisis de componentes principales (CACP) y regresión lineal múltiple (RLM) se llevó a cabo utilizando el paquete estadístico *Statistica* 6.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Niveles de PAHs

Es de amplio consenso que los valores de PAHs en sedimentos menores a 10 ng g⁻¹ (p.s.) corresponden a un nivel de distribución basal o *background* de los ecosistemas. Estos valores se dan en lugares prístinos, generalmente alejados de las poblaciones. Las concentraciones que se ubican entre 10 y 100 ng g⁻¹ corresponden a niveles con baja contaminación encontrados, por ejemplo, en zonas turísticas (Baumard *et al.*, 1998). Por otro lado, los niveles de PAHs en el rango de 100-1000 ng g⁻¹ identifican zonas con moderado impacto antrópico; estos valores son hallados en general en zonas portuarias y costeras urbanizadas alrededor del mundo. Valores de PAHs por encima de 1000 ng g⁻¹ indican niveles de moderados a altos de contaminación y probables procesos de introducción crónica de estos contaminantes en los sistemas. Los valores por encima de 10000 ng g⁻¹ responden a procesos de contaminación severa de sedimentos, con efectos frecuentes observados sobre la biota (Long *et al.*, 1995).

Para el área de estudio se halló un amplio rango de niveles de concentraciones totales de PAHs (expresados como la suma de las concentraciones de los 17 PAHs analizados; el rango varió desde 215 (G7, Fig. 1) hasta más de 19000 ng g⁻¹ (G8; peso seco), con una media de 4696 ng g⁻¹ (p.s.; n = 21). Esto ubicó a la zona de estudio entre niveles desde moderados (G3, G4, G7, G9, G12) y altos (G1, G2, G11, G13, G14, G15, G16, G17, G19, G20, G21), hasta zonas puntuales severamente contaminadas, con un riesgo asociado de daño inminente a los organismos de ese hábitat (G6, G8, G10, G18).

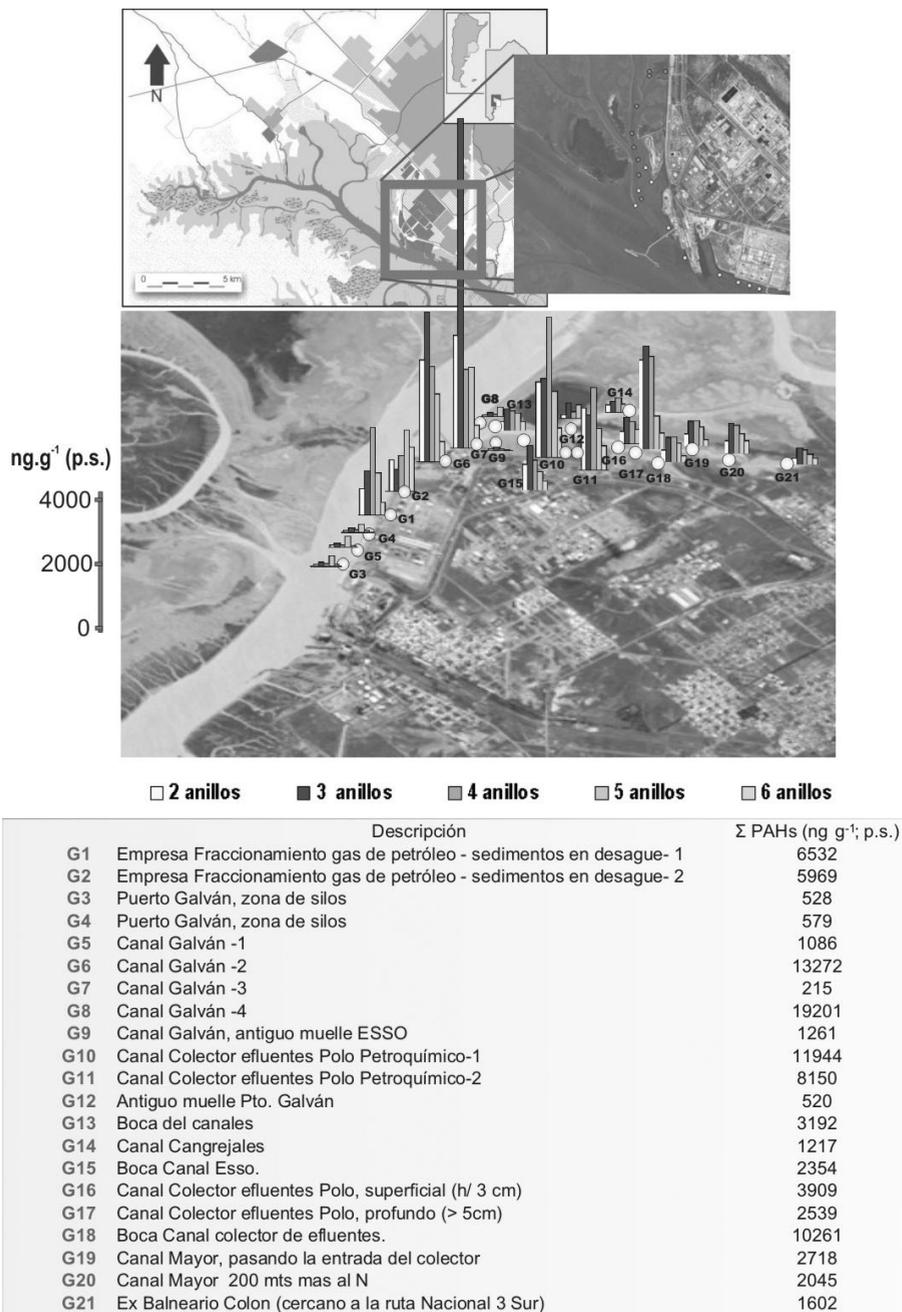


Figura 1. Ubicaci3n geográfica, descripci3n de los sitios de muestreo y composici3n porcentual promedio de PAHs.

2. Relaciones entre la geoquímica de los sedimentos y los PAHs

Las concentraciones de PAHs en sedimentos se encuentran fuertemente correlacionadas tanto a la distancia de las fuentes emisoras como a ciertos entornos sedimentarios que favorecen o entorpecen su acumulación. En este sentido, tanto la granulometría como el contenido de agua (humedad, %), TOC y CIT, % de los sedimentos fueron analizados de manera de poder caracterizar el papel de las propiedades geoquímicas de los sedimentos locales sobre la distribución de los PAHs en el área de estudio.

2.1. Carbono orgánico y PAHs en los sedimentos

En condiciones estacionarias (por ejemplo, aquellas en las cuales los ingresos de contaminantes son uniformes y la distribución de TOC también dentro de ciertos rangos) la distribución de contaminantes orgánicos hidrofóbicos (tales como los PAHs, PCBs, OCs, etc) puede ser descrita mediante modelos de partición bifásicos (agua-sedimento) que incluyen la concentración de C orgánico en el sedimento como una fase principal (Karickhoff *et al.*, 1981; Oliver *et al.*, 1985; Di Toro *et al.*, 1985). En este trabajo, en orden a establecer el rol del C orgánico en la distribución local de PAHs en sedimentos, sus concentraciones fueron determinadas simultáneamente. El rango de abundancias de TOC (%) hallado varió desde 0,36 a 2,74 %, con un valor medio de 1,56 % $\pm 0,69$, valor tipificado dentro del rango hallado sobre las plataformas continentales (Setter *et al.*, 2004) y estadísticamente mayor ($p < 0,001$) que el medido en otros sitios de la zona interna del estuario de Bahía Blanca (Arias *et al.* 2008, *en prensa*).

Muchos investigadores observaron correlaciones positivas entre los niveles de PAHs en los sedimentos y su contenido de TOC % (Cretney *et al.*, 1983; Johnson *et al.*, 1985; Smith *et al.*, 1990; Xu *et al.*, 2007), demostrando así la existencia de sistemas reales que pueden ser descriptos adecuadamente mediante modelos de partición en dos fases (agua y fracción orgánica en términos de C en sedimentos); por el contrario, otros han registrado sólo correlaciones leves o inexistentes entre estas dos variables para sitios costeros de características similares (Ünlü *et al.*, 2006, Simpson *et al.*; 1996).

Las Fig. 2 presenta las relaciones entre las concentraciones de PAHs totales y TOC para los sedimentos costeros adyacentes al área industrializada de Pto. Galván.

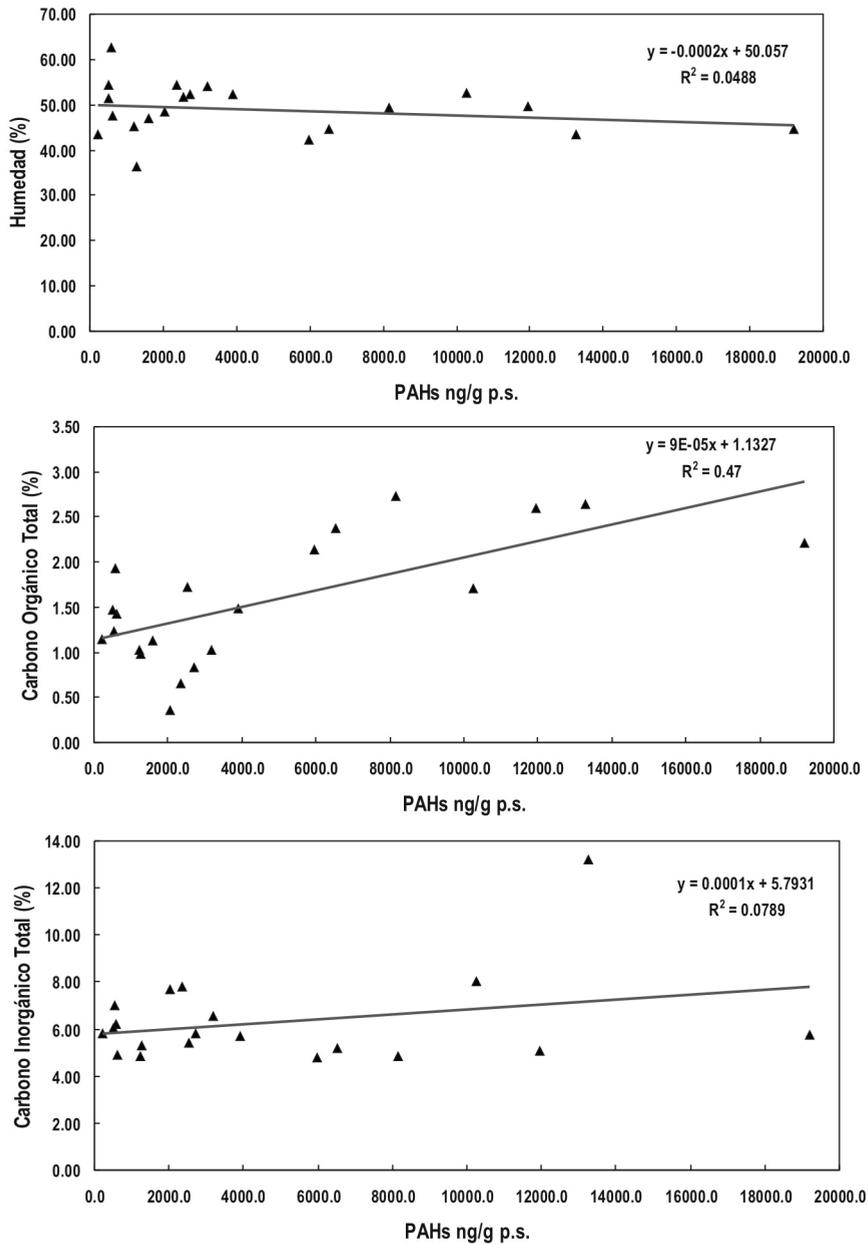


Figura 2. PAHs totales vs Carbono Orgánico Total, Carbono Inorgánico Total y Humedad (%).

En este grupo de muestras (con niveles medios altos de contaminación) se halló un coeficiente de correlación de $r^2 = 0,47$. Esta evidencia concordó con las observaciones realizadas por algunos autores sobre ambientes con niveles de moderada a alta contaminación (Golobocanin *et al.*, 2004; Simpson *et al.*, 2006), para los cuales se demostraron buenas correlaciones entre TOC y concentración de PAHs en sedimentos. Esto constituye un indicio del rol que ejerce la fracción de C orgánico de los sedimentos locales sobre la partición de los PAHs en el sistema agua-sedimento.

Posteriormente, y siguiendo el enfoque de Simpson *et al.* (1996) se ensayaron diferentes modelos de ajuste para los pares de puntos (concentración de PAHs totales; TOC), separando previamente los datos en dos series de concentraciones mayores y menores a 2000 ng g^{-1} . La Fig. 3 muestra los resultados obtenidos para el grupo de sedimentos con concentraciones de PAHs $>2000 \text{ ng g}^{-1}$, los cuales mostraron un óptimo ajuste logarítmico (base natural) altamente significativo ($p < 0,001$, $n = 13$). Por otro lado, el mejor ajuste obtenido para el grupo de sedimentos $<2000 \text{ ng g}^{-1}$ (p. s.), también fue logarítmico, aunque para este grupo de sedimentos no se pudo demostrar estadísticamente la existencia de significancia en la correlación.

En conclusión, la robusta correlación entre la concentración de PAHs totales en sedimentos y la fracción de C orgánico de los mismos (TOC) para sedimentos altamente contaminados ($>2000 \text{ ng g}^{-1}$) sugiere, según lo demostrado en la literatura antes citada que la distribución de PAHs en sedimentos es regulada, al menos parcialmente, mediante un modelo de partición en dos fases (columna de agua-sedimentos superficiales) dominado por la abundancia de la fracción de C orgánico de los sedimentos.

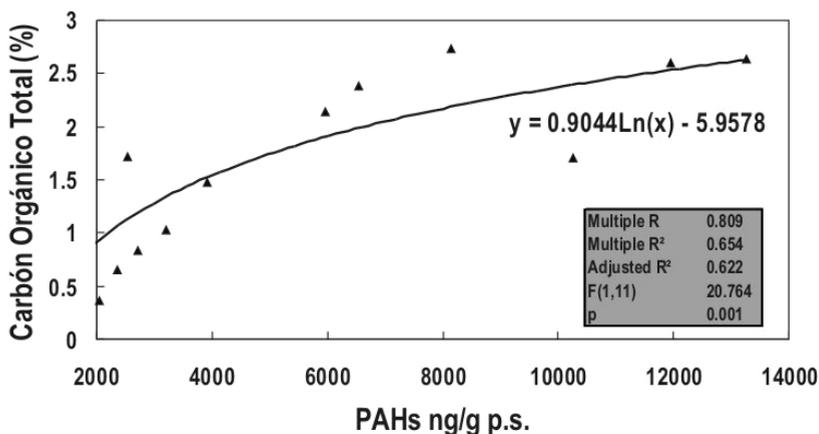


Figura 3. PAHs vs Carbono Orgánico Total (%) en sedimentos altamente contaminados.

2.2. Granulometría, Humedad y Carbono Inorgánico *vs* PAHs

Tanto la granulometría de los sedimentos como su contenido de minerales afectan la distribución de los PAHs en esta matriz. En general, los sedimentos con fracciones mayoritariamente finas (limo y arcilla) y mayores valores de C orgánico pueden adsorber y admitir mayores concentraciones de PAHs que los sedimentos arenosos, los cuales suelen presentar menores concentraciones de TOC (Luoma *et al.*, 1990; Witt *et al.*, 1995).

En general los cocientes limo/arcilla para diferentes zonas del estuario variaron en un rango desde 1,05 a 18, creciendo en sentido interno-externo teniendo en cuenta la orientación del estuario (Arias *et al.*, 2008; *en prensa*). Sin embargo, los resultados de la clasificación granulométrica para el área en estudio arrojó la dominancia del menor tamaño de partículas para todo el estuario (incluyendo la menor proporción de arena; Tabla 1); es decir, sumado a la fuerte presencia industrial se asociaron características sedimentarias naturales que favorecieron la adsorción de los PAHs.

La Fig. 2 muestra las relaciones entre las concentraciones de PAHs en el sedimento *vs* el contenido de humedad y de C inorgánico analizados simultáneamente para el área en estudio. Si bien es sabido que el mayor contenido de humedad incrementa la capacidad de adsorción de los PAHs, los resultados no mostraron datos concluyentes en este sentido. De igual manera no se hallaron correlaciones importantes entre las concentraciones de PAHs en sedimentos y la concentración de C inorgánico, descartando un rol principal para este último en la dirección de la distribución de estos contaminantes.

Tabla 1. Análisis granulométrico del área de muestreo.

Sitios					
Fraciones (%)	Villarino Viejo	Puerto Cuatrerros	Maldonado	Puerto Galván	Pto. Ing. White
Fango (<63 µm)					
Arcilla	28,5	36,9	46,7	31,8	3,6
Limo	32,4	38,8	39,9	63,2	65,5
Relación L/A	1,1	1,1	0,9	2,0	18,0
Arena:	39,1	24,4	13,4	5,0	30,9
Muy fina (63-125 µm)	26,3	8,1	2,8	4,1	26,3
Fina (125-250 µm)	4,4	5,6	5,8	0,8	4,4
Mediana (250-500 µm)	0,2	1,6	2,9	0,1	0,2
Gruesa (500 µm- 1mm)	0,0	0,6	0,8	0,0	0,0
Muy Gruesa (1-2 mm)	0,0	8,4	1,1	0,0	0,0
Grava (>2mm)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Clasificación	Areno-limo-arcillosa	Areno-limo-arcillosa	Arcillo-limosa	Limo-arcillosa	Limo-arenosa
Media SUM PAHs (ng/g p.s.)	309	437	487	695	652

3. Composición de PAHs: orígenes

3.1. Distribución de grupos moleculares

Las contribuciones de los diferentes grupos moleculares de PAHs discriminados según el número de anillos se muestra en la Tabla 2.

La distribución porcentual de los grupos de anillos para todas las muestras analizadas mostró composiciones homogéneas entre sí. Se halló un predominio de los PAHs de 3, 4 y 5 anillos en su estructura (en ese orden), con promedios porcentuales en el rango de 9-53 % de abundancia relativa para el grupo de 3 anillos, 8 a 41 % para el grupo de 4 anillos, y 10 a 51 % para el grupo de 5 anillos.

La dominancia de PAHs de más de dos anillos estructurales evidenciada para el estuario de Bahía Blanca ha sido hallada también en otros sistemas costeros antropizados, como la Bahía de San Francisco (Pereira *et al.*, 1996). Los PAHs de alto peso molecular son comúnmente observados en sedimentos marinos costeros, en ríos y lagunas (Hites *et al.*, 1980; Bates *et al.*, 1987; Readman *et al.*, 1987), así como en aerosoles atmosféricos (Cretney *et al.*, 1985; Sicre *et al.*, 1985). El origen de estos compuestos es ampliamente reconocido en la pirólisis y la combustión de combustibles fósiles, los cuales se introducen en estos ambiente mediante los procesos previamente descritos. De igual forma, la presencia de PAHs de 5 anillos catacondensados (por ej., Benzofluorantenos) con altas abundancias relativas, sugiere un origen principal en procesos pirolíticos de alta temperatura (Simoneit *et al.*, 1985).

Por último, la uniformidad en las abundancias de los distintos grupos de PAHs para la zona estudiada sugiere la existencia de un grupo relativamente uniforme de fuentes aportantes de PAHs.

3.2. Análisis de índices moleculares

Los índices moleculares se definen como el cociente de concentraciones específicas de PAHs (por ej., PAHs isoméricos) y brindan información sobre

Tabla 2. Composición porcentual promedio según número de anillos.

PAHs	Zona Puerto Galván e Industrias
Rango (ng g ⁻¹ p.s.)	215,3 - 19201 (n = 21)
2 anillos (%)	15 ± 6
3 anillos (%)	28 ± 9
4 anillos (%)	24 ± 8
5 anillos (%)	25 ± 13
6 anillos (%)	8 ± 5

el perfil de emisión de las fuentes de *PAHs* (Baumard *et al.*, 1999; Yunker *et al.*, 2002).

Los altos niveles de contaminación de la zona de estudio permitieron la disponibilidad de perfiles completos de *PAHs* para la mayoría de las muestras; esto permitió abordar un enfoque múltiple de índices moleculares. El modelo utilizado se basó en el contraste de pares de índices moleculares compilado por Yunker *et al.* (2002). Así, los índices BaA/228, An/178 e IP/276 fueron graficados contra los valores de Fl/202 para presentar la distribución de puntuaciones en relación a las fuentes (Fig. 4). El punto de transición petróleo/combustión para el índice An/178 está definido en 0,10. Fl/202 <0,4 usualmente indica petróleo; entre 0,4 y 0,5 indica combustión de petróleo y derivados; y valores >0,5 están asociados a la quema de pastos, carbón y madera (biomasa). El índice BaA/228 <0,2 indica petróleo; entre 0,2-0,5 combustión de petróleo; y valores >0,5 combustión de biomasa.

Las gráficas mostraron unívocamente que los *PAHs* de los sedimentos de la zona derivaron primariamente de procesos de combustión (Fig. 4). Las puntuaciones fueron regularmente homogéneas denotando en primera instancia y consistentemente con los resultados previos, los mismos patrones de depósito.

Las puntuaciones An/178 fueron >0,1 para todas las muestras analizadas en la zona en un período de 5 meses. Estos índices variaron en un rango de 0,23-0,66, indicando emisiones originadas en combustibles como fuente principal de *PAHs*.

De acuerdo al índice Fl/Fl+Py se observó un fuerte aporte de la quema de biomasa (maderas, residuo de pastizal, carbón) para la gran mayoría de las muestras, lo que resultó parcialmente ratificado por los valores del índice IP/276. El resto de las muestras fueron claramente clasificadas como provenientes de una contribución pirolítica, tanto por este último índice como por el ratio BaA/228.

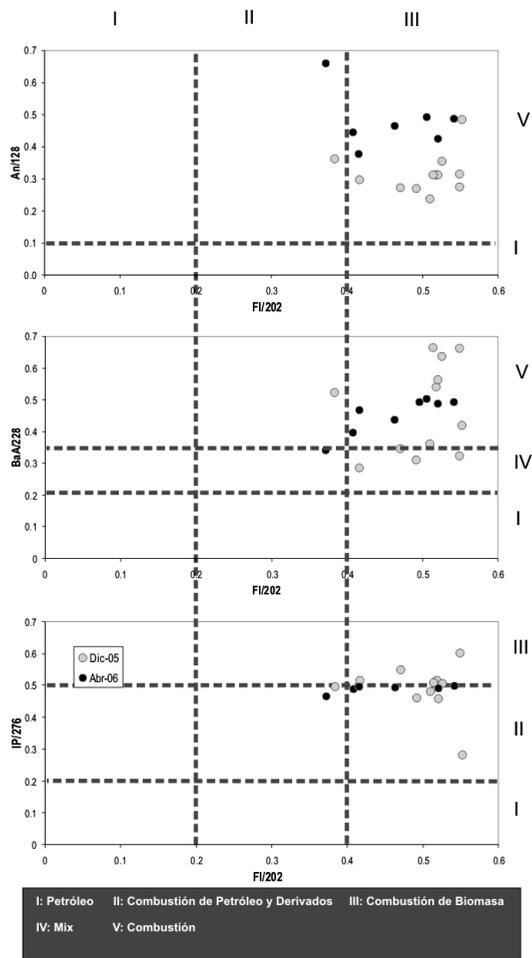
El índice Metil-Fenantrenos/Fenantreno es también una herramienta analítica para determinar los posibles orígenes de los *PAHs*. Si bien el primer grupo de compuestos no fue cuantificado como proceso de rutina en las muestras, éstos fueron evaluados cualitativamente. Los *PAHs* derivados de fuentes petrogénicas presentan, en general, una amplia variedad de *PAHs* metilados, que incluyen la serie del Fenantreno (Prahl & Carpenter, 1983); la sumatoria de éstos suele superar la concentración del Fenantreno mismo en estos casos. Para la mayoría de las muestras los cromatogramas mostraron ausencia de estos derivados metilados o bien presencias cercanas al L. D. del método; esta evidencia sustentó internamente un origen pirolítico para el Fenantreno cuantificado en las muestras.

El análisis simultáneo de índices moleculares ubicó a la zona en estudio con una robusta “huella” pirolítica en cuanto al origen de los *PAHs* en sedimentos. No obstante, este discernimiento se profundizó mediante herramientas estadísticas para confirmar los citados hallazgos y extraer información adicional.

3.3. Análisis de Componentes principales

Para profundizar el análisis de origen y minimizar factores de ruido se desarrolló un estudio de componentes principales para el grupo completo de datos provenientes de la zona en análisis. La rotación de los ejes se varió

Figura 4. Representación de índices moleculares.

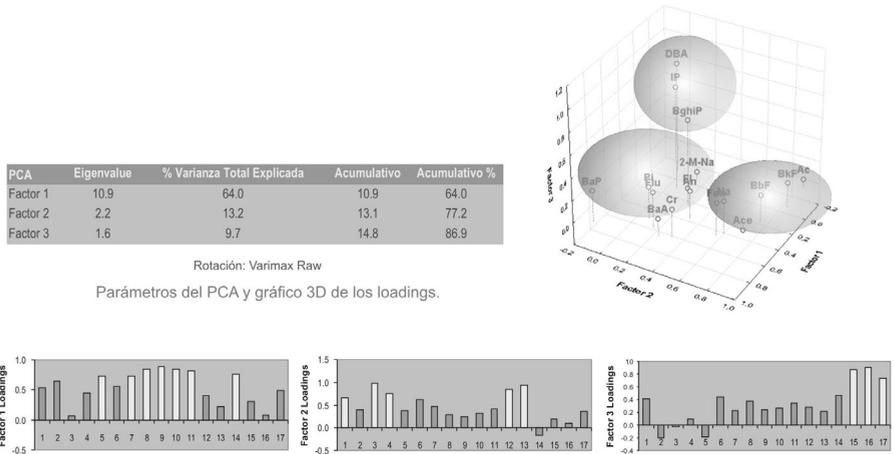


para obtener la máxima cantidad de cargas positivas (*loadings*) para los factores (rotación: varimax). Previo al análisis se efectuaron diferentes *tests* (Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors) sobre el grupo de datos a fin de establecer el tipo de distribución y evaluar posibles transformaciones. Los resultados mostraron una acumulación del 86,9 % de la variancia explicada para los primeros tres factores extraídos. Luego, para cada factor, se analizaron las variables (concentraciones de *PAHs* individuales) que sustentaron las máximas cargas a fin de lograr una interpretación racional de los mismos.

El factor 1 aportó el 63 % a la explicación de la varianza y obtuvo las mayores cargas para el grupo de *PAHs* de 4 anillos (Fluoranteno, Pireno, Benzo-a-antraceno, Criseno, incluyendo también Benzo-a-Pireno y Fluoreno; Fig. 5). La mayoría de estos compuestos son trazadores típicos de los procesos de combustión de carbón (Duval & Friedlander, 1981; Simcik *et al.*, 1999). Sin embargo, compuestos tales como los Metil-Fenantrenos (acompañantes usuales de los *PAHs* provenientes de la pirólisis del carbón; Simcik *et al.*, 1999) estuvieron ausentes en las muestras. Por otro lado el carbón como combustible sólido no es prioritario ni para el uso industrial, ni para el doméstico, en la región sudoeste de la provincia de Buenos Aires, donde se ubica el estuario de Bahía Blanca. Un origen altamente probable de estos compuestos predominantes radicaría en los procesos de destilación y *cracking* industrial de gas natural que se desarrollan en la zona lindera al área de estudio. Anualmente se producen en esta zona 620 Gg de butano, 220 Gg de gasolina natural y 540 de etano (Fuente: <www.ciamega.com>).

Adyacente a la zona de estudio se emplaza un complejo petroquímico productor de plásticos (polietilenos de diferente densidad, 606 Gg a⁻¹;

Figura 5. Participación de los factores extraídos del análisis de componentes principales (PCA).



<www.solvayindupa.com>; consultado en 2001) generados en base de etano. Resultados de perfil similares a los obtenidos para el Factor 1 fueron reportados por Font *et al.* (2003) para la pirólisis de polietileno y sus derivados, demostrando una emisión característica de Flu, Phe, Fl, Py, Cr, BaP, IP, BghiP a partir de 700 °C. En este contexto, resulta posible caracterizar las emisiones explicadas por el Factor 1 como emisiones industriales de carácter local.

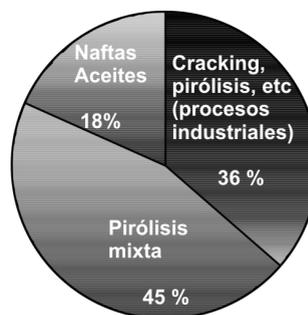
El Factor 2 aportó un 13,2 % de la explicación de la varianza. Este Factor obtuvo elevadas cargas para los siguientes PAHs: Acenaftileno, Acenafteno, BenzoFluorantenos (b y k) y, en menor medida, Naftaleno y Fenantreno. Estos dos últimos compuestos se presentan como marcadores de la combustión de maderas (Larsen & Baker, 2003) y carbón (Simcick *et al.*, 1999, Fabbri *et al.*, 2006). Ac y Ace son marcadores más abundantes en los procesos de combustión de celulosa (pasturas; Fabbri *et al.*, 2006), mientras que los Benzofluorantenos son componentes con origen en derivados de petróleo. La interpretación resultante de este factor es de un origen mixto (combustión de petróleo-biomasa) de fuentes pirolíticas.

Al Factor 3 se le atribuyó el 9,68 % de la varianza explicada y fue sostenido principalmente por cargas correspondientes a los 3 PAHs de mayor masa molecular (IP, DBA y BghiP). Estos constituyen trazadores típicos de fuentes vehiculares de PAHs (Harrison *et al.*, 1996; Simcick *et al.*, 1999; Larsen & Baker, 2003). Tanto la maquinaria industrial como los vehículos motorizados son grandes consumidores de destilados de petróleo. Así mismo, grandes cantidades de hidrocarburos se queman y ventean en las antorchas del complejo industrial adyacente, hasta 60 Mg h⁻¹ (<www.dow.com>). Por tanto, la interpretación del factor 3 se orienta a la combustión de hidrocarburos derivados de petróleo.

En conclusión, la variabilidad de las concentraciones de PAHs en sedimentos se explica en un 87 % por tres factores de variación independientes entre sí: Un factor de origen pirolítico de carácter local (64 %), un factor de origen pirolítico mixto (13 %) y un factor derivado de la combustión de combustibles fósiles (10 %).

A fin de obtener las contribuciones relativas de las tres fuentes de PAHs mayoritarias se realizó un análisis de regresión múltiple sobre las puntuaciones de cada factor independiente obtenidas del análisis de componentes principales (scores; utilizadas como variables independientes) y la concentración de PAHs totales para cada sitio muestreado, como variable dependiente. Los coeficientes de regresión (B) representan, entonces, la contribución de cada variable independiente a la predicción de la variable dependiente, luego de controlar el resto de las variables independientes involucradas. Los coeficientes de regresión estandarizados se presentan en la Fig. 6 como contribuciones relativas de las tres fuentes principales de PAHs sobre la zona en estudio.

Regresión Lineal Múltiple Sitio	PCA Scores			Total PAHs (ng/g p.s.)
	FACTOR1	FACTOR2	FACTOR3	
G1	1.027829097	-0.271680308	0.3713625	6532
G2	-1.018254513	-0.338976386	3.5986302	5969
G3	-0.742864745	-0.428303591	-0.382837	528
G4	-0.706689091	-0.473360302	-0.336819	578
G5	-0.69002942	-0.484070893	-0.332635	621
G6	1.50573616	0.956971483	0.4059837	13272
G7	-0.874133192	-0.291142071	-0.559522	215
G8	-0.546697464	4.124418817	0.1367841	19201
G9	-0.574335607	-0.399214413	-0.333744	1261
G10	2.3856713	-0.695498049	1.3505244	11944
G11	0.785778039	-0.043759226	0.6787844	8150
G12	-0.726531727	-0.459996564	-0.359613	520
G13	-0.26199133	-0.36930645	-0.749452	1217
G14	-0.343821081	-0.187215954	-0.142191	2354
G15	-0.238826004	-0.024842369	-0.076722	3909
G16	-0.264885751	-0.181644694	-0.32918	2539
G17	2.265879546	0.108407021	-1.481356	10261
G18	-0.078072646	-0.079816342	-0.579788	2718
G19	-0.464302047	-0.160572265	-0.153068	2045
G20	0.021130259	-0.089447717	-0.306595	3192
G21	-0.460616259	-0.210949728	-0.418546	1602



MLR	
Multiple R	0.9968
Multiple R ²	0.9937
Adjusted R ²	0.9925
F(3,17)	887.9472
p	0.0000
Std.Err. of Estimate	444.7406

	Beta	Std.Err.	B	Std.Err.	t(17)	p-level
FACTOR1	0.594138	0.019314	3059.249	99.44702	30.76260	0.000000
FACTOR2	0.741127	0.019314	3816.101	99.44702	38.37321	0.000000
FACTOR3	0.302307	0.019314	1556.596	99.44702	15.65252	0.000000

Figura 6. Análisis de Componentes principales acoplado a regresión lineal múltiple (TOR: Factor).

CONCLUSIONES

Para el área en estudio se halló un amplio rango de niveles de concentraciones totales de *PAHs*, que sirvió para clasificarla entre niveles desde moderados y altos hasta zonas puntuales severamente contaminadas, con un riesgo asociado de daño inminente a los organismos de ese hábitat.

A partir de la evidencia obtenida se postula que, para la zona muestreada, el contenido de C orgánico de los sedimentos regula, al menos parcialmente, la distribución y concentración de los *PAHs* en sedimentos, siendo esta relación demostrada fehacientemente para los sedimentos clasificados como altamente contaminados (>2000 ng g⁻¹; p. s.). Por otro lado, el porcentaje de humedad y la concentración de CIT de los sedimentos no demostraron ejercer un papel significativo sobre la distribución de *PAHs*. En cambio, la distribución del tamaño de partícula de los sedimentos favoreció la acumulación de estos contaminantes.

En cuanto a la distribución de los perfiles moleculares de *PAHs* en sedimentos la uniformidad en las abundancias de los distintos grupos de *PAHs* para la zona estudiada sugirió la existencia de un grupo relativamente uniforme de fuentes que aportan estos contaminantes sobre el área estudiada.

La dominancia evidenciada de *PAHs* de más de dos anillos estructurales ubicó las fuentes potenciales de origen, tanto de procesos pirolíticos como de la combustión de combustibles fósiles. Estos resultados fueron confirmados mediante la aplicación de un estudio de índices moleculares, que permitió discernir aportes pirolíticos, petrogénicos y mixtos. Por último, la aplicación de técnicas estadísticas (ACP; RLM) sobre el grupo de datos y su interpretación, a partir de la literatura, permitió definir con exactitud tres tipos de fuentes emisoras de *PAHs*, así como sus respectivas contribuciones relativas.

El protocolo analítico desarrollado permitió establecer los niveles basales, los lineamientos del comportamiento de los *PAHs* en los sedimentos locales y las principales fuentes emisoras de *PAHs* en el área.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arias, A. Vázquez-Botello A., Tombesi N., Ponce-Vélez G., Freije R. y Marcovecchio J. 2008. Presence, distribution and origins of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in sediments from Bahía Blanca estuary, Argentina. *Environmental Monitoring and Assessment* (en prensa)
- Bates T.S., Murphy P.P., Curl H.C. y Feely R.A. 1987. Hydrocarbon distributions and transport in an urban estuary. *Environ. Sci. Technol.*, 21: 193-198.
- Baumard P., Budzinski H. y Garrigues P. 1997. Analytical procedure for the analysis of PAHs in biological tissues: application to mussels. *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 359: 502-509.
- Baumard P., Budzinski H., Garrigues P., Narbonne J.F., Burgeot T., Michel X. y Bellocq J. 1999. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) burden of mussels (*Mytilus* sp.) in different marine environments in relation with sediment PAH contamination, and bioavailability. *Marine Environmental Research*, 47: 415-439.
- Baumard P., Budzinski H., Michon Q., Garrigues T., Burgeot T. y Bellocq J. 1998. Origin and Bioavailability of PAHs in the Mediterranean Sea from Mussel and sediment Records. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 47:77-90.
- Byers S., Mills C. y Steward P. 1978. A comparison of methods of determining organic carbon in marine sediments with suggestions for a standard method. *Hydrobiologia*, 58: 43-47.
- Cataldo D., Colombo J.C., Boltovskoy D., Bilos C. y Landoni P. 2001. Environmental toxicity assessment in the Paraná river delta (Argentina): simultaneous evaluation of selected pollutants and mortality rates of *Corbicula fluminea* (Bivalvia) early juveniles. *Environmental Pollution*, 112: 379-389.
- Colombo J.C., Barreda C., Bilos N.C., Migoya M.C. y Skorupka C. 2005. Oil spill in the Rio de la Plata estuary, Argentina: 2-hydrocarbon disappearance rates in sediments and soils. *Environmental Pollution*, 134: 267-276.

- Colombo J.C., Cappelletti N., Barreda A., Migoya M.C. y Skorupka C.N. 2005. Vertical fluxes and accumulation of PCBs in coastal sediments of the Río de la Plata estuary, Argentina. *Chemosphere*, 61: 1345-1357.
- Commendatore M.G., Esteves J.L. y Colombo J.C. 2000. Hydrocarbons in Coastal Sediments of Patagonia, Argentina: Levels and Probable Sources. *Marine Pollution Bulletin*, 40: 989-998.
- Commendatore M.G. y Esteves J.L. 2004. Natural and anthropogenic hydrocarbons in sediments of the Chubut River (Patagonia, Argentina). *Marine Pollution Bulletin*, 48: 910-918.
- Cornelissen G., Rigterink H., Ferdinandy M. y van Noort P., Rapidly desorbing fractions of PAHs in contaminated sediments as a predictor of the extent of bioremediation. 1998. *Environmental Science and Technology*, 32: 966-970.
- Cretney J.R., Lee H., Wright G., Swallo W. y Taylor M. 1985. Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Air Particulate Matter from a Lightly Industrialized Urban Area. *American Chemical Society Environ. Sci. Technology*, 19: 5.
- Cretney W.J., Wong C.S., MacDonald R.W., Erickson P.E. y Fowler B.R. 1983. Polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments and age-dated cores from Kitimat Arm, Douglas Channel and adjoining waterways. En: R.W. MacDonald (editores), Proceedings of a Workshop on the Kitimat Marine Environment. *Can. Tech. Rep. Hydr. Ocean Sci.*, 18:162-195.
- Cuadrado D., Ginsberg S.S. y Gómez E. 2004. Geomorfología. En: Piccolo M.C. y Hoffmeyer M.S. (ed.). *Ecosistema del estuario de Bahía Blanca*. Instituto Argentino de Oceanografía, Bahía Blanca, Argentina. Pp. 29-38.
- Di Toro D.M. 1985. A particle interaction model of reversible organic chemical sorption. *Chemosphere*, 14:1503-1538.
- Duval M. y Friedlander S. 1981. Source resolution of PAH in Los Angeles atmosphere-Application of CMB with first order decay. Technical Report No. EPA 600/2-81-161, US Government Printing, Washington D. C.
- Eisler R. 1987. Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Hazards to Fish, Wildlife and Invertebrates: A Synoptic Review. Fish and Wildlife Service, US Department of the Interior, 11. Washington D. C.
- Fabbri D. y Vassura I. 2006. Evaluating emission levels of polycyclic aromatic hydrocarbons from organic materials by analytical pyrolysis. *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, 75: 150-158.
- Fowler S.W., Readman J.W., Oregioni B., Villeneuve J.P. y McKay K. 1993. Petroleum hydrocarbons and trace metals in near shore Gulf sediments and biota before and after the 1991 war: An assessment of temporal and spatial trends. *Mar. Pollut. Bull.*, 27:171-182.
- Freije H. y Marcovecchio J. 2004. Oceanografía Química. En: Piccolo, M.C. y Hoffmeyer, M.S. (eds.). IADO. *Ecosistema del estuario de Bahía Blanca*. Instituto Argentino de Oceanografía, Bahía Blanca, Argentina.
- Freije R.H., Asteasuain R.O., Schmidt A. y Zavatti J. 1981. Relación de la salinidad y temperatura del agua con las condiciones hidrometeorológicas en la porción interna del estuario de Bahía Blanca. *Contribución Científica, IADO, Bahía Blanca (Argentina), N° 57: 81 pp.*

- Freije R.H. y Gayoso A. 1988. Producción primaria del estuario de Bahía Blanca. Informes UNESCO, *Ciencias del Mar*, 7: 112-114.
- Golobocanin D., Krbi B. y Miljevi N. 2004. Principal component analysis for soil contamination with PAHs. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 72: 219-223.
- Harrison R., Smith D. y Luhana L. 1996. Source apportionment of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons collected from an urban location in Birmingham, UK. *Environmental Science and Technology*, 30: 825-832.
- Hites R.A., Laflamme R.E. y Windsor J.G. 1980. Polycyclic aromatic hydrocarbons in mariner aquatic sediments: their ubiquity. En: Petrakis L, Weiss F.T., (eds.), *Petroleum in the marine environment*, American Chemical Society *Advances in Chemistry Series*, 185: 289-311.
- Honda K., Lee D. P. y Tatsukawa R. 1990. Lead poisoning in swans in Japan. *Environmental Pollution*, 65: 209-218.
- Johnson A.C., Larsen P.F., Gadbois D.F. y Humason A.W. 1985. The distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in the surficial sediments of Penobscot Bay (Maine, USA) in relation to possible sources and to other sites worldwide. *Mar. Environ. Res.*, 15: 1-16.
- Karickhoff S.W. 1981. Semi-empirical estimation of sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments and soils. *Chemosphere*, 10: 833-846.
- Larsen R.K. y Baker J.E. 2003. Source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons in the urban atmosphere: a comparison of three methods. *Environ. Sci. Technol.*, 37: 1873-1881.
- Long R., McDonald D., Smith S. y Calder, F. 1995. Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine end estuarine sediments. *Environmental Management*, 19: 81-87.
- Long R., McDonald D., Smith S. y Calder F. 1995. Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine end estuarine sediments. *Environmental Management*, 19: 81-87.
- Luoma S., Dagovitz R. y Axtmann E. 1990. Temporally intensive study of trace metals in sediments and bivalves from a large river-estuarine system: Suisun Bay/delta in San Francisco Bay. *The Science of The Total Environment*, 97-98: 685-712.
- Margalef R. 1980. *Ecología*. Omega, Barcelona. Pp. 21-22.
- Meador J.P., Stein J.E., Reichert W.L y Varanasi U. 1995. Bioaccumulation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Marine Organisms. En: Ware G.W. (ed.). *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, Springer, New York. Pp. 79-165.
- Neff J. M. 1979. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment, sources, fates, and biological effects. *Applied Science*, Londres. 262 pp.
- Neff J.M. 1990. Composition and fate of petroleum and spill-treating agents in the marine environment. En: *Sea Mammals and Oil: Confronting the Risks*. J.R. Geraci y D.J. St. Aubin (eds.), Academic Press, San Diego, California. Pp.: 1-34.

- Neilson A. y Hutzinger O. 1998. En: PAHs and Related Compounds, *The Handbook of Environmental Chemistry*, Part C. Springer Verlag, Berlín.
- Oliver B.G. 1985. Desorption of chlorinated hydrocarbons from spiked and anthropogenically contaminated sediments. *Chemosphere*, 14: 1087-1106.
- Pereira W.E., Hostettler F.D. y Rapp J.B. 1996. Distributions and fate of chlorinated 20 pesticides, biomarkers and polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments along a contamination gradient from a pointsource in San Francisco Bay, California. *Mar. Environ. Res.*, 41: 299-314.
- Perillo G.M.E., Piccolo M.C., Parodi E.R. y Freije R.H. 2000. The Bahía Blanca Estuary, Argentina. En: Seelinger U. y Kjerfve B. (eds.), *Coastal Marine Ecosystems of Latin America. Environmental Science Series*, Springer Verlag, Berlín. Pp.: 205-217.
- Perillo G.M.E., Piccolo M.C., Mosquera J. y Aggio S. 1999. Algorithm to calculate equal-area grid cells in irregular estuarine cross-sections. *Computers & Geosciences*, 25: 277-282.
- Prahl F.G. y Carpenter R. 1983. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) phase associations in Washington coastal sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 47: 1013-1023.
- Readman J.W., Mantoura R.F. y Rhead M. 1984. The physico-chemical speciation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in aquatic system. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 319: 126-131.
- Rehwagen M., Müller A., Massolo L., Herbarth O. y Ronco A. 2005. Polycyclic aromatic hydrocarbons associated with particles in ambient air from urban and industrial areas. *Science of The Total Environment*, 348: 1-3.
- Richardson D.H., Shore M., Hartree R. y Richardson R. 1995. The use of X-ray fluorescence spectrometry for the analysis of plants, especially lichens, employed in biological monitoring. *Science of The Total Environment*, 176: 97-105.
- Seiter K, Hensenb C., Schrotera J. y Zabela M. 2004. Organic carbon content in surface sediments. Defining regional provinces. *Deep-Sea Research*, 51: 2001-2026.
- Sicre M.A., Marty J.C., Saliot A., Aparicio X., Grimalt J. y Albaiges, J. 1987. Aliphatic and aromatic hydrocarbons in different sized aerosols over the Mediterranean Sea: occurrence and origin. *Atmospheric Environment*, 21: 2247-2259.
- Simcik M., Eisenreich S. y Liroyb P. 1999. Source apportionment and source/sink relationships of PAHs in the coastal atmosphere of Chicago and Lake Michigan. *Atmospheric Environment*, 33: 5071-5079.
- Simoneit B.R. 1985. Application of molecular marker analysis to vehicle exhaust for source reconciliations. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 22: 203-233.
- Simpson C., Mosi A., Cullen W. y Reimer K. 1996. Composition and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in surficial marine sediments from Kitimat Harbor, Canada *Science of The Total Environment*, 181: 265-278.

- Smith J.N. y Levy E.M. 1990. Geochronology for polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in sediments of the Saguenay Fjord. *Environ. Sci. Technol.*, 24: 874-879.
- Ten Hulscher T., van Noort P. y van der Velde L. 1997. Equilibrium partitioning theory overestimates chlorobenzene concentrations in sediment-porewater from LakeKetelmeer, The Netherlands. *Chemosphere*, 35: 2331-2344.
- UNEP/IOC/IAEA. 1996. IGOSS Plan and Implementation Programme 1996-2003, IOC Technical Series 43. UNESCO, Paris.
- Unlu S. y Luoma S.N. 1990. Distribution and sources of hydrocarbons in surface sediments of Gemlik Bay (Marmara Sea, Turkey), Processes affecting metal concentrations in estuarine and coastal marine sediments. En: Furness R., Rainbow P. (Edts), *Heavy Metals in the Marine Environment*, CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Witt G. 1995. Polycyclic aromatic hydrocarbons in water and sediment of the Baltic Sea. *Mar. Pollut. Bull.*, 31: 237-248.
- Xu S., Liu W. y Tao S. 2005. Emission estimation of PAHs in China. *J. Agro-environ. Sci.*, 24: 476-479.
- Yunker M.B., Macdonald R.W., Vingarzan R., Mitchell R.H. y Goyette D.S. 2002. PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Organic Geochemistry*, 33: 489-515.

DYNAMICS AND EFFECTS OF ATRAZINE IN AGRICULTURAL SOILS FROM TEMPERATE HUMID ZONE (GALICIA, NW SPAIN)

M. Díaz Raviña, J. Mahía, A. Martín, A. Cabaneiro y T. Carballas

Departamento de Bioquímica del Suelo. Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia (CSIC). Apartado 122. Avda Vigo s/n., Santiago de Compostela 15780 (España). <mdiazr@iiag.csic.es>.

Abstract: This study summarizes the results of several experiments examining the impact of atrazine application (degradation and residues distribution, microbial communities changes) in agricultural acid soils from northern Spain. The mineralization of atrazine and the formation of extractable (atrazine, hydroxyatrazine, deethylatrazine, and deisopropylatrazine) and non-extractable or “bound residues”, as well as the biochemical properties (microbial biomass, soil respiration, soluble carbohydrates, urease, and b-glucosidase activities) were evaluated at different times following atrazine application under both laboratory and field conditions at normal agronomic rates to different soils (organic C, texture and atrazine application history). The results of laboratory and field experiments were consistent and showing that the fate and behaviour of atrazine exhibit different patterns depending on soil characteristics. Rapid microbial degradation through s-triazine ring cleavage was the main decomposition pathway of the atrazine, and its degradation capacity was enhanced by repeated herbicide application. Hydroxyatrazine and deisopropylatrazine were the main metabolites found in the extractable fraction, which demonstrates that both chemical and biological processes are involved in atrazine degradation. Formation of non-extractable residues also represents an important abiotic process for attenuation of the atrazine impact in these acid soils, particularly in soils with high organic matter and clay contents. As consequence of atrazine addition, a variable effect or no effect was observed on most biochemical properties. In contrast, the mineralized C increased notably after herbicide application, that shows clearly that atrazine application at normal agricultural rates may have important implications in the C cycling of acid soils.

Key words: U-ring ¹³C-atrazine, Atrazine degradation, Extractable residues, “Bound” residues, Biochemical properties, Soil pollution.

Dinámica y efectos de la Atrazina en suelos agrícolas de la zona templado húmeda (Galicia, N.O. de España)

Resumen: *El estudio sintetiza los resultados de varios experimentos que examinan el impacto de la dinámica de la atrazina (degradación y*

distribución de residuos, respuesta de la población microbiana) en suelos de cultivo ácidos del Norte de España. Se estudió, bajo condiciones de laboratorio y campo, la mineralización de la atrazina y las fracciones extraíble (atrazina, hidroxiatrazina, desetilatrazina y desisopropilatrazina) y no extraíble ("bound" residues), así como las propiedades bioquímicas (biomasa microbiana, respiración del suelo, carbohidratos solubles, actividades b-glucosidasa y ureasa), a diferentes intervalos de tiempo después de la adición del herbicida en dosis normales de aplicación agronómica, a suelos con diferentes características (contenido de C, textura e historial de aplicación de atrazina). Se observaron resultados similares en los experimentos de laboratorio y campo, mostrando que el destino y comportamiento de la atrazina variaba en función de las características del suelo. La ruta principal de degradación de la atrazina fue la microbiana a través de la rápida ruptura del anillo s-triazínico, siendo la degradación mayor a medida que aumenta el historial de aplicación. Los principales metabolitos encontrados en la fracción extraíble fueron la hidroxiatrazina y la desisopropilatrazina, lo que parece indicar que tanto la degradación química como la biológica están implicadas en la ruta de descomposición de la atrazina. La formación de residuos no extraíbles ("bound" residues) también constituye un importante proceso abiótico de atenuación del impacto de la atrazina, particularmente en el suelo con un elevado contenido de materia orgánica y de arcilla. Como consecuencia de la adición de atrazina se observó un efecto variable o incluso un efecto nulo sobre la mayoría de las propiedades bioquímicas analizadas; por el contrario, la mineralización del C se incrementó considerablemente indicando que la aplicación de atrazina a dosis normales de campo puede tener importantes repercusiones en el ciclo del C de estos suelos ácidos.

Palabras clave: U-ring ^{13}C -atrazina, Degradación de atrazina, Residuos extraíbles y no extraíbles, Propiedades bioquímicas, Contaminación del Suelo.

INTRODUCTION

Atrazine is considered a moderately persistent chemical in the environment with a half-life ranging from a few days to months (Khan and Saidak, 1981; Jones *et al.*, 1982), depending on soil properties, prior application history and agricultural practices (Koskinen and Clay, 1998). However, residues of both the parent compound and its degradation products were detected in soils and surface and ground waters as a consequence of atrazine application (Schiavon, 1988; Sánchez-Camazano *et al.*, 2005). Biotic transformation is considered the major route whereby atrazine is decomposed in most soils (Kaufman y Kearney, 1970; Cook, 1987; Barriuso and Houot, 1996). However, the dechlorination of atrazine to hydroxyatrazine (mainly chemical hydrolysis) is reported as an important pathway of its dissipation in acid soils (Da Silva *et al.*, 2000; Pimentel and Rosim, 2000). Therefore, atrazine

degradation in soils occurs both via chemical and biological processes, resulting in the formation of metabolites such as hydroxyatrazine, deethylatrazine, and deisopropylatrazine, which have a different mobility and toxicity than atrazine and hence also different contamination potential (Barrett, 1996). The presence of these xenobiotic compounds can modify drastically soil microbial communities, thus altering the normal functioning of terrestrial ecosystems, which in turn has important implications for soil fertility and soil quality (Voets *et al.*, 1974; Greaves, 1982; Schäffer, 1993).

In recent years many European countries have restricted or banned the use of atrazine as herbicide due to its persistence in the environment and its toxicological properties. The influence of atrazine on soil microorganisms has been intensively investigated. Soil microorganisms and the process that they govern are essential for long-term sustainability of agricultural systems since they control the breakdown of the C-cycle in Nature and hence the net fluxes and amounts of soil C and nutrients through decomposition, mineralization and immobilization processes (Jenkinson, 1988; Pankhurst *et al.*, 1997). There is therefore concern about the effects of herbicides on soil microbial biomass and activity in order to preserve soil health. Several studies have demonstrated that atrazine may influence the population dynamics of certain microbial groups (Voets *et al.*, 1974; Ostrofsky *et al.*, 1997; Rhine *et al.*, 2003; Ross *et al.*, 2006), although the response of total microbial biomass and activity is less well understood (Wardle and Parkinson, 1990; Ghani *et al.*, 1996; Lin and Brookes, 1999; Accinelli *et al.*, 2002). The application of herbicides to soils induces either inhibitory (e.g., through effects on soil microorganisms) or stimulatory (e.g., through resistant microbes using herbicides as resources) effects on these microbial parameters. A variable effect was also observed depending on soil properties, rate of herbicide applied, and time elapsed after its application (Haney *et al.*, 2002; Moreno *et al.*, 2007). Most of these investigations have shown only short-term laboratory effects following a single herbicide application at large concentrations to non adapted soils. However, in the field, the herbicide is often repeatedly applied at low rate to the same soil for many years (adapted soils). Therefore, the impact of atrazine on microbial biomass and enzymatic activities is still poorly understood since it is difficult to extrapolate the results of laboratory experiments to field conditions.

In Galicia (NW Spain), there is a high potential risk of soil and aquifer contamination with s-triazines, such as atrazine, due to the widespread use of these compounds in agricultural soils, the climatic conditions (abundant precipitation and low temperature) and soil characteristics (sandy texture, acid pH, high organic soil matter content (SOM), low microbial activity). However, despite this interest, there is no information available concerning the impact of s-triazines on soil ecosystems.

The aim of this work was to summarize the main results of laboratory and field studies conducted to examine the impact of atrazine application

on agricultural soils from Galicia, by determining the different fractions of atrazine (mineralized, extractable atrazine and its metabolites, as well as the non-extractable residues) and by measuring functional parameters such as microbial biomass, soil respiration, and enzyme activities specific of N cycle (urease) or C cycle (β -glucosidase).

MATERIAL AND METHODS

The laboratory experiment was performed using two different agricultural soils cultivated with maize, a *Humic Cambisol* (H) (pH 5.6; 24.84 g C kg⁻¹; 2.39 g N kg⁻¹; sandy loam texture; 40 yr of atrazine application history) and a *Gleyic Cambisol* (G) (pH 5.88; 41.12 g C kg⁻¹; 2.79 g N kg⁻¹; sandy clay texture; 10 yr of atrazine application history). Representative samples from both soils, collected from the 0-15 cm Ap horizon before maize planting and atrazine application, were non added and added with U-¹³C-atrazine at field application rate (5 μ g g⁻¹, equivalent to 10 kg atrazine ha⁻¹ assuming 2000 Mg soil ha⁻¹), and incubated under controlled conditions (28 °C, 85 % of field capacity) over a 3-month period. The content of different atrazine fractions (mineralizable, extractable, and non-extractable) and some biochemical properties (microbial biomass C, soil respiration, soluble carbohydrates, b-glucosidase, and urease activities) were measured at different time intervals over the incubation time.

The field experiment was performed with a *Gleyic Cambisol* cultivated with maize under no tillage (NT) and conventional tillage (CT) (pH 5.16-5.85; 40.35-55.55 g C kg⁻¹; 2.71-3.70 g N kg⁻¹; sandy loam texture; 8 yr of atrazine application history) in a complete randomized block design of four plot replicates (20 m x 5 m). In each sampling plot, representative samples were collected from the central rows between the maize plants. Measurements of the content of atrazine and its metabolites in the extractable fraction and of soil enzyme activities (b-glucosidase, urease) were carried out on all soil samples collected before sowing (0 time) and at different time intervals during the maize cropping of two consecutive years (2002 and 2003).

The chemical and biochemical analyses were performed on sieved (<4 mm) and homogenized soils. The content of atrazine (A) and its metabolites (deisopropylatrazine, DIA; deethylatrazine, DEA; hydroxyatrazine, HA) was analysed in methanol/water extracts (70/30, v/v) by HPLC (Ghani *et al.*, 1996) following the procedure described by Mahía *et al.* (2007).

The d¹³C values were measured on finely ground soil samples (<100 mm) by using an elemental analyzer (Carbo Erba CHN 1108) coupled with an isotope ratio mass spectrometer (IRMS, *Finningan Mat*, delta C, Bremen, Germany). The atrazine residues were calculated from the equation:

^{13}C remained atrazine = ^{13}C in soil samples added with atrazine –
 ^{13}C in soil samples without added atrazine.

The percentage of mineralized atrazine was determined as follows:

% atrazine mineralized = 100 - % atrazine remaining in the soil.

The non-extractable residues of atrazine were determined by subtracting the extractable fraction from the remained ^{13}C -atrazine residues.

The microbial biomass C was measured by the fumigation-extraction method (Vance *et al.*, 1987) with some modifications (Basanta *et al.*, 2002) and the soil respiration by measurement of the CO_2 released from the non added and atrazine-added samples throughout 84 days of aerobic soil incubation (Díaz-Raviña *et al.*, 1988). The soluble carbohydrates were determined by colorimetry using a UV-vis spectrometer in hot-water extracts (Puget *et al.*, 1999) by the antrone method (Doutre *et al.*, 1978) and the β -glucosidase and urease activities were analyzed as reported by Eivazi and Tabatabai (1988) and Kandeler and Geber (1988), respectively. A detailed description of soils and experimental set up was given previously (Mahía and Díaz-Raviña, 2007; Mahía *et al.*, 2007, 2008a, 2008b).

RESULTS

Laboratory experiments

Fig. 1 shows the distribution of the atrazine fractions (mineralized, extractable and non-extractable residues) obtained for the soil samples studied during the incubation experiment. A detailed description of the evolution of the extractable atrazine (A) and the dechlorinated (HA) and dealkylated (DIA and DEA) metabolites is shown in Fig. 2. The evolution of CO_2 -C values obtained during the incubation experiment is shown in Fig. 3, whereas the values obtained for other biochemical properties analyzed are given in Table 1.

Field experiments

The distribution of extractable atrazine and its metabolites, as well as soil enzyme activities in the cultivated soil under conventional tillage (CT) and no-tillage (NT) management at different sampling times during two consecutive years are shown in Figs. 4 and 5, respectively.

DISCUSSION

Atrazine degradation

The hydroxyatrazine (HA) was the only atrazine metabolite detected in the extractable fraction from the untreated soils during the 3-month incubation period (Fig. 2). Since soil samples were collected in spring before maize sowing and annual atrazine application, HA levels can be ascribed to the residue accumulations from previous applications (1-40 yr). The data indicated that the persistence in soils of HA is longer in soils than either atrazine or its dechlorinated degradation products. Similar results were reported by other authors and were attributed to HA strong retention by soil and its relatively slow degradation (Winkelmann and Klaine, 1991; Assaf and Turco,

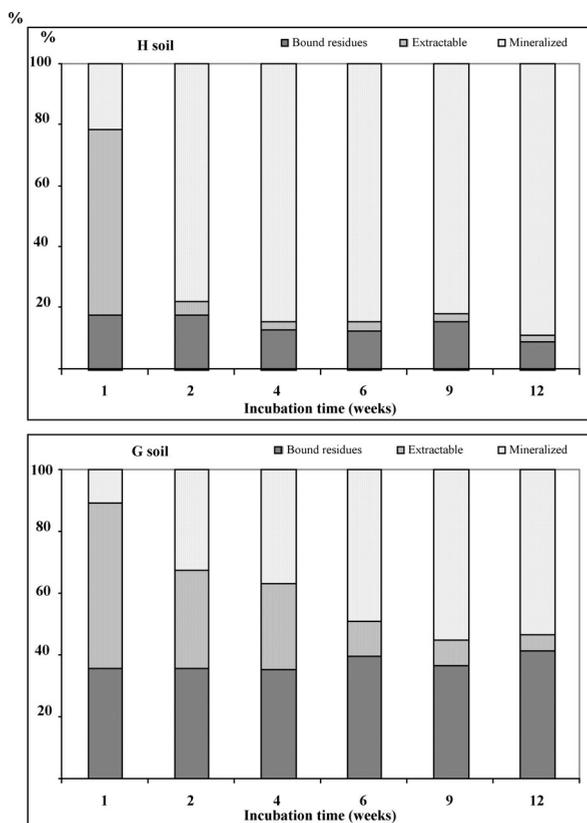


Figure 1. Distribution of atrazine in mineralized, extractable and non-extractable or “bound residues” fractions on a percentage basis in two contrasting agricultural soils (H and G soils) over the 12 wk incubation period. (Data taken from Mahía and Díaz-Raviña, 2007).

1994; Peixoto *et al.*, 2000). Marked fluctuations in the content of the parent compound and its intermediate products were observed following atrazine application (Fig. 2). The laboratory experimental data showed that after 1 wk, atrazine accounted for 9 to 20 % of the initial concentration and its degradation products for 33 to 58 %, the DIA content being 10 to 16 times higher than that of HA. These results indicated that the first steps of atrazine metabolism were dechlorination (mainly abiotic process), N-dealkylation, and deamination (microbiological processes), which lead to the formation of HA and DIA, respectively. This result is consistent with observations indicating that biotic and abiotic atrazine degradation occurs, with biochemical processes being dominant in some soils (Barriuso and Hout 1996; Gan *et al.* 1996; Kookana *et al.*, 1998; Accinelli *et al.*, 2001).

The content of atrazine and its degradation products tended to decrease during the 12-wk incubation period but a different pattern was observed depending on the nature of compound that was analyzed in each soil. After 2 wk, the extractable residues accounted for 4 % of the initial content (0.2 % A, 2.5 % HA and 1.6% DIA) in H soil and 32 % (17 % A, 2.7 % HA and 12 % DIA) in the G soil. Then, while A and DIA values slightly decreased during the following 2 to 12 wk of incubation in the G soil, undetectable amounts were found in the H soil. At the end of the incubation, 2.5-5 % of total extractable residues were still detected, indicating a residual effect of atrazine 3 months after application. Similar results were observed when the

		Incubation time (wk)			
		3	6	9	12
Microbial C ($\mu\text{g C}^{-1}$)	Hu	79 \pm 9	122 \pm 16	108 \pm 1	122 \pm 20
	Ht	98 \pm 13	126 \pm 26	161 \pm 20	115 \pm 28
	Gu	191 \pm 9	288 \pm 27	209 \pm 55	167 \pm 43
	Gt	198 \pm 10	210 \pm 22	241 \pm 25	122 \pm 45
Carbohydrates* ($\mu\text{g C}^{-1}$)	Hu	76 \pm 1	30 \pm 7	33 \pm 1	38 \pm 1
	Ht	72 \pm 4	20 \pm 2	34 \pm 2	34 \pm 1
	Gu	108 \pm 5	43 \pm 5	53 \pm 1	58 \pm 1
	Gt	118 \pm 11	43 \pm 5	51 \pm 3	53 \pm 2
Glucosidase* ($\mu\text{g p-nitrophenol g}^{-1}$)	Hu	146 \pm 8	90 \pm 4	74 \pm 5	64 \pm 3
	Ht	149 \pm 5	88 \pm 3	70 \pm 8	66 \pm 1
	Gu	223 \pm 18	124 \pm 5	127 \pm 1	104 \pm 2
	Gt	204 \pm 12	132 \pm 2	131 \pm 5	105 \pm 4
Urease* ($\mu\text{g NH}_4^+ \text{g}^{-1}$)	Hu	23 \pm 2	10 \pm 1	11 \pm 1	11 \pm 4
	Ht	27 \pm 4	10 \pm 1	10 \pm 1	13 \pm 1
	Gu	26 \pm 2	14 \pm 1	13 \pm 1	9 \pm 1
	Gt	29 \pm 2	15 \pm 1	12 \pm 1	10 \pm 1

Table 1. Biochemical properties for the untreated (u) and atrazine treated (t) samples from the H and G soils, 3, 6, 9 and 12 wk after incubation (mean values \pm SD). (Mahía *et al.*, 2008, unpublished data).

extractable fraction was analyzed in other agricultural soils under maize cultivation, located in the same temperate humid zone, showing different physico-chemical characteristics and atrazine application history (Mahía *et al.*, 2008b).

The atrazine mineralization as a function of time is shown in Fig. 1. In both soils mineralization rapidly occurred during the first 2-6 weeks of incubation with no initial lag phase and then remained constant (stationary degradation phase) until the end of incubation. This is consistent with other studies showing the presence of an adapted microbial community with the capacity to rapidly mineralize the triazine ring in soils that have frequently received atrazine (Barriuso and Houot, 1996; Ostrofsky *et al.*, 1997; Rousseaux *et al.*, 2001). Differences in the kinetics of the atrazine-ring degradation were however observed between the two studied soils, both the rate and extent of mineralization being lower in the G soil, with 10-yr history of atrazine application, compared with the H soil, with 40-yr history of atrazine treatment. In H soil 78 % of the applied U-¹³C-atrazine was degraded after 2

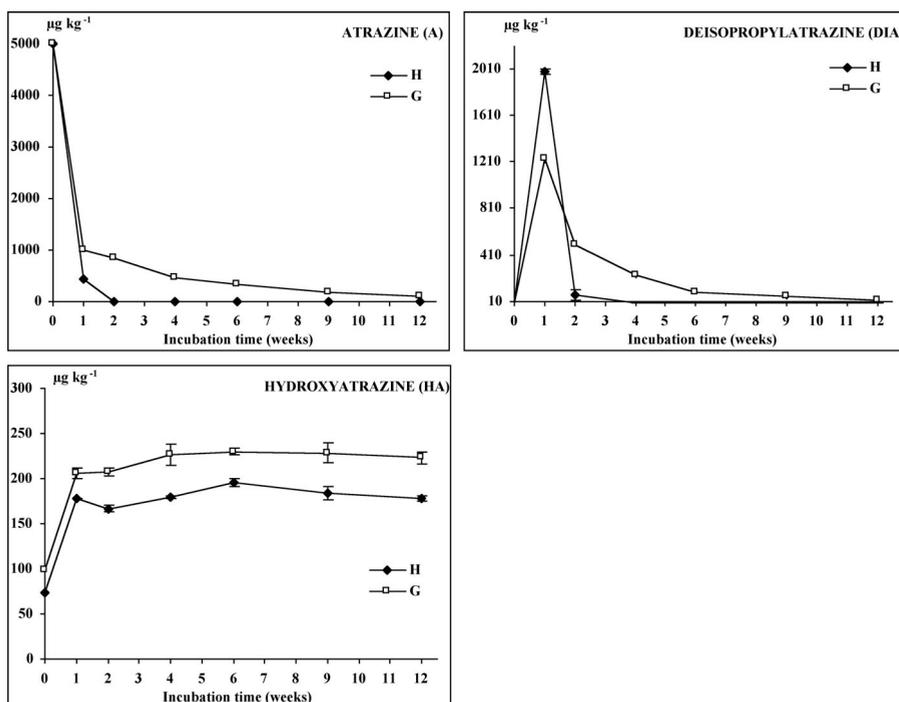


Figure 2. Evolution of atrazine (A), deisopropylatrazine (DIA), and hydroxyatrazine (HA) in the extractable fraction of two contrasting agricultural soils (H and G) added with 5 µg g⁻¹ and incubated during 12 wk (mean values ± SE of three incubation replicates). Deethylatrazine (DEA) was not detected. (Data taken from Mahía and Díaz-Raviña, 2007).

weeks and then this value increased slightly reaching 89 % at the end of incubation. In contrast, in the G soil only 33 % of the applied atrazine was degraded after 2 weeks, and 49 % after 6 weeks and then degradation remained fairly constant until the end of the experiment, when a value of 53 % was observed. These atrazine degradation values were much higher than those obtained in soils with no atrazine application, but are in accordance with the reported range given for soils with similar atrazine application history (Barriuso and Houot, 1996; Ostrofsky *et al.*, 1997; Yassir *et al.*, 1999; Abdelhafid *et al.*, 2000a,b; Houot *et al.*, 2000; Krutz *et al.*, 2003).

The non-extractable (“bound”) residues accounted for 9-18 % and 35-41 % in H and G soils, respectively (Fig. 1). The higher levels exhibited by G soil as compared with H soil can be explained on the basis of soil char-

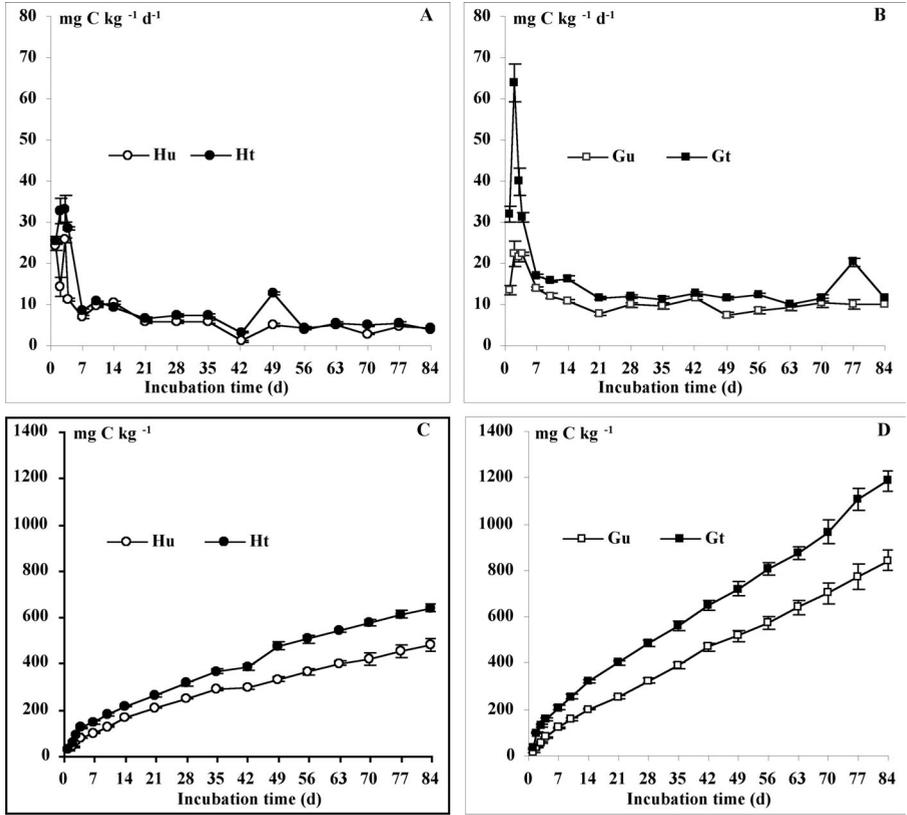


Figure 3. C mineralization in two studied soils as affected by atrazine addition at recommended agronomic dose. Daily (A, B) and cumulative (C, D) C released as C-CO₂ by the untreated (u) and atrazine treated (t) samples from the H and G soils during 12 weeks of aerobic incubation (mean values ± SE). (Data taken from Mahia *et al.*, 2008a).

acteristics such as SOM content (Peixoto *et al.*, 2000; Moorman *et al.*, 2001; Huang *et al.*, 2003) and, to a lesser extent, content and nature of clays (Koskinen and Clay, 1998; Houot *et al.*, 2000). The SOM levels can also partly explain the different evolution of non extractable residues in the two studied soils. In the G soil the content of non-extractable residues hardly changed or even slightly increased with the incubation time, reaching the highest value at the end of the incubation period; in contrast, significant changes over time were observed in the H soil with values at the end of incubation, being 50 % lower than those at week 1 and indicating that non-extractable residues were mobilised. The data are consistent with studies of Huang *et al.* (2003) who found a higher desorption with increasing SOM content. The amount of non-extractable compounds are consistent with data of both extractable and degraded fractions indicating that the potential contamination of soil and water is higher for G soil than for H soil. It is well known that non-extractable residues at high concentrations represent a high potential risk (diffuse pollution) for environmental contamination when they are mobilised (Gan *et al.*, 1996). The relatively high levels of non extractable atrazine “bound” residues found in the studied soils suggest that further investigations should be addressed to investigate the possible long-term effects of non-extractable atrazine residues as well as whether these residues can be mobilised over time under natural conditions.

Results of the experiments under laboratory conditions were confirmed under field conditions. During the maize cultivation-period marked fluctuations in the amounts of atrazine and its degradation products were observed in the 0-5 cm depth of the cultivated layer particularly in the NT treatment, which is consistent with the higher application concentration of atrazine (a pre-emergence and additionally a post-emergence rate when required) (Fig. 4). HA was the main metabolite detected in the soils before maize sowing. Thus, although a significant dissipation of this metabolite occurred between the two consecutive growing seasons (the levels in 2002 were two times higher than those in 2003), the high range of values indicated a long persistence of HA in soils. As expected, atrazine application to soil increased notably the content of atrazine and its metabolites in the extractable fraction, particularly in 2003 when higher rates were used. The evolution of these xenobiotic compounds during maize cultivation showed that atrazine content tended to diminish and its metabolites, particularly HA and DIA, tended to increase, whereas significant amounts of DEA were only detected during maize cultivation in 2002.

HA and DEA were also detected before and 16 wk after maize sowing and atrazine application in the 5-20 cm layer of both NT and CT plots, showing its residual effect and the high potential risk of surface and ground-water pollution (Mahía *et al.*, 2007). The results obtained also indicated that the route of atrazine degradation, and hence the amounts of dealkylated metabolites, derived from biotic processes (DEA and DIA), and the

dechlorinated metabolite, mainly derived from abiotic processes, can differ between years. This may be due to differences in the type and activity of microorganisms involved in atrazine degradation, as consequence of fluctuations in climatic conditions and substrate availability, rather than to differences in the soil physico-chemical properties. It is necessary to point out that only 19-45 % in 2002 and 10-51 % in 2003 of the atrazine originally applied to the soil became extractable (atrazine *plus* metabolites) over a 3-4 months period. These values of extractable compounds are in the reported range given for different soils with similar atrazine application rates (Gan *et al.*, 1996; Gaynor *et al.*, 1998; Chung and Alexander, 2002). The data suggest the existence of “bound” or non-extractable atrazine residues and hence a latent source of pollution due to various factors that can cause their mobilization and presence in the soil solution, which support the results obtained under laboratory conditions.

In conclusion, the results of these laboratory and field experiments showed that, in adapted soils of agricultural areas of Galicia, a rapid microbial degradation through s-triazine ring cleavage (complete degradation or mineralization) is the main pathway of the atrazine and that the repeated annual application of the herbicide enhance the degradation process. HA and DIA were the metabolites found in the extractable fraction, demonstrating that both biotic and abiotic processes are involved in atrazine degradation. However, the formation of “bound” residues also constitute other important abiotic process for the attenuation of atrazine impact in acid soils with relatively high SOM content. Furthermore, by combining the results of analyzed metabolites in the extractable fraction and the percentages of U-¹³C-atrazine (CO₂ production, total degradation) and ethylamine-¹⁵N-atrazine degraded (NH₃ production, partial degradation), the atrazine route in these agricultural soils can be elucidated (Mahía and Díaz-Raviña, 2007).

Microbial response to atrazine addition

Although a significant positive or negative effect could be observed at some incubation time, in general the microbial biomass C values were of the same magnitude order in both untreated and atrazine treated soils indicating that soil microbial biomass was not substantially modified by atrazine addition (Table 1). The results obtained are in agreement with those previously reported showing inconsistent changes or no changes in soil microbial biomass following addition of low atrazine concentrations to soils (Ghani *et al.* 1996; Accinelli *et al.* 2002).

The ratio between soil respiration and microbial biomass, known as specific respiratory rate or metabolic quotient (qCO₂), reflects the physiological status of the microbial community and may be used as indicator of ecosystem stress (Anderson and Domsch 1990). Therefore, differences in qCO₂ values may represent the magnitude of pesticide-induced response (Perucci *et al.*, 2000;

Jones and Ananyeva, 2001). The $q\text{CO}_2$ values calculated for the untreated and treated samples following herbicide application, clearly show that the metabolic quotient cannot be used for evaluating atrazine impact at normal application rates on soil microbial communities (Mahía *et al.*, 2008b). Similar results were obtained on the basis on water-soluble carbohydrates and soil enzyme activities (urease and b-glucosidase) since generally the values detected in two different treatments (untreated and treated with 5 mg atrazine kg^{-1} soil) were quite similar. These results are consistent with those of other studies showing contradictory atrazine effects on several enzyme activities (Voets *et al.*, 1974; Gianfreda *et al.*, 1994; Sannino and Gianfreda, 2001), the effect being rate dependent (Kruglow *et al.*, 1975; Davies and Greaves 1981; Perucci *et al.*, 2000; Moreno *et al.*, 2007).

In agreement with laboratory results, no effect or inconsistent stimulatory or adverse effects on urease and b-glucosidase activities were also observed under field conditions for atrazine application at agronomic rates (Fig. 5). Marked differences for the enzyme activities related with the time of sampling were evident. For example, values for all activities (except for urease in 2003) were higher in samples collected before sowing and atrazine application (0 time) than in the remaining samples collected at different times after sowing and atrazine application. These variations over time are partly due to atrazine application although other factors such as ploughing, addition of other agrochemicals, availability of organic substances derived from roots or from material incorporated to the soil and climatic conditions (temperature, humidity) can not be discarded.

For the CT treatment an initial and significant decrease of 30-45 % in the activity levels was observed 1 week after atrazine application and thereafter values hardly changed over time, whereas for the NT treatment the decrease was of lower magnitude (10-20 %) and not significant. The atrazine rate was higher in NT treatment than in CT treatment since in some years (e.g. 2003) in addition to the first pre-emergence application a post-emergence application was used to control grass weeds. Therefore, the different effects observed in the soil under two tillage systems can be explained by the atrazine application history, the microorganisms of soil under NT treatment being more adapted to atrazine and hence showing a lower response than those of soil under CT treatment. This is in accordance with studies of several authors who found a different response of soil microorganisms to atrazine addition in non adapted and adapted soils (Barriuso and Houot, 1996; Abdelhafid *et al.*, 2000b).

In contrast to these negative atrazine effects, urease activity values in 2003 showed a significant increase of 60-69 % with respect to the initial values 1 wk after atrazine application and then values declined until reaching similar levels than those measured before atrazine application. The obtained results under both laboratory and field conditions suggest that the soluble carbohydrates and the two enzyme activities studied are unsuitable means for assessing the

effects of atrazine on these soil ecosystems since inconsistent adverse or stimulatory effects were observed depending on the enzyme activity measured and the sampling year. This is in agreement with numerous field and laboratory studies showing conflicting and contradictory results due to the difficulty of establishing the cause-and-effect relationships between pesticide nature and enzyme activities (Davies and Greaves, 1981; Schäffer, 1993; Gianfreda *et al.*, 1994; Sannino and Gianfreda, 2001; Accinelli *et al.*, 2002; Haney *et al.*, 2002).

The daily and cumulative curves for the CO₂-C released from the untreated and atrazine treated soils during the 12 weeks of incubation are showed in Fig. 3. A similar atrazine effect was observed independently of the soil considered; thus, during the experiment, the daily release of CO₂-C was generally higher

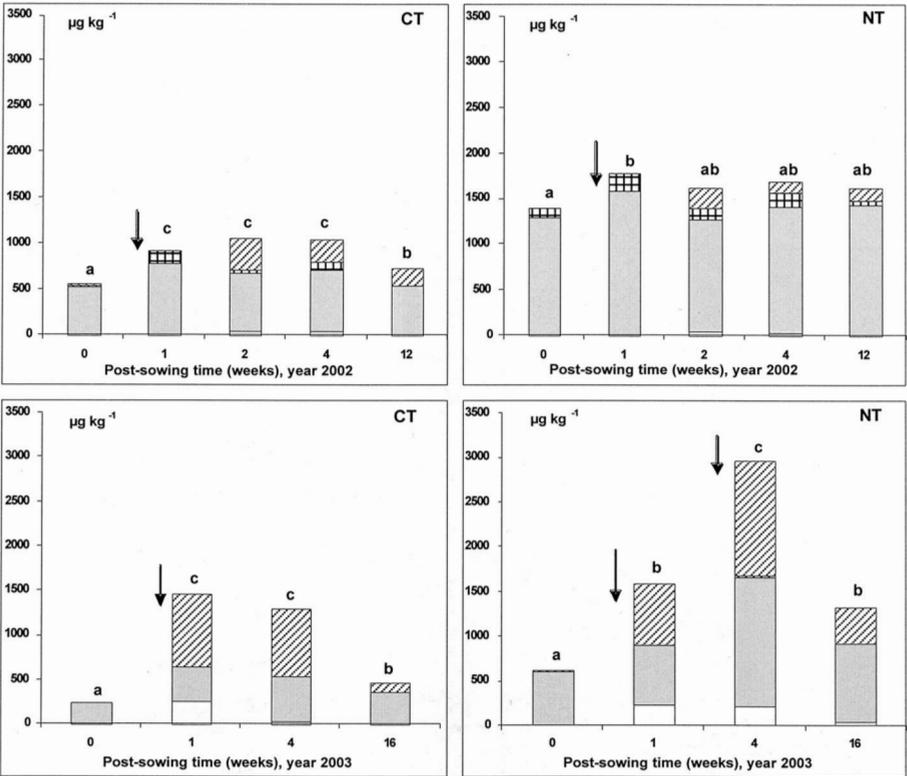


Figure 4. Atrazine and its metabolite concentrations in the 0-5 cm layer of a soil under conventional tillage (CT) and no-tillage (NT) management at different sampling times (0, 1, 2, 4, 12, and 16 wk) after maize sowing and atrazine application (↓). Atrazine (□); Hydroxyatrazine (▨); Deethylatrazine (▧); Deisopropylatrazine (▩). Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) in the total content of the extractable compounds. (Data taken from Mahía *et al.*, 2007).

for the soil added with atrazine compared with that of the corresponding untreated soil, this effect being more accentuated in the treated G soil than in the treated H soil. For both soils, the increase was more marked during the first week, then the effect decreased gradually but it was maintained in a lesser extent over all the incubation period indicating a long lasting atrazine residual effect on soil microbial communities. Such an effect was quite surprising since as, previously indicated, most recently added atrazine was rapidly degraded. Thus, the results showed the possible long-term effects of xenobiotic organic compounds on soil microorganisms even after most of the original molecules have disappeared, which is in agreement with the findings of Perucci *et al.* (2000).

At the end of the incubation, the cumulative mineralized C values were significantly higher in the soil samples treated with atrazine compared to those in the corresponding untreated samples indicating that respiration was markedly affected by atrazine addition in both soils. The net increase of C mineralized caused by the atrazine addition after 12 weeks of incubation reached values of 160 mg CO₂-C kg⁻¹ dry soil in the H soil and 344 mg CO₂-C kg⁻¹ dry soil in the G soil, which represented 33 % and 41 %, respectively, of the C mineralized by the corresponding untreated samples (Fig. 3).

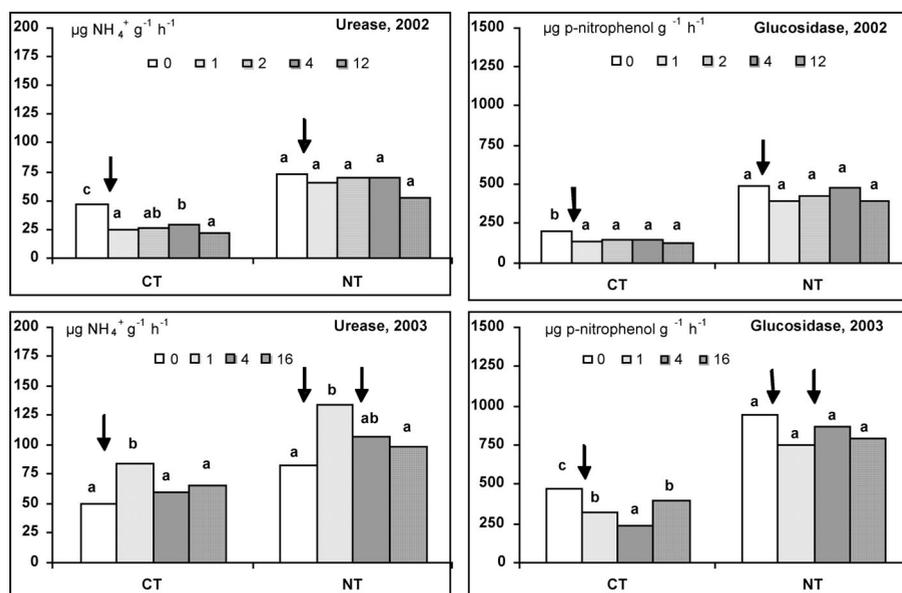


Figure 5. Enzyme activities in the 0-5 cm layer of a cultivated soil under conventional tillage (CT) and no-tillage (NT) management at different sampling times (0, 1, 2, 4, 12, and 16 wk) after maize sowing and atrazine application (\downarrow). For each soil management different letters indicate significant differences ($p < 0.05$). (Data taken from Mahía *et al.*, 2007).

The more significant effect of atrazine in the G soil having higher SOC content and shorter atrazine history, may be partly due to the fact that microorganisms in this soil are less adapted to the herbicide, and hence exhibited a greater response to the herbicide application (Rhine *et al.*, 2003). A stimulatory effect of atrazine application at normal agricultural rates on soil respiration was also reported by others (Ghani *et al.*, 1996; Accinelli *et al.*, 2002), although in these studies the enhancement of CO₂-C did not exceed 20 mg CO₂-C kg⁻¹ dry soil, and the effect did not last for more than 20 days. According to De Nobili *et al.* (2001) a priming effect can be induced by trace concentrations (*i.e.*, in the order of mg g⁻¹ quantities) of appropriate “trigger solutions”. Thus, a possible explanation for the results here obtained is that atrazine and/or its degradation metabolites either act directly as “trigger molecules” or induce their progressive release from native SOM over all the incubation period. A more detailed explanation for this surprising and marked positive change in the rate of degradation of SOM following the addition of the herbicide at agronomic rates is given by Mahía *et al.* (2008a).

Combining the information derived from the different microbial properties analyzed it can be concluded that atrazine not only affects the target organisms (weeds) but also the microbial community present in agricultural soils from temperate humid zone with 8-40 yr of annual herbicide treatment. Thus, recently added atrazine at agronomic rate does not substantially alter most soil biochemical properties (microbial biomass C, b-glucosidase, urease, soluble carbohydrates) but notably increased C mineralization. The results clearly show that the application of atrazine at normal field rates may have important implications on C and nutrient cycles and hence on the fertility of acid soils with a previous atrazine application history. Nowadays there is considerable awareness of how soil management (land use) affects soil quality and interest in the effects of changes in C mineralization rates on the feedback processes within the global C cycle, specially soil C-sequestration; therefore, more studies concerning the measurement of several microbial activities and some parameters measuring microbial diversity should be performed in order to improve the understanding of herbicide impacts on SOM degradation and to determine if results here obtained can be extrapolated to a wide range of soils. The data also indicated that C mineralization rather than microbial biomass-C and enzyme activities should be used to detect soil quality changes induced by atrazine addition.

CONCLUSIÓN

Results confirm that atrazine degradation and its effects on soil microbial communities are important aspects for assessing the environmental impact of herbicide application. Thus, since microbial respiration and dynamics of atrazine (degradable, extractable atrazine and its metabolites, non-extractable or “bound” residues) results show a residual effect of the herbicide over time

periods up to 3-12 months, atrazine application to agricultural acid soils of temperate humid zone should be performed with precaution.

Acknowledgements. This study was supported by *Secretaría Xeral de Investigación e Desenvolvemento da Xunta de Galicia* (Project PGIDT01P XI40002PR) and by Spanish *Ministerio de Ciencia e Innovación* (Project AGL2005-05726-C02-01).

REFERENCES

- Abdelhafid R., Houot S. and Barriuso E. 2000a. Dependence of atrazine degradation on C and N availability in adapted and non-adapted soils. *Soil Biol. Biochem.*, 32: 389-401.
- Abdelhafid R., Houot S. and Barriuso E. 2000b. How increasing availabilities of carbon and nitrogen affect atrazine behaviour in soils. *Biol. Fertil. Soils*, 30: 333-340.
- Accinelli C., Giovanni D., Vicari A. and Catizone P. 2001. Atrazine and metalachlor degradation in subsoils. *Biol. Fertil. Soils.*, 33: 495-500.
- Accinelli C., Screpanti C., Dinelli G. and Vicari A. 2002. Short-time effects of pure and formulated herbicides on soil microbial activity and biomass. *Int. J. Environ. An. Ch.*, 82: 519-527
- Anderson J.M. and Domsch K.H. 1990. Application of eco-physiological quotients (qCO₂ and qD) on microbial biomass from soils of different cropping histories. *Soil Biol. Biochem.*, 22: 251-255.
- Assaf N.A. and Turco R.F. 1994. Influence of carbon and nitrogen application on the mineralization of atrazine and its metabolites in soil. *Pestic. Sci.*, 41: 41-47.
- Barrett M.R. 1996. The environmental impact of pesticide degradates in groundwater. In: M.T. Meyer and E.M. Thurman (eds.). *Herbicide Metabolites in Surface Water and Groundwater*. ACS Symp Ser 630. American Chemical Society, Washington D.C. Pp.: 200-225.
- Barriuso E. and Houot S. 1996. Rapid mineralization of the s-triazine ring of atrazine in soils in relation to soil management. *Soil Biol. Biochem.*, 28: 1341-1348.
- Basanta M.R., Díaz-Raviña M., González-Prieto S.J. and Carballas T. 2002. Biochemical properties of forest soils as affected by a fire retardant. *Biol. Fertil. Soils*, 36: 377-383.
- Chung N. and Alexander M. 2002. Effect of soil properties on bioavailability and extractability of phenanthrene and atrazine sequestered in soil. *Chemosphere*, 48: 109-115.
- Cook A.M. 1987. Biodegradation of s-triazine xenobiotics. *FEMS Microbiol. Rev.*, 46: 93-116.
- Da Silva M.F., Lavorenti A., Borges J. and Tornisielo V.L. 2000. Degradation and formation of ¹⁴C-atrazine bound residues in soils of Sao Paulo State. *Scientia Agricola*, 57: 147-151.

- Davies H. and Greaves M.P. 1981. Effects of some herbicides on soil enzyme activities. *Weed Res.* 21: 205-209.
- De Nobili M., Contin M., Mondini C. and Brookes P.C. 2001. Soil microbial biomass in triggered into activity by trace amounts of substrate. *Soil Biol. Biochem.*, 32: 1163-1170.
- Díaz-Raviña M., Carballas T. and Acea M.J. 1988. Microbial biomass and metabolic activity in four acid soils. *Soil Biol. Biochem.*, 20: 817-823.
- Doutre D.A., Hay G.W., Hood A. and Vanloon G.W. 1978. Spectrophotometric methods to determine carbohydrates in soil. *Soil Biol. Biochem.*, 10: 457-462.
- Eivazi F. and Tabatabai M.A. 1988. Glucosidases and galactosidases in soils. *Soil Biol. Biochem.*, 20: 601-606.
- Gan J., Becker R.L., Koskinen W.C. and Buhler D.D. 1996. Degradation of atrazine in two soils as a function of concentration. *J. Environ. Qual.*, 25: 1064-1072.
- Gaynor J.D., MacTavish D.C. and Labaj A.B. 1998. Atrazine and metolachlor residues in brookston CL following conventional and conservation tillage culture. *Chemosphere*, 36: 3199-3210.
- Ghani A., Wardle D.A., Rahman A. and Lauren D.R. 1996. Interaction between ¹⁴C-labelled atrazine and the soil microbial biomass in relation to herbicide degradation. *Biol. Fertil. Soils*, 21: 17-22
- Gianfreda L., Sannino F., Ortega N. and Nannipieri P. 1994. Activity of free and immobilized urease in soil: effects of pesticides. *Soil Biol. Biochem.*, 26: 777-784.
- Greaves M.P. 1982. Effect of pesticides on soil microorganisms. In: R.G. Burns and J.H. Slater (eds.). *Experimental Microbial Ecology*. Blackwell, Oxford. Pp.: 613-630.
- Haney R.L., Senseman S.A., Krutz L.J. and Hons F.M. 2002. Soil carbon and nitrogen mineralization as affected by atrazine and glyphosate. *Biol. Fertil. Soils*, 35: 35-40.
- Houot S., Topp E., Yassir A. and Soulas G. 2000. Dependence of accelerated degradation of atrazine on soil pH in French and Canadian soils. *Soil Biol. Biochem.*, 32: 615-625.
- Huang G., Li Q. and Zhang X. 2003. Adsorption and desorption of atrazine by three soils. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 71: 655-661.
- Jenkinson D.S. 1988. Determination of microbial biomass carbon and nitrogen levels in soils. En: J.R. Wilson (ed.). *Soil Biochemistry*. CAB International, Wallingford, Pp.: 368-386.
- Jones T.W., Kemp W.M., Stevenson J.C. and Means J.C. 1982. Degradation of atrazine in estuary water/sediments and soils. *J. Environ. Microbiol.*, 45: 97-102.
- Jones W.J. and Ananyeva N.D. 2001. Correlations between pesticide transformation rate and microbial respiration activity in soil of different ecosystems. *Biol. Fertil. Soils*, 33: 477-483

- Kandeler E. and Gerber H. 1988. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biol. Fertil. Soils*, 6: 68-72.
- Kaufman D.D. and Kearney P.C. 1970. Microbial degradation of s-triazine herbicides. *Residue Rev.*, 32: 235-265.
- Khan S.U. and Saidak W.J. 1981. Residues of atrazine and its metabolites after prolonged usage. *Weed Res.*, 21: 9-12.
- Kookana R.S. Baskaran S. and Naidu R. 1998. Pesticide fate and behaviour in Australian soils in relation to contamination and management of soil and water: a review. *Aust. J. Soil Res.*, 36: 715-764.
- Koskinen W.C. and Clay S.A. 1998. Factors affecting atrazine rate in North Central U.S. Soils. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 151:117-165.
- Kruglow J.W., Gersz N.B., Piercewa A.N., Bay-Bienko N.W. and Michajlowa E.I. 1975. The effect of long-term herbicide application on microflora and some biochemical processes in soil. *Roczniki Gleboznawcze*, 26: 159-164.
- Krutz L.J., Senseman S.A. and Haney R.L. 2003. Effect of Roundup Ultra on atrazine degradation in soil. *Biol. Fertil. Soils*, 38: 115-118.
- Lin Q. and Brookes P.C. 1999. Comparison of substrate induced respiration, selective inhibition and biovolume measurements of microbial biomass and its community structure in unamended, ryegrass-amended, fumigated and pesticide-treated soils. *Soil Biol. Biochem.*, 31: 199-2004.
- Mahía J. and Díaz-Raviña M. 2007. Atrazine degradation and residues distribution in two acid soils from temperate humid zone. *J. Environ. Qual.*, 36: 826-831.
- Mahía J., Martín A., Carballas T. and Díaz-Raviña M. 2007. Atrazine degradation and enzyme activities in an agricultural soil under two tillage systems. *Sci. Total Environ.*, 378: 187-194.
- Mahía J., A. Cabaneiro, T. Carballas and M. Díaz-Raviña 2008a. Microbial biomass and C mineralization in agricultural soils as affected by atrazine addition. *Biol. Fertil. Soils*, 45, 99-105.
- Mahía J., Martín A. and Díaz-Raviña M. 2008b. Extractable atrazine and its metabolites in agricultural soils from the temperate humid zone. *Environ. Geochem. Health.*, 30: 147-152.
- Moorman T.B., Jayachyran K. and Reungsang A. 2001. Adsorption and desorption of atrazine in soils and subsurface sediments. *Soil Sci.*, 166: 921-929.
- Moreno J.L., Aliaga A., Navarro S., Hernández T. and García C. 2007. Effects of atrazine on microbial activity in semiarid soil. *Appl. Soil Ecol.*, 35:120-127.
- Ostrofsky, E.B., Traina S.J. and Tuovinen O.H. 1997. Variation in atrazine mineralization rates in relation to agricultural management practices. *J. Environ. Qual.*, 25: 572-577.
- Pankhurst C.E., Doube B.M. and Gupta V.V.S.R. 1997. Biological indicators of soil health. Synthesis. In: C.E. Pankhurst, B.M. Doube and V.V.S.R. Gupta (eds.) *Biological Indicators of Soil Health*. CAB International, Wallingford. Pp.: 19-435.

- Peixoto M.F., Lavorenti A., Regitano B. and Luiz Torniselo V.L. 2000. Degradação e formação de resíduos ligados de ^{14}C -atrazina em Latossolo Vermelho Escuro e Glei Húmico. *Sci. Agr.*, 57, nº 1.
- Perucci P., Dumontet S., Bufo S.A., Mazzatura A. and Casucci A. 2000. Effects of organic amendment and herbicide treatment on soil microbial biomass. *Biol. Fertil. Soils*, 32: 17-23
- Pimentel B. and Rosim R. 2000. Degradação de ^{14}C -atrazina em solo sob codicoes semicontroladas. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 45: 12 pp.
- Puget P., Angers D.A. and Chenu C. 1999. Nature of carbohydrates associated with water-stable aggregates of two cultivated soils. *Soil Biol Biochem.*, 31: 55-63.
- Rhine E.D., Fuhrmann J.J. and Radosevich M. 2003. Microbial community responses to atrazine exposure and nutrient availability: linking degradation capacity to community structure. *Microb. Ecol.*, 46: 145-160.
- Ross M., Goberna M., Moreno J.L., Hernández T., García C., Insam H. and Pascual J.A. 2006. Molecular and physiological bacterial diversity of a semiarid soil contaminated with different levels of formulated atrazine. *Appl. Soil Ecol.*, 34: 93-102.
- Rousseaux S., Hartmann A. and Soulas G. 2001. Isolation and characterisation of new Gram-negative and Gram-positive atrazine degrading bacteria from different French soils. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 36: 211-222.
- Sánchez-Camazano M., Lorenzo L.F. and Sánchez-Martín M.J. 2005. Atrazine and alachlor inputs to surface and ground waters in irrigated corn cultivation areas of Castilla-León Region, Spain. *Environ. Monit. Assess.*, 105: 11-24.
- Sannino F. and Gianfreda L. 2001. Pesticide influence on soil enzymatic activities. *Chemosphere*, 45: 417-425.
- Schäffer A. 1993. Pesticide effects on enzyme activities in the soil ecosystem. In: J.M. Bollag and G. Stotzky (eds.). *Soil Biochemistry 8*. Marcel Dekker, New York, 273-341 pp.
- Schiavon M. 1988. Studies of the leaching of atrazine, of its chlorinated derivatives, and of hydroxyatrazine from soil using ^{14}C ring-labelled compounds under outdoor conditions. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 15: 46-54.
- Vance E.D., Brookes P.C. and Jenkinson D.S. 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass. *Soil Biol. Biochem.*, 19: 703-707.
- Voets J.P., Meerschman P. and Verstraete W. 1974. Soil microbiological and biochemical effects of long-term atrazine applications. *Soil Biol. Biochem.*, 6: 149-152.
- Wardle D.A. and Parkinson D. 1990. Effects of three herbicides on soil microbial biomass and activity. *Plant and Soil*, 122: 21-28.
- Winkelmann D.A. and Klaine S.J. 1991. Degradation and bound residue formation of four atrazine metabolites, deethylatrazine, de-isopropylatrazine, dealkylatrazine and hydroxyatrazine, in a western Tennessee soil. *Environ. Toxicol. Chem.*, 10: 347-354.
- Yassir A., Lagacherie B., Houot S. and Soulas G. 1999. Microbial aspects of atrazine biodegradation in relation to history of soil treatment. *Pest. Sci.* 55: 799-809.

PRESENCIA DE HIDROCARBUROS DE PETRÓLEO EN AGUA DE MAR

Adriana Mangani, Alicia Marchiaro y María Isela Gutiérrez

Departamento de Química, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Comodoro 9000 Rivadavia (Argentina). E-mail: <isela@unpata.edu.ar>.

Resumen: La contaminación del ambiente marino por extracción, transporte o derrames accidentales de petróleo crudo es uno de los factores de mayor riesgo para los ambientes costeros patagónicos, principalmente en el Golfo San Jorge (provincias de Chubut y Santa Cruz, Argentina) donde la explotación de petróleo es el recurso económico más importante en la actualidad. El objetivo del trabajo fue encontrar las mejores condiciones para determinar la presencia de hidrocarburos de petróleo en agua de mar empleando espectrometría de emisión de fluorescencia. Además, se emplearon en forma complementaria espectrometría de absorción UV-Vis y cromatografía de gases. A efectos de optimizar las condiciones para preparar muestras sintéticas de petróleo en agua de mar se planearon una serie de experimentos de acuerdo a un diseño factorial completo 2^3 con dos puntos centrales y dos réplicas. Para confirmar si la espectrometría de fluorescencia resulta una técnica precisa y lo suficientemente sensible se analizaron muestras extraídas de Caleta Córdova ($45^\circ 43' S$; $67^\circ 31' O$; provincia del Chubut), donde ocurrió un derrame de petróleo el 26 de Diciembre de 2007. Los resultados obtenidos demuestran que la medición de la emisión de fluorescencia es un método adecuado para, en forma rápida y económica, evaluar la presencia de petróleo de la cuenca del Golfo San Jorge en agua de mar.

Palabras clave: Petróleo crudo, diseño óptimo experimental, fluorescencia, matrices de excitación-emisión, Patagonia, Argentina.

Presence of petroleum hydrocarbons in seawater

Abstract: Discharges of crude oil into the sea during extraction or transportation is the major source of pollution in the marine environment in San Jorge gulf (Chubut and Santa Cruz Provinces, Argentina), where petroleum exploitation is the most important economic resources. The aim of the study was to optimize the determination of petroleum hydrocarbons in seawater employing fluorescence spectroscopy. Also, UV-Vis absorption spectroscopy and gas chromatography were employed to obtained complementary information. A 2^3 full factorial design with two center points and two replicates was used for screening the factors that affect the preparation of artificial samples of crude oil in seawater. In order to evaluate the accuracy and sensitivity of fluorescence spectroscopy, oil spill samples collected from the coastal environment in

Caleta Córdova (45° 43' S; 67° 31' W, in Chubut Province) in the day of one oil spill (December 26, 2007) were analysed. Results show that the measurement of fluorescence can be used to detect, in a fast and economic way, hydrocarbons present in the water soluble fraction of crude oils from San Jorge gulf field.

Key words: Crude oil, design of experiments, fluorescence, excitation-emission matrices, Patagonia, Argentina.

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad la explotación de petróleo es el recurso económico más importante en la región patagónica central de Argentina, donde se encuentra la cuenca del Golfo San Jorge (entre los 43° y 47° de latitud Sur), compartida por las provincias de Chubut y Santa Cruz (Fig. 1). En la cuenca, de un área total estimada en unos 200.000 km², se producen alrededor de 40.000 m³ de petróleo por día (Petrotecnia, 2008).

En la ciudad de Comodoro Rivadavia, ubicada aproximadamente en el centro del Golfo San Jorge, el sistema portuario incluye los muelles del puerto central (45° 52' S; 67° 29' O), el muelle General Mosconi (45° 50' S; 67° 28' O) en el cual se descargan derivados de petróleo, el puerto Caleta Olivares (45° 46' S; 67° 22' O) destinado a la carga del petróleo crudo extraído en la zona y el puerto de Caleta Córdova (45° 43' S; 67° 31' O) en el que operan buques pesqueros costeros y lanchas de apoyo a la monoboya de Caleta Olivares.

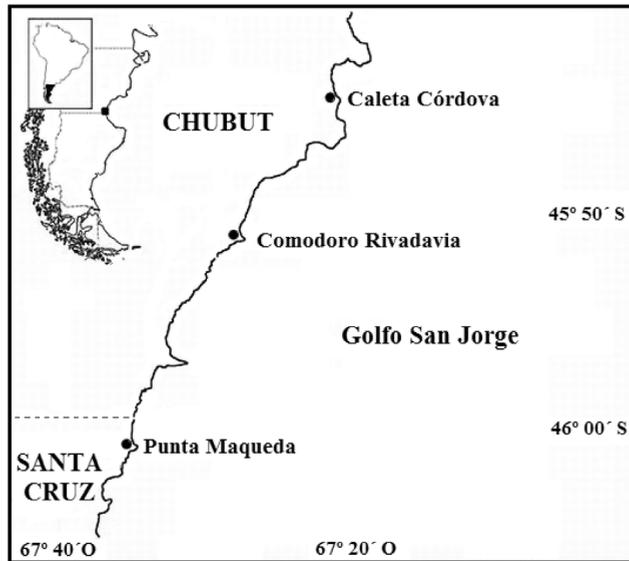


Figura 1. Localización geográfica de los sitios de muestreo en el Golfo San Jorge (R. Argentina).

Si bien por factores económicos y legales ha aumentado la seguridad en los procesos de extracción y transporte de petróleo, el derrame accidental y las fugas de hidrocarburos en el suelo y agua, con el consiguiente daño ecológico sobre el entorno, continúan siendo inevitables. Estos accidentes ocurren por condiciones naturales extremas, fallas técnicas o errores humanos (Scory, 2005).

Los valores de hidrocarburos en sedimentos y en agua reportados sobre el Golfo San Jorge se encuentran entre los mayores en América del Sur (Commendatore y Esteves, 2007; Barra *et al.*, 2007). Por ejemplo, en la zona de Comodoro Rivadavia existen alrededor de 15.000 pozos activos y en un período de un año (2004-2005) se han reportado más de 400 derrames de petróleo, la mayoría debidos a fallas por corrosión en los materiales, observándose las principales manchas de petróleo en los acantilados costeros (Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable, 2006).

El peor accidente registrado últimamente en la zona ocurrió en la madrugada del 26 de Diciembre 2007 en Caleta Córdova, cuando varios kilómetros de costa quedaron cubiertos de petróleo. Se estima, en base a las pericias judiciales llevadas a cabo, que se derramó un volumen total del orden de unos cientos de metros cúbicos de petróleo crudo y derivados, liberados por una falla en una boca de lastre en un buque petrolero. El incidente no fue reportado (a pesar de que se exige a las empresas informar sobre cualquier siniestro que provoque algún perjuicio al medio ambiente). La fauna de la zona, principalmente aves y lobos marinos, y la economía local (basada en actividades pesqueras) resultaron seriamente perjudicadas (Fundación Patagonia Natural, 2008). Dado que el tiempo de recuperación del petróleo derramado en el mar es en general elevado diversas fracciones de hidrocarburos pueden pasar al agua con el consiguiente peligro para el ambiente marino.

Existe abundante información sobre la determinación, toxicidad y degradación del petróleo en agua de mar; sin embargo, las concentraciones relativas de los compuestos de petróleo dependen del tipo y la naturaleza del petróleo y de las condiciones ambientales a las que es expuesto (Nicodem *et al.*, 1997; Groner *et al.*, 2001; Taban *et al.*, 2004; Scory, 2005). En nuestro grupo de trabajo hemos abordado el estudio de distintos aspectos relacionados con la degradación de hidrocarburos en el ambiente, principalmente empleando sistemas modelo (Gutiérrez *et al.*, 1994; Gutiérrez *et al.*, 1995; Gutiérrez *et al.*, 1998; Gutiérrez, 2002) y recientemente empleando muestras sintéticas preparadas con petróleo crudo extraído en la zona (Mangani *et al.*, 2008).

El análisis de muestras complejas de hidrocarburos por métodos tradicionales, tales como la cromatografía en fase gaseosa (GC) o líquida, suele demandar tiempo, instrumental costoso e impiden que los procesos de degradación del petróleo sean analizados en tiempo real. Resulta altamente deseable disponer de métodos alternativos precisos, rápidos y económicos.

La espectrometría de emisión de fluorescencia cumple con estas condiciones y ha sido empleada desde hace años para analizar diferentes tipos de crudos (Thruston y Knight, 1971; Phillip y Soutar, 1976; Groner *et al.*, 2001; Christensen *et al.*, 2005). Sin embargo, la fluorescencia del petróleo depende de su composición química y debido, además, a la presencia en aguas naturales de otros compuestos fluorescentes (tales como sustancias húmicas), la identificación y cuantificación de la contaminación por hidrocarburos de petróleo en aguas naturales por fluorescencia suele ser complicada (Groner *et al.*, 2001).

En este trabajo se prepararon muestras sintéticas para evaluar si la espectrometría de emisión de fluorescencia resulta una técnica adecuada para la determinación de hidrocarburos de petróleo disueltos en agua de mar. Las muestras se prepararon considerando un diseño factorial 2^3 con inclusión de observaciones en el nivel medio de los factores. Estos diseños presentan las ventajas de producir experimentos más eficientes, permitir obtener información sobre los factores e interacciones entre los mismos, estimar el error experimental y evaluar si el modelo lineal de superficie de respuesta es adecuado (Kuehl, 2001; Ávila *et al.*, 2005).

El objetivo del estudio fue encontrar las condiciones óptimas para la determinación mediante métodos luminiscentes de la presencia de hidrocarburos de petróleo de la cuenca del Golfo San Jorge disueltos en agua de mar y su aplicación al análisis de muestras naturales extraídas en la zona de un derrame de petróleo crudo al mar.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Sitios de muestreo

Las muestras de agua de mar fueron recogidas frente a la costa de Punta Maqueda ($46^{\circ} 01' S$; $67^{\circ} 35' O$) alejada de la actividad portuaria y sin descargas de origen antropogénico y a unos 2 km de la costa de Caleta Córdova ($45^{\circ} 45' S$; $67^{\circ} 21' O$). En todos los casos las muestras fueron recogidas con anterioridad al 26 de Diciembre de 2007.

Las muestras correspondientes a un sitio contaminado por un derrame de petróleo fueron tomadas el día del incidente y seis meses después frente a la costa de Caleta Córdova. Se recogieron 5 muestras de agua de mar a intervalos regulares a lo largo de la costa.

La toma de muestras se realizó según los métodos recomendados por la UNESCO (1992).

2.2. Instrumentación

Los espectros de absorción se determinaron empleando un espectrofotómetro Agilent 8453 (*Agilent Technologies*, Alemania) con una lámpara de deuterio y una de tungsteno como fuentes de excitación y un detector de fotodiodos realizando barridos espectrales entre 190 y 1100 nm con una resolución espectral de 1 nm.

Los espectros de emisión, sincrónicos y las matrices de excitación-emisión se obtuvieron empleando un espectrofluorómetro Jasco FP6200 (*Jasco Co.*, Japón) con un lámpara de xenón como fuente de excitación, un tubo fotomultiplicador como detector y un ancho de banda de 5 nm para la excitación y emisión. Se empleó la geometría convencional de 90°. Para obtener las matrices de excitación-emisión se realizaron espectros de emisión mediante barrido espectral de 270 a 500 nm con un incremento de 1 nm, variando la longitud de onda de excitación desde 260 a 450 nm con un incremento de 5 nm y una diferencia de longitud de onda fija (DI) de 10 nm a una velocidad de 8000 nm min⁻¹. El coeficiente de variación de los máximos e intensidades de fluorescencia (I) fue de 0,15 % y 2,5 %, respectivamente. Se controló la estabilidad del espectrofluorómetro analizando la emisión Raman a 282 nm (I_{excitación} = 260 nm) que no presentó desviación significativa durante el período de análisis (I = 0,7353 ± 0,0017; n = 20).

En forma complementaria se empleó un cromatógrafo de gases Konik 3000 HRGC (*Konik*, España) equipado con un inyector *split/splitless* y un detector de ionización de llama (*FID*). Los componentes fueron separados en una columna RTX-1 (*Restek Corp.*, EE. UU.) de 30 m de longitud con un diámetro interno de 0,53 mm y un espesor de película de 1 mm. Las condiciones de trabajo se fijaron de acuerdo al método EPA (2003). La temperatura del horno se incrementó desde 70 °C hasta 300 °C (mantenida por 10 min) con una velocidad de calentamiento de 10 °C min⁻¹. Se empleó nitrógeno (calidad cromatográfica) como gas portador a una presión constante de 170,3 kPa y como gas auxiliar para el detector *FID*. Se emplearon aire sintético e hidrógeno (ambos calidad cromatográfica suministrados por *Air Liquid*) como gases detectores con un flujo de 0,25 y 0,04 L min⁻¹, respectivamente. El volumen inyectado fue de 1 µL, la temperatura del inyector se mantuvo a 230 °C y la del detector a 280 °C.

2.3. Preparación de las muestras

En el laboratorio se filtraron 15 L de agua de mar de cada sitio de muestreo, empleando un filtro de papel (*Schleicher & Schuell* 0859, rango de retención: 7-12 µm) y posteriormente una membrana Millipore 0,45 mm. El agua de mar filtrada se almacenó a 4 °C.

La muestra de petróleo crudo fue gentilmente suministrada por la empresa *Epsilon S.R.L.* y corresponde a una mezcla de crudos proveniente de distintos

yacimientos de la cuenca del Golfo San Jorge lista para embarcar y posterior exportación. El petróleo posee una densidad a 15 °C de 0,9250 g mL⁻¹ y un porcentaje de sólidos y de agua (por Karl-Fisher) de 0,029 y 0,7394 % v/v, respectivamente.

Se utilizaron *n*-hexano y diclorometano grado HPLC provistos por Merck como solventes de extracción.

Volúmenes fijos de petróleo se agregaron a 400 mL de agua de mar y se agitaron en recipientes de vidrio durante varias horas con un agitador magnético Zeltec modelo MS-5 o un agitador con movimiento orbital Vicking M-23. Cada muestra se introdujo en un embudo de decantación y se adicionaron 10 mL de *n*-hexano. Una vez agitada durante 30 min con un agitador Precytec modelo AE-29 se dejó reposar hasta observar la separación de las dos fases. Se recogieron la fase orgánica y la fase acuosa por separado. La fracción soluble en *n*-hexano fue analizada mediante CG, espectrometría UV-Vis y de emisión de fluorescencia. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado. Cada medida de emisión de fluorescencia fue repetida 3 veces como mínimo.

Para las determinaciones por CG 5 mL de extracto se concentraron a temperatura ambiente con una corriente de nitrógeno hasta un volumen de 0,5 mL.

Para las mediciones de absorbancia y fluorescencia 1 mL del extracto se diluyó con *n*-hexano a 10 mL en un matraz aforado. Se empleó una celda espectrofluorométrica de cuarzo de 1 cm de paso óptico.

Se realizaron muestras de control de agua de mar con ausencia y presencia de petróleo almacenadas en ausencia de luz durante 6, 12 y 18 meses. Las muestras se guardaron a temperatura ambiente o a 11 °C, temperatura promedio anual del agua de mar en superficie registrada en la zona (CEADO, 2008).

El material empleado fue tratado de acuerdo a las recomendaciones de la UNESCO (1992).

2.4. *Diseño experimental*

En una primera aproximación, con el objetivo de determinar que condiciones experimentales producen mayores áreas bajo los espectros de emisión de fluorescencia y áreas totales en los cromatogramas, se decidió emplear un diseño factorial N^k, siendo N = 2, el número de niveles y k = 3, el número de factores, consistente en ocho experimentos con dos puntos centrales y dos réplicas. Se realizaron en total 20 experimentos.

Para poder identificar los factores significativos que afectan la preparación de las muestras sintéticas de petróleo en agua de mar se decidió evaluar (en base a experiencias previas) el efecto de los siguientes factores: a) volumen

de petróleo agregado a 400 mL de agua de mar (A, en mL); b) tiempo de contacto (B, en horas); y c) tipo de agitador (C), bien magnético (M) o con movimiento orbital (O). La influencia de cada variable sobre las respuestas analizadas se evaluó variando cada factor entre los niveles codificados presentados en la Tabla 1.

Dado que las interacciones entre estos factores pueden ser importantes, se postuló un modelo polinómico lineal con interacciones de primer y segundo orden:

$$y = b_0 + b_A x_A + b_B x_B + b_C x_C + b_{AB} x_A x_B + b_{AC} x_A x_C + b_{BC} x_B x_C + b_{ABC} x_A x_B x_C \quad (1)$$

donde y es la respuesta analizada, b_0 es el promedio de las respuestas experimentales; b_A , b_B y b_C son los efectos principales de las variables codificadas x_A , x_B y x_C respectivamente; b_{AB} , b_{AC} y b_{BC} son efectos de las interacciones de primer orden (entre dos variables) y b_{ABC} es el efecto de segundo orden de las interacciones entre las tres variables codificadas.

Las respuestas medidas fueron el área bajo los espectros de emisión de fluorescencia (y_1) y el área de todos los picos de cada cromatograma (y_2). Estas áreas proporcionan una medida cuantitativa de la cantidad de compuestos totales extraídos y se consideraron adecuadas para evaluar la fracción soluble en agua de mar.

Una vez establecidas las condiciones óptimas para la preparación y extracción de las muestras se prepararon por duplicado muestras sintéticas, agregando 5 mL de petróleo en 400 mL de agua de mar filtrada. Al emplear esta relación de volumen de petróleo con respecto al volumen total de agua se obtiene una película uniforme de petróleo. Las muestras fueron agitadas durante 6 h. Estas muestras fueron analizadas inmediatamente o bien almacenadas en la oscuridad a temperatura ambiente y a 11 °C durante 6, 12 y 18 meses.

El método optimizado fue aplicado al análisis de muestras reales extraídas de una zona contaminada por un derrame reciente de hidrocarburos de petróleo.

Tabla 1. Factores y niveles experimentales del diseño experimental factorial 2³.

Factor	Nivel		
	2	3	4
A: volumen de petróleo/mL	2	3	4
B: tiempo de contacto/horas	6	9	12
C: tipo de agitador*	M	-	O
	-1	0	1

* M: agitador magnético; O: agitador con movimiento orbital.

2.5. Control analítico

Se controló la eficiencia de los métodos de análisis empleando patrones que fueron medidos bajo las mismas condiciones que las utilizadas para las muestras. Los patrones fueron naftaleno y antraceno (99 %) suministrados por Sigma-Aldrich para espectrometría de emisión de fluorescencia y el patrón químico de calibración de bajo punto de ebullición N° 220 (*Agilent Technologies*, EEUU) que contiene los siguientes *n*-alcanos: dodecano (21,1 %), hexadecano (10,9 %), tetradecano (10,8 %), decano (10,3 %), pentano (8,8 %), heptadecano (5,5 %), pentadecano (5,4 %), undecano (5,2 %), nonano (5,1 %), octano (4,9 %), heptano (4,8 %), *n*-hexano (4,7 %) y octadecano (2,4 %).

Se determinó el límite de detección de acuerdo al criterio 3δ , siendo δ la desviación estándar de la ordenada en el origen (ACS, 1980).

Para las determinaciones por espectrometría de emisión de fluorescencia se obtuvieron diversas rectas de calibración ($r > 0,999$, $n = 10$) al correlacionar I ($I_{\text{excitación}} = 280 \text{ nm}$) con las concentraciones ensayadas de naftaleno ($I_{\text{emisión}} = 335 \text{ nm}$) y antraceno ($I_{\text{emisión}} = 398 \text{ nm}$), en un rango, en ambos casos, entre 1 a 100 mg mL⁻¹ y con un límite de detección de 0,15 mg mL⁻¹.

Para los análisis por GC se empleó una solución del patrón químico de calibración en *n*-hexano; en concreto se seleccionaron los picos correspondientes a dos de los compuestos mayoritarios, *n*-dodecano y *n*-tetradecano, obteniéndose rectas con valores de $r > 0,999$ ($n = 4$) y un límite de detección de 0,50 mg mL⁻¹.

2.6. Métodos estadísticos

La generación y análisis de los experimentos factoriales y los análisis de regresión, así como la separación de medias se llevaron a cabo con el programa *MINITAB*® (Versión 14.20). Los espectros de fluorescencia se procesaron empleando los programas del paquete *Spectra Manager* 1.53 (Jasco Co., Japón).

La evaluación del posible efecto de los factores experimentales en relación al área bajo los espectros de emisión de fluorescencia, así como la determinación de la significación estadística de dichos factores, se determinó mediante análisis de varianza (ANOVA). Para facilitar la interpretación de los resultados se analizaron los gráficos de probabilidad, de residuales, de Pareto, de efectos principales y de interacción.

3. RESULTADOS

3.1. Optimización de la preparación de muestras sintéticas

La determinación de mezclas de hidrocarburos disueltos es altamente sensible a las condiciones en las cuales se lleva a cabo la toma de muestras en un ambiente natural, la preparación de muestras sintéticas y a los procedimientos de extracción. Por esta razón inicialmente se prepararon y analizaron muestras en distintas condiciones experimentales.

Se empleó *n*-hexano o diclorometano como disolvente de extracción y se probaron distintas diluciones hasta ajustarlas a la sensibilidad del espectrofluorómetro y del cromatógrafo de gases. Se decidió emplear *n*-hexano.

Como se indicó anteriormente, para evaluar las mejores condiciones para preparar muestras sintéticas de petróleo en agua de mar se decidió emplear un diseño factorial 2^3 . El diseño factorial, incluyendo los niveles de cada factor y los resultados de cada experimento se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Diseño factorial (2^3).

Nº experimento ^a	Orden estándar ^b	x_A	x_B	x_C	y_1^c	y_2^d
1	6	1	-1	1	1047,89	2141
2	19	0	0	-1	6767,82	11759
3	17	0	0	-1	6774,53	12309
4	7	-1	1	1	881,22	7108
5	9	-1	-1	-1	2383,72	1067
6	16	1	1	1	519,19	1310
7	5	-1	-1	1	675,88	3106
8	8	1	1	1	1834,62	2420
9	18	0	0	1	1509,28	10260
10	3	-1	1	-1	7767,82	2899
11	10	1	-1	-1	9712,41	8648
12	14	1	-1	1	2498,41	1499
13	11	-1	1	-1	9283,46	2919
14	20	0	0	1	1313,29	11344
15	15	-1	1	1	948,45	7005
16	13	-1	-1	1	2310,91	4497
17	12	1	1	-1	2324,27	2208
18	4	1	1	-1	2955,60	3634
19	2	1	-1	-1	8101,22	8890
20	1	-1	-1	-1	1592,40	2061

^a Orden experimental.

^b Orden estándar en la matriz del diseño.

^c Área bajo el espectro de fluorescencia.

^d Área total del cromatograma CG.

Según las condiciones experimentales en las cuales se prepararon las muestras sintéticas las áreas de los espectros de emisión de fluorescencia (y_1) y las áreas totales de los cromatogramas (y_2) presentan variaciones en el orden 5×10^2 - 1×10^4 y 1×10^3 - 1×10^4 , respectivamente.

Los coeficientes del modelo polinómico (Ecuación 1) y su efecto sobre las respuestas experimentales se muestran en la Tabla 3. Un valor negativo en el efecto indica que el área medida disminuye cuando el factor cambia del nivel menor al mayor. Los valores p ($<0,05$) indican que la variable C y la interacción de primer orden entre las variables A y B y la interacción de segundo orden tienen un efecto significativo sobre el área de los espectros de emisión de fluorescencia obtenidos. El área de todos los picos de los cromatogramas (y_2) depende principalmente de las interacciones de primer orden entre las variables.

Las diferencias observadas en las tendencias de las dos respuestas pueden deberse al hecho de que, en las condiciones experimentales del análisis, la espectrometría de emisión y la cromatografía de gases brindan información sobre distintos tipos de hidrocarburos presentes en la fracción soluble en agua de mar y deben ser consideradas como técnicas complementarias.

Las combinaciones de tratamientos de un diseño factorial 2^3 pueden representarse gráficamente mediante un cubo, como el mostrado en la Fig. 2 con los resultados obtenidos para la respuesta y_1 .

Tabla 3. Efectos y coeficientes estimados para el área bajo los espectros de emisión de fluorescencia (y_1) y el área total de los cromatogramas (y_2); unidades codificadas.

Término	y_1		y_2	
	Efecto	Coeficiente (ES)	Efecto	Coeficiente (ES)
<i>constante</i>		3427 (204)		3838 (162)
x_A	394	197 (204)	11	5 (162)
x_B	-226	-113 (204)	-301	-150 (162)
x_C	-4412	-2206 (183)*	-570	-285 (144)
$x_A^*x_B$	-3206	-1603 (204)*	-2601	-1300 (162)*
$x_A^*x_C$	-123	-61 (204)	-3598	-1799 (162)*
$x_B^*x_C$	-361	181 (204)	1951	975 (162)*
$x_A^*x_B^*x_C$	3197	1598 (204)*	996	498 (162)
	$R^2= 96,12\%$		$R^2= 98,40\%$	

* significativo $p <0,05$, ES: error estándar.

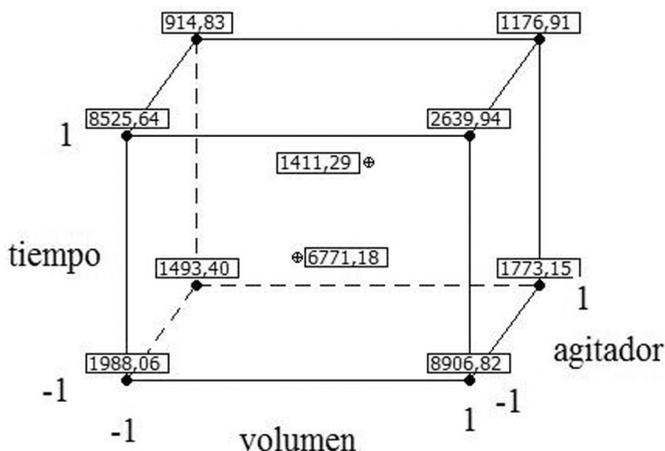


Figura 2. Gráfico cúbico (datos de la media) para y_1 (área de los espectros de emisión de fluorescencia).

El empleo de un agitador magnético aumenta considerablemente la respuesta. Por otra parte, el hecho de aumentar el tiempo de contacto no afecta de forma significativa el área de los espectros de emisión, pero su efecto depende del volumen de petróleo agregado al de agua de mar. Además, el efecto de cada variable depende de las condiciones fijadas de las otras dos.

Como se observa en la Tabla 2 y en la Fig. 2 las mayores áreas de los espectros de emisión de fluorescencia se obtuvieron cuando las muestras se prepararon con 4 mL de petróleo y se agitaron durante 6 horas empleando un agitador magnético (valores máximos en los experimentos 11 y 19). Si se agitan con un agitador orbital las respuestas decrecen considerablemente, aunque el tiempo de contacto (experimentos 4 y 15) o la cantidad de petróleo en la muestra (experimentos 3 y 4) sean mayores.

Las mayores áreas totales de los cromatogramas se obtuvieron en los puntos centrales del diseño (experimentos 2, 3, 9 y 14). Los resultados del análisis ANOVA muestran que las interacciones entre dos factores son estadísticamente significativas.

Una vez establecidas las condiciones óptimas para la preparación y extracción de las muestras, se prepararon por duplicado muestras sintéticas, agregando 5 mL de petróleo en 400 mL de agua de mar filtrada. Al emplear esta relación de volumen de petróleo con respecto al volumen total de agua se obtiene una película uniforme de petróleo. Las muestras fueron agitadas durante 6 h. Estas muestras fueron analizadas inmediatamente o bien almacenadas en la oscuridad a temperatura ambiente y a 11 °C durante 6, 12 y 18 meses.

3.2. Espectros de absorción

Se determinaron los espectros de absorción UV-Vis del agua de mar filtrada, de su fracción soluble extraíble en *n*-hexano y de las muestras sintéticas empleando *n*-hexano como blanco. El agua de mar filtrada no presenta absorbancia por debajo de los 200 nm.

El espectro normalizado de absorción UV-Vis para una muestra recién preparada se presenta en la Fig. 3.

Los espectros de absorción de todas las muestras de petróleo extraídas con *n*-hexano analizadas no presentan absorbancia por debajo de los 400 nm. Se observan picos a 220 y 260 nm y un pico no resuelto entre 280 y 300 nm, que disminuye en las muestras almacenadas.

3.3. Espectros de emisión

Dado que en el agua de mar existen compuestos fluorescentes por la presencia de materia orgánica disuelta de distinto origen (Hudson *et al.*, 2007) se determinaron los espectros de emisión de fluorescencia y las matrices de excitación-emisión de todas las muestras de agua de mar empleadas y del *n*-hexano empleado en las extracciones. Los resultados obtenidos indican

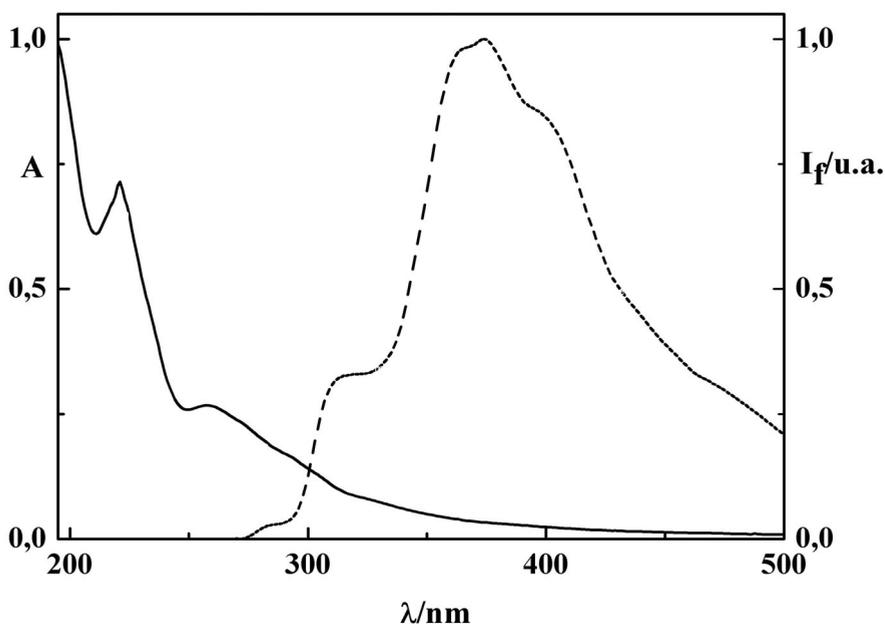


Figura 3. Espectros normalizados de absorción UV-visible de la fracción soluble de petróleo en agua de mar (línea continua) y de emisión de fluorescencia ($\lambda_{exc} = 260$ nm, línea punteada). Solvente: *n*-hexano.

que la fluorescencia del solvente y de la fracción extraíble en *n*-hexano del agua de mar es escasa (Fig. 4, A).

Se determinaron los espectros de emisión de fluorescencia, los espectros sincrónicos a distintos valores de DI (10, 20 y 40) y las matrices de excitación-emisión de todas las muestras sintéticas.

En la Fig. 3 se puede observar el espectro normalizado de emisión de fluorescencia de la fracción extraída con *n*-hexano para una muestra típica. Empleando una longitud de onda de excitación de 260 nm los espectros de emisión presentan máximos picos alrededor de 360 nm y 374 nm y picos no resueltos, más o menos pronunciados, entre 400 y 480 nm. La dilución posterior de las soluciones dio lugar a una disminución de la intensidad de fluorescencia. Se pueden observar diferencias entre las intensidades relativas de fluorescencia de los picos de las muestras recién preparadas y las correspondientes a las muestras almacenadas durante 18 meses. En general, la relación entre las intensidades de fluorescencia en los máximos (360/374) disminuye con el tiempo.

Las matrices de excitación-emisión fueron convertidas en gráficos de curvas de nivel (Fig. 4). Esta representación en dos dimensiones es de gran interés, ya que proporciona información sobre la variación de la intensidad de fluorescencia con las longitudes de onda de excitación (I_{exc}) y de emisión (I_{em}).

Resultados similares se obtuvieron al analizar las matrices de excitación-emisión para las muestras almacenadas durante 18 meses. Las intensidades máximas de fluorescencia disminuyen hasta aproximadamente un 30 % y se define un pico en la zona 270/330. No se observó influencia significativa de la temperatura de almacenamiento de las muestras, probablemente debido a que la diferencia entre la temperatura del agua de mar y la temperatura ambiente no afecta los procesos de transformación que sufren los componentes del petróleo.

3.4. Muestras de un derrame de petróleo

Las condiciones de extracción y análisis determinadas a partir del estudio de muestras sintéticas fueron empleadas para analizar las muestras extraídas cuando la marea negra ocasionada por el derrame (mencionado en la Introducción) alcanzó la costa.

Se determinaron los espectros de absorción, de emisión de fluorescencia, sincrónicos y las matrices de excitación-emisión. La forma de los espectros de absorción UV-Vis son similares a los obtenidos para las muestras sintéticas analizadas inmediatamente después de la extracción, aunque las muestras tomadas en la zona del derrame presentan menores absorbancias.

También se observan similitudes entre los espectros de emisión de fluorescencia y de las muestras sintéticas y las recogidas en la zona del derrame.

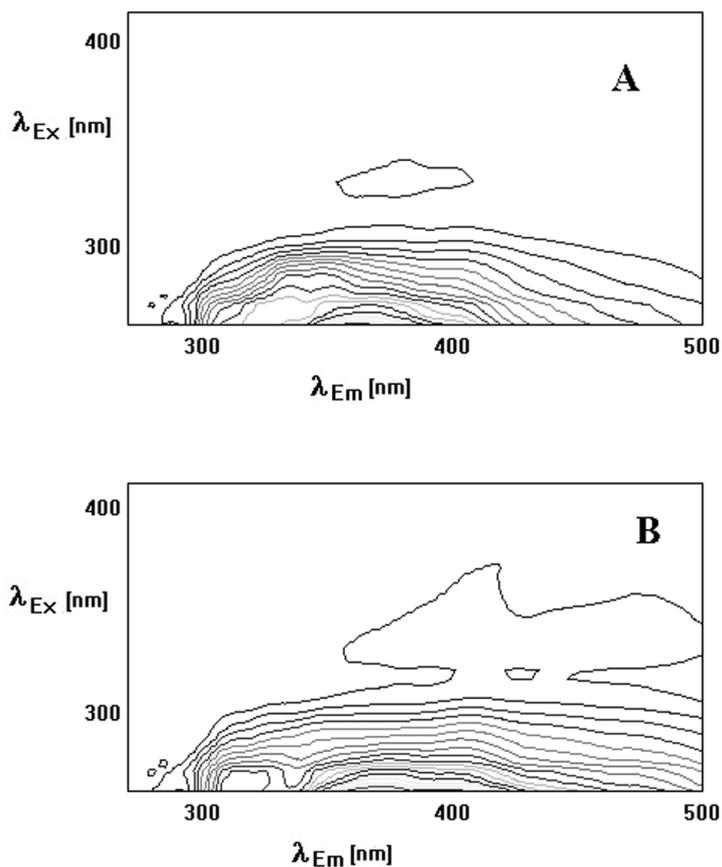


Figura 4. Gráfica de curvas de nivel del espectro de luminiscencia total de la fracción extraíble de petróleo en agua de mar (solvente de extracción *n*-hexano) para muestras sintéticas, recientemente preparadas (A) y almacenadas seis meses a temperatura ambiente (B).

Las gráficas de curvas de nivel se muestran en la Fig. 5 (A). Además, se evaluaron muestras tomadas 6 meses después de las operaciones de limpieza de la costa (Fig. 5 (B)).

Las intensidades de fluorescencia registradas son menores que las obtenidas en las matrices de excitación-emisión de las muestras sintéticas.

En el caso de las muestras recogidas 6 meses después del derrame, una vez finalizada la limpieza de la costa, las intensidades de los espectros de emisión son muy bajas y las curvas de nivel presentan semejanzas con las obtenidas para el agua de mar filtrada.

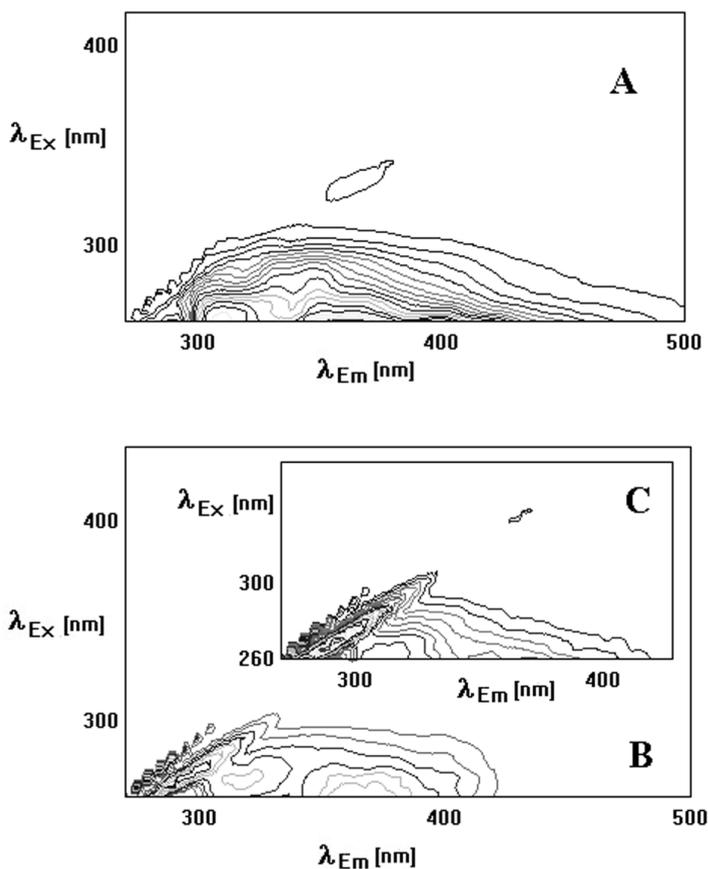


Figura 5. Gráfica de curvas de nivel del espectro de luminiscencia total de la fracción soluble de petróleo en agua de mar (solvente de extracción *n*-hexano) para muestras naturales de la misma zona, recogidas el día de un derrame de petróleo (A) y seis meses después (B). Inserto en (B): Blanco de agua de mar (C).

4. DISCUSIÓN

El petróleo extraído de la Cuenca del Golfo San Jorge es de color oscuro, viscoso, de elevada densidad y presenta una composición mixta, que incluye compuestos cíclicos y aromáticos. Cuando el petróleo entra en contacto con el agua de mar algunos componentes del mismo son extraídos por la fase acuosa. La determinación individual de estos componentes resulta difícil por tratarse de una mezcla compleja y requiere del empleo de técnicas combinadas, tales como cromatografía en fase gaseosa o líquida y espectrometría de masas (Ali *et al.*, 1995; Wang y Fingas, 1997; Reddy y Quinn, 1999; Stout *et al.*, 2001).

En este trabajo se empleó CG como una técnica complementaria. Para la identificación tentativa de los picos obtenidos en los cromatogramas se utilizó un patrón mezcla de hidrocarburos alifáticos lineales. Los resultados obtenidos para una muestra típica se presentan en la Fig. 6.

La composición en función del número de átomos de carbono (para hidrocarburos alifáticos lineales) de la fracción de *n*-hexano (Fig. 6, A) presenta componentes en el rango C12-C32, con los componentes mayoritarios en el rango C23-C25. Al comparar los resultados obtenidos se observa que en la muestra inicial (columnas grises) existen compuestos más livianos que desaparecen en las muestras almacenadas (columnas negras). Con el tiempo aumenta la fracción de hidrocarburos más pesados, presentando componentes mayoritarios en C25 y C30. Se realizaron observaciones similares en todas las muestras analizadas.

El análisis de las muestras por CG puede brindar información complementaria acerca de la presencia y transformación de componentes no fluorescentes del petróleo, tales como hidrocarburos alifáticos.

Desde hace varios años se han empleado métodos basados en la fluorescencia para el análisis de petróleo y se ha determinado en general que las pérdidas por evaporación de los componentes volátiles de petróleo no son significativos al evaluar la fluorescencia del mismo (Thruston y Knight, 1971).

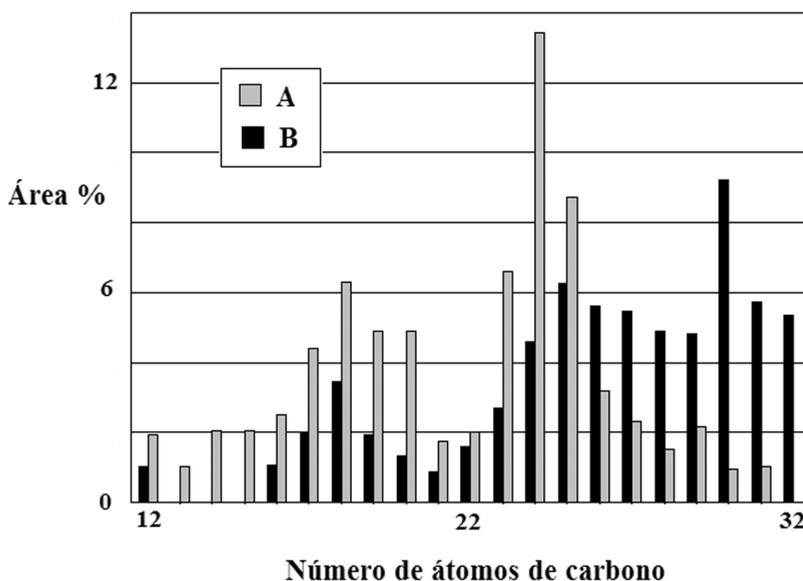


Figura 6. Composición de la fracción soluble en agua de mar de petróleo para una muestra recién preparada (A) y una almacenada durante un año (B) empleando cromatografía de gases.

La fluorescencia del petróleo se debe a la presencia de una amplia variedad de compuestos aromáticos policíclicos (PAHs), tales como naftaleno, fenantreno, fluoreno y criseno (Wang *et al.*, 1999).

La emisión de fluorescencia ha sido empleada para estudiar la contaminación por hidrocarburos de sedimentos y del agua de mar en la zona costera de la Patagonia Argentina (Esteves y Commendatore, 1993; Commendatore y Esteves, 2007). Estos estudios, mediante el empleo de patrones, han permitido cuantificar la cantidad total de hidrocarburos.

Los resultados obtenidos empleando un diseño factorial completo permitieron evaluar las condiciones óptimas para preparar muestras sintéticas, las cuales fueron empleadas para analizar la emisión de fluorescencia de la fracción soluble en agua de mar del petróleo crudo de la cuenca del Golfo San Jorge. Se determinó la configuración de factores que maximizan los resultados, siendo el tipo de agitador empleado el factor determinante. Además, los valores obtenidos para los coeficientes b_{AB} y b_{ABC} (Tabla 3) indican que las interacciones entre variables existen y confirman la complejidad del proceso de extracción de componentes de petróleo crudo por agua de mar.

El empleo de técnicas basadas en la emisión de los componentes del petróleo que se disuelven en agua de mar, principalmente las matrices de excitación-emisión, es útil para obtener información relevante con relación a la composición de mezclas complejas (Beltrán *et al.*, 1998; Christensen *et al.*, 2005; Muroski *et al.*, 2005).

Los espectros de luminiscencia total de las Fig. 4 y 5 muestran la señal de luminiscencia como una función de las longitudes de onda de excitación y de emisión y cada curva representa una intensidad particular de fluorescencia. La topografía de las curvas de nivel es influenciada por la composición química de la fracción soluble en agua de mar del petróleo. Se observa que las mayores intensidades de fluorescencia de una muestra sintética recién preparada aparecen al excitar alrededor de 260 nm y con emisión alrededor de 370 nm (Fig. 4, A). En la muestra almacenada a temperatura ambiente durante 6 meses (Fig. 4, B) se observa la aparición de un pico menos intenso a una longitud de onda de excitación y emisión alrededor de 270 y 320 nm, respectivamente. Además, la intensidad máxima de fluorescencia presenta un 25 % de reducción en el pico 260/370. Las muestras almacenadas hasta por 18 meses presentan matrices de excitación-emisión similares. La atenuación general de la intensidad de fluorescencia observada con el tiempo puede deberse a la transformación de las especies fluorescentes en compuestos que no presentan emisión; sin embargo, la fluorescencia sigue siendo todavía importante, probablemente debido a que la degradación de algunos componentes es compensada por la disolución de nuevos compuestos fluorescentes, la cual se es favorecida por el tiempo de contacto y modifica a su vez las curvas de nivel.

En la muestra tomada el día del derrame (Fig. 5, A), se observa que la intensidad de fluorescencia máxima es aproximadamente un 75 % menor que las de las muestras sintéticas, pero poseen una topografía de curvas de nivel similar, sugiriendo la presencia de hidrocarburos del mismo tipo que los observados en las muestras preparadas con petróleo listo para embarcar. Este hecho se corresponde con las conclusiones a las que llegaron los expertos intervinientes, sobre el origen del derrame ocurrido en Diciembre de 2007 fue el vertido de petróleo crudo por un buque carguero.

La interpretación de los espectros de fluorescencia de diferentes muestras debe tener en cuenta distintos aspectos, tales como los efectos de solvente y la posible interacción de los hidrocarburos presentes (Apicella *et al.*, 2004). Por esta razón siempre se empleó el mismo solvente y los espectros obtenidos no pueden ser comparados directamente con otros obtenidos en diferentes condiciones y con otro tipo de petróleo.

La zona afectada por el derrame fue limpiada por remoción mecánica del petróleo de la superficie del mar y de la costa. Se llevó a cabo la recuperación de petróleo principalmente con camiones que lo aspiraron y transportaron; se aplicaron barreras para aguas profundas y costa; y limpieza manual en la playa.

Se puede observar claramente (Fig. 5, B) que las curvas de nivel son diferentes para la muestra tomada el día del derrame y la muestra recogida 6 meses después en la misma zona. No se observa fluorescencia por encima de los 420 nm y la intensidad de fluorescencia máxima es sólo un 10 % de la observada para la muestra de la Fig. 5 (A) y aparece a una longitud de onda de excitación y emisión alrededor de 270 y 280 nm, respectivamente, y presenta una topografía comparable a la del blanco de agua de mar (Fig. 5,C). Esta considerable reducción en la intensidad de fluorescencia y el cambio en las curvas de nivel, indicaría que las medidas llevadas a cabo para remediar la zona afectada han resultado efectivas.

La variación relativa de las intensidades de los máximos y de los picos no resueltos observados en los espectros de emisión de fluorescencia y en las matrices de excitación-emisión confirman las observaciones de Thruston y Knight (1971) sobre la importancia de recoger cuanto antes las muestras después de que ocurre un derrame de hidrocarburos a efectos de poder identificar el origen del mismo.

Los espectros de absorción UV-Vis obtenidos para todas las muestras, en general poco estructurados, son típicos del petróleo (Mullins *et al.*, 1992). La comparación de los espectros de absorción de las muestras recientemente preparadas y las almacenadas sugiere la presencia de compuestos aromáticos que desaparecen con el tiempo, por procesos tales como biodegradación y fotooxidación (Dutta y Harayama, 2000).

5. CONCLUSIONES

Si bien la fluorescencia es un método que presenta limitaciones (debido a que sólo una fracción de los constituyentes del petróleo son fluorescentes), presenta la ventaja de requerir menores tiempos de análisis para realizar mediciones de campo, menos procesamiento de muestras e instrumentales más robustos, económicos y portátiles.

La medición de la emisión de fluorescencia, principalmente de las matrices de excitación-emisión, puede ser una alternativa para la evaluar la presencia de hidrocarburos de petróleo en agua de mar, por ser un método rápido, sensible y adecuado para el petróleo de la cuenca del Golfo San Jorge.

Los resultados obtenidos confirman la importancia de recolectar cuanto antes las muestras después de que ocurre un derrame de hidrocarburos a efectos de poder identificar el origen del mismo y la importancia de la limpieza inmediata de las zonas afectadas para evitar la disolución de los hidrocarburos presentes en el petróleo.

Agradecimiento. Se agradece a la empresa Epsilon S.R.L. por haber brindado la muestra de petróleo crudo y sus propiedades y al Patrón de pesca del barco *Juan Manuel*, R. E. Silva, por su colaboración en la recolección del agua de mar.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACS Committee on Environmental Improvement, Sub-committee on Environmental Analytical Chemistry. 1980. *Anal. Chem.* 52: 2242-2249.
- Ali L.N., Mantoura R.F.C. y Rowland S.J. 1995. The dissolution and photodegradation of kuwaiti crude oil in seawater. Part 1: Quantitative dissolution and analysis of the seawater-soluble fraction. *Mar. Environ. Res.*, 40: 1-17.
- Apicella B. Ciajolo A. y Tregrossi A. 2004. Fluorescence spectroscopy of complex aromatic mixtures. *Anal. Chem.*, 76: 2138-2143.
- Ávila A., Sánchez E.I. y Gutiérrez M.I. 2005. Optimal experimental design applied to the dehydrochlorination of poly(vinyl chloride). *Chemometr. Intell. Lab. Syst.*, 77: 247- 250.
- Barra R., Castillo C. y Machado Torres J.P. 2007. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the South American Environment. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 191: 1-22.
- Barron M.G., Carls M.G., Short J.W., Rice S.D., Heintz R.A., Rau M. y Di Giulio R. 2005. Assessment of the phototoxicity of weathered Alaska North Slope crude oil to juvenile pink salmon. *Chemosphere*, 60: 105-110.
- Beltrán J.L., Ferrer R. y Guiteras J. 1998. Multivariate calibration of polycyclic aromatic hydrocarbon mixtures from excitation-emission fluorescence spectra. *Anal. Chim. Acta*, 373: 311-319.

- Brodersen C. 1987. Rapid narcosis and delayed mortality in larvae of king crabs and kelp shrimp exposed to the water-soluble fraction of crude oil. *Mar. Environ. Res.*, 22: 233-239.
- CEADO. Centro Argentino de Datos Oceanográficos. 2008. Servicio de Hidrografía Naval, Armada Argentina <<http://www.hidro.gov.ar/ceado/Ef/crivadav.asp>>.
- Christensen J.H. Hansen A.B., Mortensen J. y Andersen O. 2005. Characterization and matching of oil samples using Fluorescence Spectroscopy and Parallel Factor Analysis. *Anal. Chem.*, 77: 2210-2217.
- Coble P.G. 1996. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. *Mar. Chem.*, 51: 325-346.
- Commendatore M.G. y Luis Esteves J.L. 2007. An Assessment of Oil Pollution in the Coastal Zone of Patagonia, Argentina. *Environ. Manage.*, 40: 814-821.
- Dutta T.K. y Harayama S. 2000. Fate of crude oil by the combination of photooxidation and biodegradation. *Environ. Sci. Technol.*, 34: 1500-1505.
- EPA. 2003. Method 8015D Nonhalogenated organics using GC/FID. US EPA, Washington D. C., 37 pp.
- Esteves J.L. y Commendatore M.G. 1993. Total aromatic hydrocarbons in water and sediment in a coastal zone of Patagonia, Argentina. *Mar. Poll. Bull.*, 26: 341-342.
- Fundación Patagonia Natural. 2008. Informe acerca del derrame petrolero en Caleta Córdoba, provincia de Chubut. F.P.N., Buenos Aires. 3 pp.
- Groner M., Muroski A.R. y Myrick M.L. 2001. Identification of mayor water-soluble fluorescent components of some petrochemicals. *Mar. Poll. Bull.*, 42: 935-941.
- Gutiérrez M.I., Luiz M. y García N.A. 1994. Modelling the photo-oxidation of hydrocarbons in sea water. Effect of salinity. *Sci. Mar.*, 58: 207-211.
- Gutiérrez M.I., Luiz M. y García N.A. 1995. Modelling the photochemical fate of organic compounds in seawater. A study on singlet molecular oxygen-mediated reactions. *Mar. Poll. Bull.*, 30: 555-557.
- Gutiérrez M.I., Criado S. y García N.A. 1998. Salt effect on sensitized photooxidations. A kinetic approach to environmental decomposition of marine contaminants. *Sci. Mar.*, 62: 217-223.
- Gutiérrez M.I. 2002. Estudio cinético en la fotooxidación de contaminantes y fotosensibilizadores marinos. *Naturalia Patagónica*, 1: 140-143.
- Hudson N., Baker A. y Reynolds D. 2007. Fluorescence analysis of dissolved organic matter in natural, waste and polluted waters. A review. *River. Res. Applic.*, 23: 631-649.
- Kuehl R.O. 2001. *Diseño de experimentos*. Thomson Learning. México.
- Mangani A., Marchiaro A. y Gutiérrez M.I. 2008. Determinación de hidrocarburos de petróleo en agua de mar. *Resúmenes del V Congreso Iberoamericano de Física y Química Ambiental VCIFyQA 2008*, Mar del Plata, Argentina.
- Mullins O.C., Mitra-Kirtley S. y Zhu Y. 1992. The electronic absorption edge of petroleum. *Appl. Spect.*, 46: 1405-1411.

- Muroski AR., Booksh K.S. y Myrick M.L. 1996. Single-measurement excitation/emission matrix spectrofluorometer for determination of hydrocarbons in ocean water. 1. Instrumentation and background correction. *Anal. Chem.*, 68: 3534-3538.
- Nicodem, D.E., Fernandes M.C.Z. Guedes C.L.B. y Correia R.J. 1997. Photochemical processes and the environmental impact of petroleum spills. *Biogeochemistry*, 39: 121- 138 y referencias citadas.
- Petrotecnia. Febrero 2008. *Suplemento Estadístico de los Hidrocarburos en la Argentina*. Instituto Argentino del Petróleo y el Gas. Buenos Aires. XLIX 1: 1-20 pp.
- Phillip J. y Soutar I. 1976. Identification of Crude Oils by Synchronous Excitation Spectrofluorimetry. *Anal. Chem.*, 48: 520-524.
- Reddy C.M y Quinn J.G. 1999. GC-MS analysis of total petroleum hydrocarbons and polycyclic aromatic hydrocarbons in seawater samples after the North Cape oil spill. *Mar. Poll. Bull.*, 38: 126-135.
- Sarma A.K. y Ryder A.G. 2006. Comparison of the Fluorescence Behavior of a Biocrude Oil and Crude Petroleum Oils. *Energy & Fuels*, 20: 783-785.
- Scory S. 2005. The Use of Mathematical Models for Estimating Oil Pollution Damage at Sea. En: Frank Maes (ed.). *Marine resource damage assessment*. Springer, Dordrecht. Pp. 211-252.
- Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la República Argentina. 2006. Prensa y Difusión. Buenos Aires. <<http://www.ambiente.gov.ar/?idarticulo=2572>>.
- Stout S.A., Uhler A.D. y McCarthy K.J. 2001. A strategy and methodology for defensibly correlating spilled oil to source candidates. *Environ. Foren.*, 2: 87-98.
- Taban I.C., Bechmann R.K. Torgrimsen S. Baussant T. y Sanni S. 2004. Detection of DNA damage in mussels and sea urchins exposed to crude oil using comet assay. *Mar. Environ. Res.*, 58: 701-705.
- Thruston A.D. y Knight R.W. 1971. Characterization of Crude and Residual-Type Oils by Fluorescence Spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.*, 5: 64-69.
- UNESCO. 1992. 13. *Manual para la vigilancia del aceite y de los hidrocarburos del petróleo disueltos o dispersos en el agua del mar y en las playas*. Manuales y guías 13. UNESCO, París. 37 pp.
- Wang Z. y Fingas M. 1997. Developments in the analysis of petroleum hydrocarbons in oils, petroleum products and oil-spill-related environmental samples by gas chromatography. *J. Chromatogr., A*. 774: 51-78.
- Wang Z., Fingas M. y Page D.S. 1999. Oil spill identification. *J. Chromatogr. A.*, 843: 369-411.

EFECTO DEL TRATAMIENTO ELECTROCINÉTICO SOBRE LA BIOACCESIBILIDAD DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN SUELOS CONTAMINADOS

J.L. Niqui-Arroyo y J.J. Ortega-Calvo

C.S.I.C.; Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNASE). Avda. de Reina Mercedes 10, Sevilla 41012. E-mail: <jjortega@irnase.csic.es>

Resumen: En este trabajo se estudia la posibilidad de desarrollar una nueva tecnología híbrida para la recuperación de suelos contaminados por hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), basada en la integración de los procesos de biodegradación y electroósmosis. La aplicación de un pequeño campo eléctrico al suelo, y el consiguiente desarrollo del flujo electroosmótico asociado a dicho campo, junto con la adicción de un agente tensioactivo (Brij 35), promueve la desorción de los hidrocarburos aromáticos policíclicos hacia la fase acuosa del suelo, favoreciendo de ese modo su biodegradación. En una primera fase del trabajo se indujo en el suelo el desarrollo simultáneo de ambos procesos (biodegradación y electroósmosis), en presencia de un agente tensioactivo (Brij 35) que contribuyó a la desorción de los HAPs. Las pérdidas de contaminante fueron en algunos casos significativamente mayores cuando biodegradación y campo eléctrico actuaron conjuntamente, en comparación con los resultados obtenidos en los controles sin actividad biológica o aplicación de corriente, aunque en general fue el suelo arenoso, frente a otros arcillosos, el que presentó resultados más prometedores. La inversión de la polaridad o la aplicación discontinua del campo eléctrico mostraron mejoras adicionales de hasta un 16 % para el conjunto de HAPs con respecto a los resultados anteriores, que llegaron incluso hasta el 30 % en el caso específico de algunos de los compuestos como el benzo(a)pireno, considerado como uno de los más peligrosos para la salud de los seres vivos. En una segunda fase del estudio se evaluó el pretratamiento electrocinético del suelo como posible vía para la movilización de la fracción menos bioaccesible de los HAPs, antes de un tratamiento mediante biorremediación en fangos. Las concentraciones residuales obtenidas, sensiblemente inferiores que en aquellos casos en los que el suelo no fue sometido a dicho pretratamiento, mostraron de nuevo que biodegradación y electroósmosis pueden ser integrados con éxito para la recuperación de suelos contaminados.

Palabras clave: Electrobiorremediación, HAPs, flujo electroosmótico, suelo contaminado.

Effects of electrokinetic treatment on polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) bioaccessibility in polluted soils

Abstract: This paper presents a hybrid technology of soil remediation based on the integration of biodegradation and electroosmosis. Electroremediation, consisting in the controlled application of low-voltage DC currents into polluted soils, could be specially indicated for clay soils and its mobilising potential could also be coupled to biodegradation processes. The electroosmotic flow associated to DC current could be used to increase the PAH desorption rate from the soil particle towards the water phase. Moreover, the limited transport that PAHs exhibit in soil during electrokinetic treatment can be promoted with the use of solubility-enhancing agents (surfactant Brij 35), leading to significant pollutant removal through in situ flushing. Two different modes of treatment were prospected in this study. On a first stage, simultaneous occurrence of biodegradation and electroosmosis in the presence of surfactant Brij 35 was induced in soil. Losses of PAH were significantly higher than in control cells that contained the surfactant but no biological activity or no current. The method was especially successful in sandy soil. The use of periodical changes in polarity and current pulses increased by 16 % in the removal of total PAHs and in up to 30 % of specific compounds, such as benzo(a)pyrene. On a second phase, soils were sequentially treated with electrokinetics and bioremediation. Soils previously treated by electrokinetics showed lower residual PAH concentrations than untreated soils. These results indicate that biodegradation and electroosmosis can be successfully integrated to promote the removal of PAH from soil.

Key words: Electrobioremediation, PAHs, electroosmotic flow, polluted soil.

INTRODUCCIÓN

A lo largo de las últimas décadas la producción mundial de compuestos orgánicos ha aumentado de forma exponencial y, asociado a dicho aumento se ha producido un serio deterioro del medioambiente, de tal forma que la presencia de estos compuestos en la naturaleza se ha convertido en un problema medioambiental prioritario para las distintas agencias medioambientales. Sólo en el Reino Unido 200 años de era industrial han conducido a la aparición de unos 200.000 emplazamientos contaminados, de los cuales alrededor de un 60 % lo están por una mezcla de metales pesados y productos orgánicos (Maini *et al.*, 2000). En Estados Unidos, la Agencia de Protección del Medioambiente (US-EPA) estima que el 40 % de los 750.000 depósitos subterráneos existentes presentan fugas, estando la mayoría de ellos destinados al almacenamiento de hidrocarburos. Por otro lado, el coste de recuperación de los 1400 emplazamientos contaminados incluidos en la Lista Nacional de Prioridades ascendería a unos 350.000 millones de dólares (Alshwabkeh, 2001). En 1999 la Agencia Europea de Medio Ambiente (AEMA)

estimaba entre 300.000 y 1.500.000 el número de emplazamientos contaminados en Europa Occidental. La disparidad de cifras pone de manifiesto no sólo la gravedad del problema en sí, sino también la falta de un criterio común a la hora de identificar o caracterizar un suelo contaminado, lo que resulta sin duda de vital importancia en el diseño de cualquier tipo de estrategia futura. En España, desde el comienzo del Plan Nacional de Recuperación de suelos contaminados 1995-2005 (y hasta el 2004), se habían recuperado un total de 212 emplazamientos, con un coste asociado de 180 millones de euros (Ministerio de Medio Ambiente, 2005). Esta situación podría hacerse también extensible en mayor o menor medida a otros muchos países industrializados. La necesidad de recuperar estos suelos para otros usos y un mayor conocimiento sobre los efectos que una larga exposición a determinados productos pueda ocasionar obliga hoy en día a muchos gobiernos, en su mayor parte de países europeos, a elaborar medidas que salvaguarden estos medios de nuevas agresiones y, al mismo tiempo, fomenten el desarrollo de tecnologías que permitan su recuperación y, por tanto, su reutilización con total garantía para la salud pública.

Dentro de la enorme variedad de compuestos orgánicos existentes un grupo especialmente tóxico y persistente es el que se conoce genéricamente como hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs). La principales particularidades que diferencian a este grupo de otros contaminantes son su baja solubilidad en agua (entre 30 y 10^{-8} mg L⁻¹) y su alta hidrofobicidad. Como consecuencia de estas características los HAPs presentan una elevada tendencia a permanecer en el medio, asociados a las fracciones de materia orgánica (MOS) y arcillas del suelo (White y Alexander, 1996; Rehm *et al.*, 2000; Atagana *et al.*, 2003), presentando al mismo tiempo muy bajas concentraciones de contaminante en la fase acuosa del suelo (White y Alexander, 1996; Eweis *et al.*, 1998; Alshawabkeh *et al.*, 1999). Esto supone un factor limitante de gran importancia para su degradación (Atagana *et al.*, 2003), ya que como requisito general para el crecimiento microbiano los microorganismos deben estar en contacto de forma constante con el sustrato que les sirve de alimento (Rehm *et al.*, 2000). De esta forma se produce un paulatino aumento de su concentración con el paso del tiempo, más aún si se tiene en cuenta que, junto con otros compuestos orgánicos, experimentan lo que se conoce como fenómeno de envejecimiento o “aging” para periodos prolongados de permanencia en el suelo. Su escasa movilidad en el medio, consecuencia de sus propiedades físico-químicas particulares, no debe esconder la amenaza que su presencia entraña a largo plazo. En general presentan, ellos mismos o sus metabolitos, niveles de toxicidad altos, incluso a muy bajas concentraciones. Se sabe, por ejemplo, que el benzo(a)antraceno, considerado como un carcinogénico débil, genera durante su biodegradación algunos derivados, como el 6-,7-, 8- y 12- metilbenzo(a)antraceno, considerados mucho más peligrosos (Mastandrea *et al.*, 2005).

La búsqueda de tecnologías más eficaces y baratas, junto con el desarrollo de legislaciones medioambientales que fomentan el tratamiento de los residuos antes que su vertido o inmovilización, ha favorecido el auge de lo que hoy en día se denomina biorremediación. Bajo tal término se engloban una serie de sistemas de ingeniería que se sirven de la capacidad de ciertos microorganismos para degradar los compuestos orgánicos, transformándolos en productos de menor peligrosidad o completamente inocuos. En general, presentan una serie de ventajas sobre tratamientos térmicos o físico-químicos, fundamentalmente en cuestión de costes o impacto sobre el medio (Mueller *et al.*, 1989). El objetivo básico de la biorremediación es, pues, la eliminación de los contaminantes, no su traslado a una ubicación o medio diferente, como es el caso de la adsorción sobre carbón activo o la solidificación/estabilización de los residuos.

La biorremediación no está exenta de limitaciones ya que, aunque son muchos los emplazamientos recuperados con éxito, es cierto que en otros casos los tratamientos biológicos se han mostrado lentos e incompletos. En un patrón típico de comportamiento de un suelo contaminado con HAPs la concentración de éstos cae de forma brusca al principio del tratamiento, pero una vez superada esa primera fase la degradación se vuelve lenta, dejando como resultado fracciones residuales de HAPs que difícilmente podrán ser reducidas aunque se prolongue dicho tratamiento (Alexander, 2000; Rehm *et al.*, 2000). Se distinguirían pues dos fases claramente diferenciadas durante la biodegradación del HAP: Una rápida, asociada a una fracción lábil o fácilmente disponible del compuesto; y una segunda fase mucho más lenta, asociada a una fracción no lábil o difícilmente bioaccesible. Es más, se sabe que la resistencia a la biodegradación puede aumentar drásticamente con el tiempo que el compuesto químico permanece en el suelo o en el sedimento (Hatzinger y Alexander, 1995). Este hecho estaría íntimamente relacionado con el concepto de biodisponibilidad, definida ésta como la capacidad de un compuesto para ser libremente transportado a través de la membrana de la célula para un metabolismo intracelular (endoenzimas), o bien para un metabolismo extracelular (exoenzimas). Aunque todavía hoy es objeto de estudio se admite que la baja biodisponibilidad de los HAPs está directamente relacionada con la forma en que estos compuestos se distribuyen en el suelo. Los hidrocarburos podrían estar presentes en la fase acuosa del suelo, estando en principio disponibles para los microorganismos adsorbidos a la superficie de las partículas (presentes en los micro y nanoporos del suelo, donde por cuestiones de tamaño los microorganismos no podrían acceder a ellos para su degradación), o bien disueltos en fases líquidas no acuosas (NAPLs) como por ejemplo, la creosota.

A la vista de las limitaciones indicadas parece aconsejable recurrir a otra tecnología alternativa que permitiese solventar dichas limitaciones o, al menos, mejorar los resultados obtenidos mediante la biorremediación. La tecnología propuesta en este estudio es el tratamiento electrocinético del suelo o

electrorremediación. Esta técnica se basa en la aplicación de una corriente continua de baja intensidad, entre dos o más electrodos insertados en el suelo, y distribuidos en la zona contaminada que se desea tratar. Como resultado del gradiente eléctrico aplicado los contaminantes podrán ser transportados hacia el ánodo o el cátodo, donde recibirán algún tipo de tratamiento para su eliminación. La recirculación de un electrolito adecuado en el sistema puede servir tanto para mantener las características conductoras del medio como para extraer o introducir especies en el sistema. Como primera consecuencia de la aplicación de la corriente eléctrica al suelo se producen en las proximidades de los electrodos las reacciones propias de electrolisis del agua, es decir, oxidación en el ánodo (polo +), con generación de H^+ y liberación de O_2 gaseoso, y reducción en el cátodo (polo -), con producción de OH^- y desprendimiento de H_2 gas (Ho *et al.*, 1995; Li *et al.*, 1998).

La aplicación de la diferencia de potencial eléctrico al suelo lleva también asociada el desarrollo simultáneo de varios fenómenos de transporte (Pamuckcu, 1996; Virkutyte *et al.*, 2002): **a) Electromigración** (o movimiento de los iones disueltos en la fase acuosa del suelo); estos iones se desplazarán en uno u otro sentido en función de su carga eléctrica (aniones hacia el polo positivo, el ánodo, y cationes hacia el polo negativo, el cátodo); **b) Electroforesis** (o movimiento de los coloides). De forma análoga, aquellas partículas sólidas que se encuentren en suspensión y presenten carga neta superficial se verán atraídas hacia el electrodo correspondiente. Los contaminantes se desplazarán hacia uno u otro electrodo en función de su carga, o arrastrados por el movimiento inducido de la fase acuosa (se ha demostrado experimentalmente que esta técnica puede ser también aplicada a especies no iónicas; Virkutyte *et al.*, 2002); de hecho, en los procesos de descontaminación la electroforesis de los coloides de arcillas y de los coloides húmicos puede jugar un papel importante en la recuperación de los suelos, sobre todo en aquellos casos donde las moléculas de la especie contaminante se encuentren adsorbidas a la superficie de estos coloides (Grolimund *et al.*, 1996); y **c) Flujo electroosmótico** (o desplazamiento de la fase acuosa contenida en los poros del suelo); este sería el mecanismo de transporte predominante para especies sin carga eléctrica o con muy baja polaridad, como son los hidrocarburos aromáticos policíclicos. El desarrollo de este flujo puede ser explicado en base a la teoría de la doble capa eléctrica. Dicho flujo puede ser cuantificado a través de la ecuación de Helmholtz – Smoluchowsky, según la cual la velocidad del flujo electroosmótico (n_{eo}) es directamente proporcional al voltaje aplicado (E_z), al potencial zeta (ζ), y a la constante dieléctrica del fluido (D), e inversamente proporcional a la viscosidad del fluido (h). A pesar de que es aplicable a suelos con un tamaño grande de poro, basándose en una serie de suposiciones (alguna de ellas cuestionables), la teoría es ampliamente aceptada hoy en día para la caracterización de dicho flujo.

La hipótesis de partida de este estudio se basa en que la aplicación del campo eléctrico, junto con el desarrollo del flujo electroosmótico asociado a

dicho campo eléctrico, favorecería la desorción de los HAPs desde el suelo a la fase acuosa. Esta desorción se vería aún más favorecida mediante la aplicación de un agente tensioactivo no iónico (por ejemplo, Brij 35).

En general los tensioactivos no iónicos son menos tóxicos para los microorganismos y no interaccionan con el campo eléctrico. En un estudio realizado por Atagana *et al.* los resultados muestran que los cinco tensioactivos no iónicos usados en dicho estudio fueron capaces de aumentar la desorción y la biodegradación de creosota en diferente grado. Los autores descartaron también cualquier indicio de inhibición de la actividad bacteriana a las concentraciones de tensioactivo usadas (Atagana *et al.*, 2003). En consecuencia, los HAPs estarían más disponibles para ser degradados por los microorganismos adecuados.

Teniendo presente lo anterior, los objetivos planteados para este trabajo son básicamente dos: En primer lugar, estudiar la influencia del campo eléctrico sobre la biodegradación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos; y en segundo evaluar si el uso de diferentes regímenes de aplicación del campo eléctrico incide de forma positiva sobre la biodegradación de los HAPs durante el tratamiento electrocinético. Para ello se realizaron una serie de ensayos electrocinéticos sobre suelos de distintas características y con distinto grado de contaminación por HAPs. También se estudiará si el tratamiento de electrobiorremediación es capaz de producir cambios sobre las tasas de mineralización de estos compuestos, lo cual podría implicar también una disminución de la fracción resistente del hidrocarburo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Suelos. Los suelos contaminados por creosota empleados en este trabajo proceden de distintas localizaciones de una antigua planta de creosotado de maderas, situada en el término municipal de Andújar (Jaén, España). Tras más de 100 años de actividad la planta presenta hoy en día localizaciones con altas concentraciones no sólo de HAPs, sino también de otros compuestos orgánicos como fenoles, BTEX o PCBs.

Dichos suelos han sido clasificados como *Fluvisoles calcáricos* (FAO/UNESCO) y en particular para este estudio se emplearon muestras procedentes de dos puntos de muestreo localizados a una profundidad ligeramente superior a -1 m, por ser esta la zona donde se concentraba principalmente la creosota: El punto B con una contaminación aguda por HAPs (unos 4,5 g HAP kg⁻¹ suelo seco); y el punto de muestreo E con una contaminación leve, del orden de 0,5 g HAP kg⁻¹ suelo seco. Ambas muestras se caracterizaron de acuerdo con métodos normalizados de análisis (FAO, 1970; Page *et al.*, 1982; Klute, 1986; Ministerio de Agricultura, 1986) y como características más relevantes cabe destacar el alto contenido en arcilla (superior a 600 g kg⁻¹), y materia orgánica edáfica (MOS), en torno a 35 g MOS kg⁻¹.

Una descripción geológica del emplazamiento e información más detallada sobre el contenido inicial de contaminante y sobre la manipulación y caracterización de las muestras se detallan en publicaciones anteriores (Niqui Arroyo *et al.*, 2006; Niqui-Arroyo y Ortega-Calvo, 2007).

Un tercer suelo (suelo F), en este caso arenoso, clasificado como *Typic Xerochrepts* (USDA) y procedente de la estación experimental “La Hampa” (situada en el término de Coria del Río, Sevilla) se utilizó también en los ensayos de este trabajo. Este suelo agrícola estaba totalmente libre de contaminación significativa por HAPs.

Para los distintos ensayos llevados a cabo en este estudio el suelo procedente del punto de muestreo B se usó, bien como matriz intacta, o bien formando mezclas diluidas en proporción 1:10 con las muestras E y F.

De ahora en adelante, para una mayor claridad, nos referiremos al suelo B como “**suelo arcilloso I**”, en tanto que las mezclas de éste con las muestras de suelo E y F se identificarán, respectivamente, como “**suelo arcilloso II**” y “**suelo arenoso**”. Estas mezclas se obtuvieron por homogeneización en volteador durante un periodo aproximado de 6 horas. Para prevenir la posible variabilidad en las concentraciones iniciales de HAP entre los distintos lotes de suelo, se determinaron en cada una de las mezclas preparadas. El objetivo de dichas mezclas fue básicamente partir inicialmente de concentraciones más bajas de hidrocarburo, lo cual permitiría reducir notablemente el tiempo experimental necesario para cada ensayo.

Bacterias, medios y cultivo. La estirpe bacteriana usada en este trabajo, *Mycobacterium gilvum* VM552 fue aislada a partir de un suelo contaminado con HAPs y fue cedida por el Dr. D. Springael (VITO, Mol, Bélgica). Esta cepa actúa como degradadora para varios de estos compuestos, en concreto fenantreno, fluoranteno y pireno (Wick *et al.*, 2002; van Herwijnen, 2003), aunque resultados anteriores apuntan a que otros HAPs, tales como fluoreno, antraceno y benzo(a)pireno, son degradados también por esta cepa bien a través de procesos cometabólicos o bien mediante procesos ligados a crecimiento (Bueno-Montes, 2005). La estirpe se cultivó en un medio fosfato tamponado empleando fenantreno como fuente de carbono, siendo preparada para su uso en los ensayos de mineralización y electrobiorremediación de la forma ya indicada en una publicación anterior (Gómez-Lahoz y Ortega-Calvo, 2005).

Ensayos de biodegradación. Para los ensayos de biodegradación en lodos muestras de aproximadamente 15 g de suelo, previamente esterilizadas mediante tres ciclos de autoclavado, fueron dispuestas por duplicado en Erlenmeyers de 250 mL de capacidad. Después de dispersar el suelo en 100 mL de medio de mineralización (Niqui-Arroyo *et al.*, 2006) cada Erlenmeyer recibió unas 100000 dpm del correspondiente substrato marcado. Dichos compuestos marcados, suministrados por Sigma Chemical Co. (St. Louis, USA), fueron fenantreno-9-¹⁴C, fluoranteno-3-¹⁴C y pireno-4,5,9,10-¹⁴C,

con actividades específicas de 13,1, 45 y 58,7 mCi mmol⁻¹ respectivamente y todos ellos con una pureza radioquímica superior al 98 %. Tras un período de homogeneización de unas 48 horas (al final del cual se comprobó la ausencia de biodegradación), las suspensiones de suelo fueron inoculadas con la cepa *M. gilvum* VM552. En todos los casos el volumen de inóculo añadido a cada Erlenmeyer fue de 1 mL. El número de células en el inóculo se estimó mediante conteo en placas TSA, estando el número de unidades formadoras de colonias en torno a 10⁸ - 10⁹ UFC mL⁻¹ de inóculo. El ¹⁴CO₂ producido durante la mineralización del sustrato marcado fue capturado en una trampa alcalina. Esta trampa consistía en un vial de vidrio de 5 mL de capacidad que, fijado al tapón de caucho, se suspendía en el interior de cada Erlenmeyer. Las trampas se llenaron con 1 mL de NaOH 0,5 M que se tomaba cada cierto tiempo para medir la radioactividad incorporada y se reponía con álcali fresco. Las muestras de NaOH recogidas se introdujeron en viales de centelleo de 7 mL, mezcladas con 5 mL de líquido de centelleo (*Ready safe*, Beckman Instruments, Fullerton, California) y, tras 8 horas en oscuridad para disipación de quimioluminiscencia, la radioactividad presente se cuantificó usando un contador de centelleo líquido Beckman Instruments, modelo LS5000TD (Niqui-Arroyo y Ortega-Calvo, 2007).

Las velocidades máximas de mineralización fueron calculadas como la pendiente de la línea de regresión marcada por los puntos correspondientes a la fase de máxima mineralización (Ortega-Calvo *et al.*, 1995). De forma análoga a los ensayos marcados se prepararon, también por duplicado, Erlenmeyers sin marcaje radiactivo para la determinación cromatográfica de los contenidos residuales de HAPs. Una vez descongelados, y tras un breve periodo de decantación del sólido, la fase acuosa fue desechada y el suelo se sometía a un proceso de secado en estufa a 35-40 °C durante no más de 24 horas. Posteriormente se procedía a la extracción Soxhlet de las muestras y a la medida cromatográfica. Dichas medidas se llevaron a cabo con un cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC) Waters 2690 *Separations Module* equipado con un detector de matriz de diodos (Photodiode Array Detector, Waters 996) y un detector de fluorescencia (Waters 474). La columna empleada (*Waters HAP Columns*, C18, 5 mm de tamaño de partícula, 4,6 x 250 mm), está especialmente recomendada para el análisis de este tipo de compuestos. Los componentes de la fase móvil empleada, acetonitrilo de calidad HPLC (Merck o Teknokroma) y agua milli-Q, fueron filtradas previamente a su uso para aumentar la vida útil de la columna, utilizando para ello un filtro de membrana de nylon de 0,45 micras de poro y 47 mm Ø (Teknokroma, Barcelona, España). Las condiciones cromatográficas utilizadas en los análisis fueron las siguientes: 1 mL min⁻¹ de flujo de fase móvil, 30° C de temperatura en el horno, volumen de muestra inyectado variable (entre 10 y 60 mL) y 50 min de tiempo de análisis en gradiente. Tomando como base la norma ISO 13877, y atendiendo a la información adicional suministrada por los proveedores tanto de la columna cromatográfica como

del material de referencia, el detector de fluorescencia fue programado de la forma adecuada para conseguir una óptima separación de los picos correspondientes a los HAPs analizados (Niqui-Arroyo y Ortega-Calvo, 2007).

Se llevaron a cabo también una serie de ensayos de biodegradación para comprobar los efectos de la aplicación del campo eléctrico sobre la bioaccesibilidad de los HAPs en los suelos estudiados. Para ello, muestras de aproximadamente 2 g de los suelos arcillosos I y II, previamente tratadas mediante electrobiorremediación, fueron resuspendidas en 100 mL de medio de mineralización, reinoculadas con *M. gilvum* VM552 y sometidas a nuevos procesos de mineralización de la forma ya indicada anteriormente, con el objeto de comprobar si el pretratamiento electrocinético modificó de alguna manera las cinéticas de biodegradación de estos compuestos (fenantreno, fluorantheno y pireno). Un segundo conjunto de muestras, ya sin adición de marcaje radioactivo, permitió estimar las concentraciones residuales de HAP al final de este segundo proceso de biodegradación. Los resultados fueron comparados con los obtenidos para muestras de suelo no sometidas previamente a dicho tratamiento electrocinético.

Ensayos electrocinéticos. El sistema experimental desarrollado para los ensayos de electrobiorremediación consistió en un contenedor de polietileno, de 27 cm de largo, 18 cm de ancho y 10 cm de alto. En el interior se dispuso un segundo contenedor de vidrio para evitar pérdidas de HAPs debido a posibles procesos de adsorción a las paredes de material plástico. Como reservorios para los electrolitos se utilizaron dos bujías filtrantes cilíndricas (Robuglasfilter-Gerate GMBH, Hattert, Alemania), fabricadas en vidrio y material cerámico poroso en su parte inferior (160-250 micras de tamaño de poro). Este material impedía el paso de las partículas de suelo, al tiempo que permitía la libre circulación de la fase líquida. En el interior de estos dos bujías se introdujeron sendos electrodos de óxidos de titanio (MOX/Ti; METAKEM GmbH, Usingen, Alemania), que se conectaron a una fuente de alimentación de corriente continua (Freak, modelo HY3005D-3, 30 V, 5 A, Instrumentación y Componentes, Zaragoza, España). La distancia entre electrodos fue en todos los casos de 16 cm. El pH del electrolito en el interior de las bujías filtrantes se controló mediante la recirculación permanente, mediante una bomba peristáltica, de tampón fosfato 0,1 M o tampón TRIS-acetato 0,05 M, ambos a pH 7,0. La recirculación de electrolito sirvió también para mantener un grado de humedad relativamente constante y próxima a la saturación en la masa de suelo.

En todos los casos, salvo que se indique lo contrario, se estudió el efecto del campo eléctrico sobre unos 200 g (p. s.) de suelo contaminado, ocupando una franja de 5 cm de anchura, situada en la zona central de la celda. La altura del suelo en la celda fue de aproximadamente unos 4 cm y la sección transversal al flujo de unos 40 cm². Dicho suelo había sido previamente esterilizado mediante tres ciclos de autoclavado (1 atm, 120° C, 20 min). El suelo F, también esterilizado de la misma forma, se empleó para rellenar el resto de la celda de

electrorremediación. La caída de potencial se mantuvo siempre en el intervalo 0,9- 1,1 V cm⁻¹ durante el desarrollo de cada ensayo electrocinético.

La inoculación se llevó a cabo con la cepa *M. gilvum* VM552, a una densidad celular de aproximadamente 10⁷ - 10⁹ UFC g⁻¹ de suelo y se limitó exclusivamente a la zona de suelo contaminado.

En alguno de los ensayos un volumen adecuado de una solución de tensioactivo Brij 35, preparada en tampón TRIS-acetato, fue añadido de forma homogénea al suelo contaminado hasta alcanzar una concentración final de 35 mg Brij 35 g⁻¹ de suelo seco. Esta concentración fue muy superior a la CMC del tensioactivo tanto en solución acuosa (0,078 mg L⁻¹), como en suspensiones acuosas de suelo arcilloso I (0,817 mg L⁻¹; Bueno-Montes, 2005). A lo largo de cada ensayo electrocinético una serie de parámetros experimentales (pH en los reservorios electródicos y en el propio suelo, temperatura del suelo, caída de potencial, intensidad y resistencia eléctricas) fueron también monitorizados. Para dichos ensayos se dispusieron 3 celdas, dos de ellas inoculadas, una con aplicación de campo eléctrico y otra en ausencia de éste. La comparación entre ambas permitió estimar el efecto del campo eléctrico sobre la degradación biológica de los HAPs. El proceso predominante en la primera celda sería el de electrobiorremediación, en tanto que en la segunda el proceso básico sería la biorremediación. Una tercera celda, no inoculada, actuó como control abiótico y por comparación con la primera permitió estimar el efecto del campo sobre la degradación abiótica de los hidrocarburos, al mismo tiempo que evaluar el efecto de lavado debido a la presencia del tensioactivo Brij 35. Esta disposición permitió establecer las contribuciones relativas de cada proceso, biodegradación o flujo electroosmótico, a la desaparición de los HAPs.

RESULTADOS

Ensayos previos. Ensayos de mineralización previos realizados en suspensiones de los distintos tipos de suelos estudiados mostraron importantes reducciones de las cantidades iniciales de contaminante, pero al mismo tiempo revelaron la existencia de concentraciones residuales que, con frecuencia, superaron algunos de los niveles genéricos de referencia empleados en España. Así, para un ensayo realizado con el suelo arcilloso I, las concentraciones residuales observadas para fluoranteno o pireno, 26,16 ±1,57 y 28,31 ±2,18 mg HAP kg⁻¹ suelo seco, respectivamente, fueron sensiblemente inferiores a las iniciales, con reducciones superiores al 90 %, pero aún así estuvieron claramente por encima de los niveles genéricos de referencia marcados para la protección de la salud humana y ecosistemas (Ministerio de la Presidencia, 2005). Resultados similares que apuntaban claramente a la existencia de fracciones de hidrocarburo no bioaccesibles se obtuvieron también para los suelos arcilloso II y arenoso (datos no mostrados).

Ensayos de electrobiorremediación: Parámetros de operación. Una serie de ensayos electrocinéticos previos pusieron de manifiesto que el control del pH es de gran importancia en el desarrollo de estos procesos. Considerando que nuestro sistema incluye además un componente biológico la elección del electrolito empleado para el control de dicha magnitud adquiere una mayor relevancia, siendo clave en el comportamiento del resto de parámetros operacionales. El primer electrolito empleado en nuestros ensayos fue tampón fosfato (K_2HPO_4/KH_2PO_4) 0,1 M a pH 7,0.

En la Fig. 1 puede apreciarse cómo la utilización de este electrolito afectó a los parámetros eléctricos de las celdas.

Durante el tratamiento electrocinético del suelo arcilloso I a 30 días se observó un aumento progresivo de la densidad de corriente a lo largo de los ensayos hasta alcanzar valores próximos a los 14 mA cm^{-2} . Asimismo, se apreció también una disminución continuada de la resistencia eléctrica hasta llegar a valores próximos a los 20Ω . Este comportamiento es lógico teniendo en cuenta la elevada concentración de tampón utilizada y por tanto el alto número de iones disponibles para conducir la corriente eléctrica. Por otro lado, este electrolito actuó de forma eficaz en el control del pH durante el citado ensayo, con ocasionales valores extremos que en ningún caso estuvieron por encima de pH 10,0 en el cátodo, ni por debajo de pH 5,0 en el

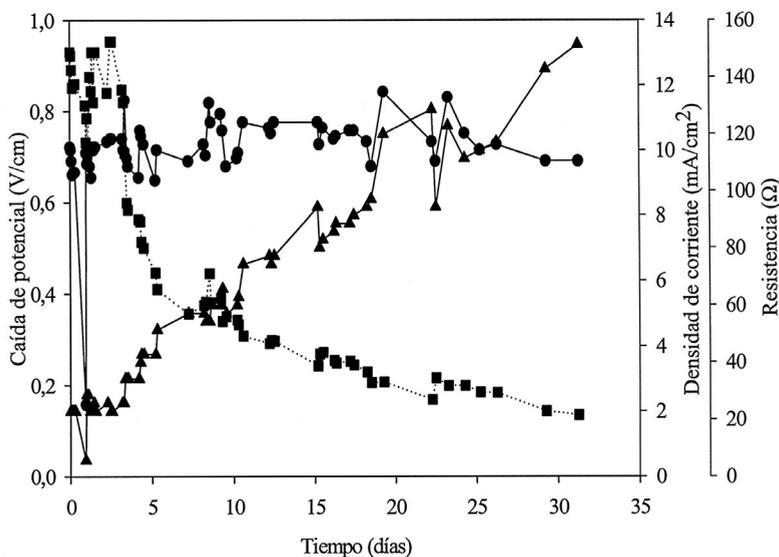


Figura 1. Evolución de distintos parámetros eléctricos durante el tratamiento electrocinético de una muestra de suelo arcilloso I durante 30 días: Caída de potencial (círculos; V/cm), densidad de corriente (triángulos; mA/cm²) y resistencia (cuadrados, línea discontinua; Ω). El electrolito usado para el control de pH fue tampón fosfato (K_2HPO_4/KH_2PO_4 0,1 M) a pH 7,0.

ánodo. Dichos valores extremos fueron solucionados bien mediante la sustitución del electrolito en caso de que éste diese muestras de agotamiento, o bien mediante el aumento del caudal aportado por la bomba peristáltica, lo que permitió una renovación más rápida del electrolito en el interior de los compartimentos electródicos.

En cuanto a la temperatura se observó un incremento significativo de ésta, llegándose a alcanzar en el suelo temperaturas entre 35-36 °C, muy superiores a la ambiental durante el desarrollo del experimento. Se relaciona este incremento de temperatura de forma directa con la alta densidad de corriente puesta en juego. El calor disipado en el suelo como consecuencia del paso de la corriente eléctrica se traduce en un aumento apreciable de la temperatura de éste. Desde el punto de vista operativo ello no supone un obstáculo, sino más bien un beneficio siempre y cuando no se alcancen temperaturas que puedan poner en peligro la actividad de la comunidad bacteriana. Un aumento moderado de la temperatura puede de hecho favorecer la actividad biológica y mejorar la biodegradación de los HAPs. Sin embargo, desde el punto de vista de la interpretación de los resultados, este incremento constituye un serio inconveniente, ya que no permite discriminar entre los efectos de la temperatura y del propio campo eléctrico sobre la biodegradación de los hidrocarburos.

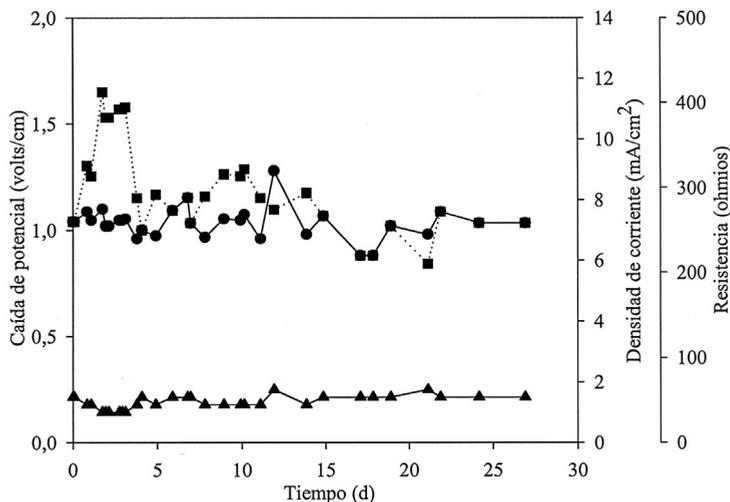


Figura 2. Evolución de distintos parámetros eléctricos durante el tratamiento electrocinético de una muestra de suelo arcilloso II durante 26 días: Caída de potencial (círculos; V/cm), densidad de corriente (triángulos; mA/cm²) y resistencia (cuadrados, línea discontinua; Ω). El electrolito usado para el control de pH fue tampón TRIS-acetato 0,05 M a pH 7,0.

Teniendo en cuenta los resultados anteriores se recurrió en los siguientes ensayos al uso de tampón TRIS-acetato 0,05 M a pH 7,0 (Wick *et al.*, 2004) como electrolito para la regulación del pH. Esta simple sustitución se tradujo de forma inmediata en una gran estabilidad de los parámetros eléctricos a lo largo de todo el ensayo. Para una caída de potencial constante en torno a 1 V cm^{-1} , la densidad de corriente no fue superior a los 2 mA cm^{-2} , valor que se mantuvo durante los casi 30 días de tratamiento electrocinético del suelo arcilloso II y que se alejó mucho de los 14 mA cm^{-2} alcanzados en el ensayo descrito anteriormente. La resistencia eléctrica, con ligeras oscilaciones, se mantuvo prácticamente constante dentro de un intervalo de 200-300 Ω (Fig. 2). Es más, en estas condiciones de operación las diferencias de temperatura observadas entre las dos celdas sometidas a campo eléctrico y la celda que sirvió como control para evaluar el efecto de dicho campo no superó en ningún caso 1° C , pudiéndose descartar así el aumento de temperatura como responsable de las diferencias de biodegradación que pudieran observarse entre las tres celdas. Por otro lado, la operación a densidades de corriente más bajas contribuye a una disminución del gasto energético, cuestión nada despreciable cuando se planteen tratamientos prolongados y a escalas mayores que la de laboratorio.

A lo largo de los ensayos se realizaron también medidas del potencial eléctrico en distintos puntos del suelo. La caída de potencial mostró una clara relación lineal con la distancia al ánodo, revelando además que, para puntos situados a una misma distancia, los valores medidos de caída de potencial fueron muy similares (Fig. 3). Dicha linealidad se mantuvo también con medidas de potencial realizadas a distintos tiempos. Estos resultados sugieren una distribución homogénea del campo eléctrico, minimizando la existencia de zonas no tratadas y simplificando por tanto el muestreo necesario para la estimación de las fracciones residuales de HAPs.

Ensayos de electrobiorremediación: Biodegradación de HAPs. Los primeros ensayos de electrobiorremediación estuvieron encaminados a estudiar la influencia del campo eléctrico sobre la biodegradación de los HAPs inicialmente presentes en el suelo arcilloso I, tanto por la población microbiana autóctona, como por una estirpe específica para la degradación de los HAPs (*M. gilvum* VM552). Ambos ensayos fueron realizados en ausencia de tensioactivo Brij 35. En el primer caso el tratamiento del suelo arcilloso I durante 30 días condujo, en general, a pérdidas de HAP de muy escasa importancia, alcanzándose rara vez fracciones residuales inferiores al 90 % de la cantidad inicial. La prolongación del tratamiento de 30 a 60 días no redundó, salvo casos muy puntuales, en una mayor desaparición de los hidrocarburos.

Durante el tratamiento electrocinético del suelo arcilloso II durante 26 días (en ausencia de tensioactivo) únicamente los compuestos de menor peso molecular presentaron síntomas de biodegradación, con pérdidas para el conjunto de los 6 HAPs degradables por *M. gilvum* VM552 que no llegaron prácticamente en ningún caso a superar el 10 % de la cantidad inicial (Tabla 1).

Para el tratamiento durante 14 días de este mismo suelo, en presencia ahora de Brij 35, sólo fenantreno y fluoranteno presentaron porcentajes residuales ligeramente inferiores a los obtenidos para el control abiótico, no observándose entre los distintos tratamientos aplicados diferencias relevantes en las concentraciones finales de hidrocarburo (Tabla 1). Esto puede indicar ausencia de biodegradación significativa en esos casos, o que la combinación de los procesos biodegradativos y los electrocinéticos (electroósmosis) no resultó en pérdidas mayores que con ambos procesos por separado. No obstante, sí se observaron diferencias con respecto al ensayo realizado en ausencia de agente tensioactivo. El fenantreno presentó porcentajes de desaparición en las dos celdas inoculadas (con y sin aplicación de corriente) en torno a un 20 % superiores a las obtenidas en el ensayo sin adición de tensioactivo. Algo similar ocurrió también con el antraceno, con porcentajes residuales sensiblemente inferiores a los obtenidos en el ensayo anterior; por citar sólo un ejemplo, un $56,0 \pm 2,8\%$ frente al $89,4 \pm 11,4\%$ obtenidos para la celda sometida a electrobiorremediación. Lógicamente, parte de esa diferencia es atribuible a un efecto de lavado, consecuencia de la presencia de tensioactivo y no relacionada exclusivamente con la actividad biológica.

El tratamiento electrocinético de suelo arenoso durante 7 días mostró concentraciones residuales significativamente distintas en función del tratamiento aplicado, aunque de una forma más evidente que para el suelo arcilloso II (Tabla 2). Las muestras sometidas a la acción del campo eléctrico mostraron para antraceno, pireno y benzo(a)pireno, concentraciones

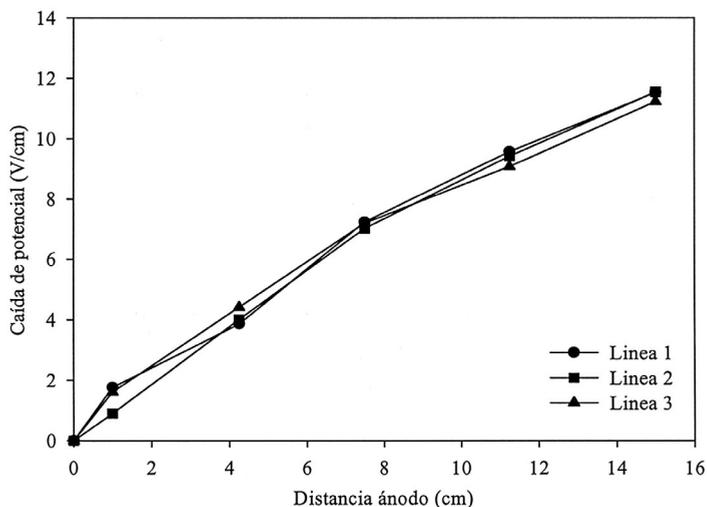


Figura 3. Perfiles de potencial obtenido durante el tratamiento electrocinético de una muestra de suelo arcilloso I durante 30 días. Los perfiles corresponden al 8º día de tratamiento. El electrolito usado para el control de pH fue tampón fosfato (K_2HPO_4 / KH_2PO_4 0,1 M) a pH 7,0.

residuales inferiores a las de las muestras sin aplicación de campo. En el caso particular del benzo(a)pireno (compuesto frecuentemente utilizado como referencia a la hora de evaluar la eficacia de un tratamiento de biorremediación; Juhasz y Naidu, 2000) se obtuvo una reducción del 50 % en la celda sometida a electrobiorremediación, lo cual supuso un 30 % más de compuesto desaparecido en comparación con la celda sin aplicación de campo eléctrico (biorremediación) o con el control abiótico (flujo electroosmótico). Resultados similares se obtuvieron para antraceno y pireno, con incrementos de eficacia en las muestras tratadas electrocinéticamente en torno al 30 y al 9 % respectivamente (Tabla 2). Sin embargo, el campo eléctrico tuvo escasa influencia sobre la desaparición de fenantreno y fluoranteno, en tanto que el criseno, como representante de los HAPs más pesados, mantuvo su concentración prácticamente constante, no apreciándose efecto de lavado durante el ensayo.

La prolongación del tratamiento electrocinético de 7 a 18 días en el suelo arenoso no condujo a una mayor desaparición de los compuestos, con concentraciones residuales no muy diferentes, o incluso en algunos casos superiores a las del tratamiento más corto (datos no mostrados), lo cual sugiere la necesidad de recurrir a otras formas de aplicación del campo eléctrico, tal y como ya han propuesto anteriormente otros autores (Reddy y Saichek, 2004).

En este sentido, se llevaron a cabo, ensayos con inversiones en la polaridad del campo aplicado cada 24 y 72 h. Un tercer régimen, consistente en la aplicación de “pulsos eléctricos” (96 h de aplicación continuada seguidas de 72 h en reposo durante las cuales no se aplicó potencial) también fue utilizado en este estudio. En todos los casos se observaron pérdidas significativas para todos los hidrocarburos estudiados, especialmente para fenantreno, con pérdidas entre un 70 y un 75 %.

Dada su relevancia, merece especial atención el caso del benzo(a)pireno. Las pérdidas de este compuesto, entre el 60-70 % independientemente del régimen aplicado, fueron en torno a un 30 % superiores con respecto a las observadas en el tratamiento con aplicación continua de la corriente eléctrica (Tabla 3). En el caso del fenantreno la eficacia también mejoró en torno a un 20 % con respecto al tratamiento en régimen continuo.

Una información más detallada se encuentra disponible en publicaciones anteriores del grupo (Niqui-Arroyo y Ortega-Calvo, 2007). A diferencia de lo observado en los ensayos electrocinéticos anteriores, se apreció una importante disminución de los HAP más pesados, como por ejemplo el criseno. Dado que estos compuestos más pesados no son susceptibles de ser degradados por *M. gilvum* VM552, cabría atribuir esa desaparición a un efecto de lavado del tensioactivo. Este resultado sugiere que la capacidad de desorción del Brij 35 podría ser mayor dependiendo de como se llevase a cabo la aplicación del campo eléctrico, lo cual podría ser especialmente relevante para los tratamientos *in situ*.

Pretratamiento electrocinético. En relación con el segundo objetivo planteado es este trabajo, muestras de suelo arcilloso I, previamente sometidas a un proceso de electrobiorremediación durante 20 días, mostraron una velocidad máxima de mineralización de fenantreno un 40 % superior a la observada en muestras sin tratamiento electrocinético previo ($18,77 \pm 1,34$ y $13,37 \pm 0,42$ mg Fen desaparecido kg^{-1} suelo seco respectivamente). Resultados parecidos se obtuvieron para fluoranteno y pireno, con aumentos de un 20 y un 4 % respectivamente.

Las concentraciones residuales al final del proceso de biodegradación fueron sensiblemente inferiores en las muestras pretratadas electrocinéticamente en

Tabla 1. Porcentajes residuales de HAP en el suelo arcilloso II tras tratamientos electrocinéticos durante 26 (en ausencia de tensioactivo) y 14 días (35 mg Brij 35/g de suelo seco).

Tratamiento 26 días (sin tensioactivo)				
	Concentración inicial†	Electrobiorremediación	Control sin corriente	Control abiótico
Fluoreno	11,90 ± 1,62	60,1 ± 8,4A	58,0 ± 10,3A	65,1 ± 3,4A
Fenantreno	155,36 ± 2,85	88,3 ± 2,1A	88,4 ± 3,6A	98,5 ± 4,6A
Antraceno	26,78 ± 5,85	89,4 ± 11,4A	89,2 ± 8,8A	87,9 ± 8,5A
Fluoranteno	48,76 ± 2,77	102,0 ± 2,2A	91,3 ± 1,7A	98,3 ± 7,6A
Pireno	47,35 ± 8,52	93,9 ± 0,5A	89,9 ± 6,3A	86,7 ± 2,1A
Benzo(a)pireno	3,81 ± 0,01	99,2 ± 0,6A	105,1 ± 4,8A	102,9 ± 4,6A
Criseno	17,62 ± 1,11	92,0 ± 16,5A	99,4 ± 2,4A	96,7 ± 16,4A
∑HAPs**	293,94 ± 15,92	90,6 ± 2,1A	88,2 ± 3,1A	94,3 ± 4,7A
Tratamiento 14 días (con tensioactivo)				
	Concentración inicial†	Electrobiorremediación	Control sin corriente	Control abiótico
Fluoreno	24,32 ± 0,09	59,0 ± 3,8A	59,6 ± 4,3A	68,9 ± 4,2A
Fenantreno	161,74 ± 3,74	65,6 ± 0,7A	71,0 ± 2,4AB	82,8 ± 6,3B
Antraceno	31,11 ± 0,28	56,0 ± 2,8A	60,0 ± 4,0A	59,3 ± 3,4A
Fluoranteno	101,18 ± 0,94	90,3 ± 8,9A	105,6 ± 12,5A	107,2 ± 2,0A
Pireno	63,70 ± 3,61	103,6 ± 8,5A	95,7 ± 9,5A	98,8 ± 6,2A
Benzo(a)pireno	5,11 ± 0,25	75,2 ± 4,4A	85,9 ± 4,8A	91,2 ± 7,3A
Criseno	52,00 ± 2,11	83,9 ± 2,6A	84,0 ± 2,9A	82,6 ± 7,2A
∑HAPs**	370,84 ± 1,03	76,1 ± 0,5A	82,1 ± 6,3A	88,7 ± 2,9A

* Para cada HAP, los valores seguidos por la misma letra mayúscula no son significativamente diferentes ($P=0,05$).

** Suma de los HAPs degradables por la estirpe *Mycobacterium gilvum* VM552 (Fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno y benzo(a)pireno).

† Concentración inicial en mg HAP/kg suelo seco. ∑ sumatorio.

relación con las que no recibieron dicho pretratamiento (Niqui-Arroyo y Ortega-Calvo, 2007) El suelo arcilloso II presentó resultados similares. En muestras pretratadas electrocinéticamente durante 26 días (en ausencia de tensioactivo) se apreció para el fenantreno una velocidad máxima de desaparición claramente superior a la del control ($3,55 \pm 0,15$ frente a $1,84 \pm 0,05$ mg Fen desaparecido/ kg suelo seco-h respectivamente). Este resultado es aún más significativo si se tiene en cuenta que el pretratamiento electrocinético se llevó a cabo en ausencia de tensioactivo, por lo que el aumento de la bioaccesibilidad observado no sería atribuible a una mayor desorción provocada por el Brij 35. Dicha velocidad de desaparición fue superior incluso a las observadas para muestras pretratadas electrocinéticamente en presencia de Brij 35 durante 7 y 14 días ($1,27 \pm 0,185$ y $1,19 \pm 0,16$ mg Fen desaparecido kg^{-1} suelo seco-h respectivamente). Fluoranteno y pireno mostraron velocidades superiores a las de los controles, aunque sin diferencias significativas entre los distintos pretratamientos electrocinéticos.

Estos resultados, aunque no son del todo concluyentes, sugieren que el tratamiento electrocinético podría modificar el patrón de desorción de los HAPs, aumentando así su bioaccesibilidad. Este aspecto será tratado con más detalle en próximas publicaciones del grupo.

Tabla 2. Porcentajes residuales de HAP en el suelo arenoso tras un tratamiento electrocinético durante 7 días en presencia de tensioactivo Brij 35 (35 mg /g de suelo seco).

Tratamiento 18 días					
	Concentración inicial†	Control sin corriente	Régimen continuo	Concentración inicial†	Inversión 24 h
Fluoreno	$32,27 \pm 1,37$	$40,8 \pm 0,8A$	$36,1 \pm 8,3A$	$8,19 \pm 2,45$	$9,1 \pm 3,7B$
Fenantreno	$169,37 \pm 1,42$	$55,1 \pm 0,1A$	$48,3 \pm 4,3B$	$105,81 \pm 19,00$	$28,7 \pm 2,6C$
Antraceno	$26,95 \pm 1,52$	$68,4 \pm 0,4A$	$60,1 \pm 2,9A$	$14,69 \pm 3,05$	$38,6 \pm 0,5B$
Fluoranteno	$118,63 \pm 0,10$	$65,1 \pm 0,1A$	$57,9 \pm 4,3A$	$57,90 \pm 4,20$	$41,9 \pm 3,2B$
Pireno	$94,55 \pm 0,04$	$61,2 \pm 2,1A$	$53,6 \pm 0,8B$	$29,77 \pm 5,11$	$58,4 \pm 0,2C$
Benzo(a)pireno	$1,65 \pm 0,42$	$74,2 \pm 7,3A$	$67,9 \pm 7,7A$	$1,59 \pm 0,09$	$39,7 \pm 0,9B$
Criseno	$28,58 \pm 1,89$	$76,1 \pm 5,8A$	$66,1 \pm 0,3B$	$19,71 \pm 1,39$	$46,1 \pm 0,4C$
Σ HAPs**	$443,41 \pm 0,78$	$58,9 \pm 0,4A$	$52,0 \pm 3,6B$	$217,94 \pm 33,90$	$36,3 \pm 0,6C$

* Para cada HAP, los valores seguidos por la misma letra mayúscula no son significativamente diferentes ($P=0,05$).

** Suma de los HAPs degradables por la estirpe *Mycobacterium gilvum* VM552 (Fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno y benzo(a)pireno).

† Concentración inicial en mg HAP/kg suelo seco; Σ sumatorio.

Tabla 3. Porcentajes residuales de HAP en el suelo arenoso tras un tratamiento electrocinético durante 18 días con aplicación continua de la corriente eléctrica y con ciclos de inversión de la polaridad cada 24 horas. El ensayo se llevó a cabo en presencia de Brij 35 a la concentración de 35 mg /g de suelo seco.

Tratamiento 7 días				
	Concentración inicial†	Electrobiorremediación	Control sin corriente	Control abiótico
Fluoreno	18,98 ± 2,45	36,6 ± 3,2A	52,9 ± 5,8B	49,4 ± 5,2AB
Fenantreno	164,24 ± 19,52	44,5 ± 0,2A	43,7 ± 3,7A	57,5 ± 3,5B
Antraceno	32,06 ± 3,63	42,7 ± 1,6A	73,6 ± 3,6B	57,5 ± 0,6C
Fluoranteno	114,45 ± 8,29	51,5 ± 0,7A	49,4 ± 2,3A	48,8 ± 2,8A
Pireno	54,34 ± 4,70	47,4 ± 0,5A	55,9 ± 3,4B	63,6 ± 2,5B
Benzo(a)pireno	3,55 ± 0,01	50,6 ± 4,6A	82,4 ± 8,4B	77,9 ± 0,4B
Criseno	25,46 ± 4,01	92,1 ± 4,3A	104,3 ± 6,7A	101,5 ± 5,5A
∑HAPs**	387,60 ± 29,20	46,5 ± 0,7A	50,4 ± 0,1B	55,6 ± 1,8C

* Para cada HAP, los valores seguidos por la misma letra mayúscula no son significativamente diferentes (P=0,05).

** Suma de los HAPs degradables por la estirpe *Mycobacterium gilvum* VM552 (Fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno y benzo(a)pireno).

† Concentración inicial en mg HAP/kg suelo seco; ∑ sumatorio.

DISCUSIÓN

El desplazamiento de la fase acuosa del suelo como consecuencia de la aplicación a éste de una corriente eléctrica continua de baja intensidad constituye la base sobre la que se sustenta el presente trabajo. Este fenómeno, contrastado experimentalmente en numerosos estudios (Casagrande, 1949; Acar y Alshawabkeh, 1993; Acar *et al.*, 1995; Reddy y Saichek, 2003; Saichek y Reddy, 2003b; Maturi y Reddy, 2006), es conocido con el nombre de flujo electroosmótico. En nuestra opinión el desarrollo de este flujo en el entorno de los agregados del suelo podría facilitar la desorción de los contaminantes hacia el seno de la fase acuosa, gracias al desarrollo de un gradiente de concentración a escala microscópica. Los hidrocarburos aromáticos policíclicos verían así aumentada su disponibilidad para los microorganismos capaces de degradarlos. Algunos autores sugieren que esta dispersión a pequeña escala podría ser incluso de mayor interés para un proceso de electrorremediación *in-situ* que un transporte macroscópico del contaminante. Un desplazamiento de corto recorrido bien del contaminante, bien de la bacteria, podría contribuir a superar las limitaciones impuestas a los procesos de transferencia de materia, responsables en gran medida de la falta de biodisponibilidad de estos compuestos, favoreciendo así su biodegradación (Wick

et al., 2001; Wick *et al.*, 2007). El desarrollo de un adecuado flujo electroosmótico será, pues, de importancia fundamental para alcanzar la suficiente interacción sólido/fluido/contaminante que permita la movilización de éste último (Saichek y Reddy, 2003a).

Parámetros de operación. Estudios preliminares mostraron que el control del pH es de crucial importancia en el desarrollo de dicho flujo, lo cual concordaba con estudios anteriores centrados en el tratamiento electrocinético de suelos (Shapiro y Probstein, 1993; Hamed y Bhadra, 1997; Schultz, 1997; Cherepy y Wildenschild, 2003; Saichek y Reddy, 2003a; Saichek y Reddy, 2003b). Las importantes variaciones de pH que se producen en los reservorios electródicos como consecuencia de las semirreacciones de electrolisis del agua (valores cercanos a 2,0 en el ánodo y a 12,0 en el cátodo), pueden resultar perjudiciales no sólo para la actividad bacteriana, sino también para el desarrollo del flujo electroosmótico. La acidificación del suelo en las proximidades del ánodo podría traducirse en una disminución (o incluso una inversión de dicho flujo), al variar el potencial zeta (ζ) hacia valores menos negativos o incluso positivos (Shapiro y Probstein, 1993; Hamed y Bhadra, 1997; Schultz, 1997; Saichek y Reddy, 2003a; Saichek y Reddy, 2003b). A este control de pH podría contribuir en algunos casos incluso el propio suelo. Según Reddy y Saichek (2003) las arcillas de baja capacidad de amortiguación (tales como la caolinita) son más propensas a que su potencial zeta experimente cambios hacia valores menos negativos, disminuyendo así el flujo electroosmótico (Reddy y Saichek, 2003). Estos mismos autores encontraron también un flujo electroosmótico elevado en un suelo con un contenido de un 35 % en carbonatos y relacionaron ambos hechos, atribuyendo al carbonato la neutralización de los protones generados en el ánodo. Los suelos empleados en el presente trabajo destacan también por poseer, de forma similar al anterior, un alto contenido en carbonatos (cerca del 25 %) por lo que en principio no es de esperar que el flujo electroosmótico pueda verse afectado por lo anteriormente comentado. Este hecho se ve confirmado por las medidas de pH realizadas en diversas muestras de suelo una vez finalizado el tratamiento electrocinético, no encontrándose diferencias significativas con los valores obtenidos inicialmente.

El importante incremento de temperatura, de hasta 10 °C observado en los ensayos en los que se usó tampón fosfato 0,1 M como electrolito, estuvo probablemente relacionado con la alta densidad de corriente puesta en juego, consecuencia de la alta molaridad de la solución usada. Ello vino acompañado por una considerable disipación de calor merced al efecto Joule. A este respecto algunos autores encontraron efectos secundarios de la temperatura, la cual disminuyó la eficiencia del flujo electroosmótico cuando la densidad de corriente estuvo por encima de 5 mA cm⁻² (Gray, 1970). Se recurrió entonces para el control de pH a una solución TRIS-acetato 0,05 M a pH 7,0 que, adecuadamente recirculada, se mostró suficiente para controlar el pH en los reservorios electródicos y permitió al mismo tiempo

reducir el incremento de temperatura a valores tan bajos como 1 °C. Ya anteriormente algunos autores habían apuntado que la alta capacidad amortiguadora de este tampón, junto con las buenas propiedades como electrolito, evitaban la aparición de un gradiente de pH en el suelo, así como la eliminación de cambios significativos en la temperatura (no superiores a 2 °C) durante la aplicación del campo eléctrico (Wick *et al.*, 2004). El uso de este tampón permitió pues descartar la temperatura como factor responsable del incremento en la biodegradación observada en los ensayos electrocinéticos y, al mismo tiempo, minimizar en lo posible la volatilización de alguno de los HAPs más ligeros como consecuencia del incremento de temperatura. No obstante, es también cierto que algunos estudios se sirven de dicho incremento para mejorar así la biodegradación de los HAPs, lo cual sería especialmente interesante en climas fríos donde las temperaturas relativamente bajas suponen un freno para la actividad bacteriana (Sonja *et al.*, 2007). En cuanto a las intensidades o densidades de corriente observadas en los ensayos realizados usando tampón TRIS-acetato como disolución reguladora de pH el comportamiento fue muy similar en todas las celdas, con ligeras oscilaciones con respecto al valor inicial, alcanzándose en pocos días un valor relativamente estable de funcionamiento, entre 1-2 mA cm⁻².

Es también interesante descartar posibles efectos adversos, tanto directos como indirectos, de la corriente eléctrica sobre los microorganismos. Hay que considerar que la aplicación del campo eléctrico es capaz de alterar ciertos parámetros del suelo, tales como el pH, temperatura, *etc.*, por lo que es importante determinar si produce al mismo tiempo un efecto secundario no deseado. La variación del pH del suelo puede influir sobre el crecimiento bacteriano, al modificar la integridad y funcionalidad de la membrana celular y, también, la solubilidad y biodisponibilidad de nutrientes y contaminantes (Alexander, 1999; Lear *et al.*, 2004). En este sentido los conteos de viables (heterótrofos totales y degradadoras de fenantreno) realizados tras diversos ensayos electrocinéticos indican que la población microbiana no parece verse afectada por dicho tratamiento. Una vez más la capacidad tamponadora del suelo utilizado pudo haber contribuido a la protección de la microbiota. En estudios precedentes no sólo se informa de que el tratamiento electrocinético (con una densidad de corriente de 0,31 mA cm⁻²) no tiene efectos negativos de relevancia sobre la variedad y la estructura de la comunidad bacteriana (Lear *et al.*, 2004), sino que Jackman *et al.* (1999) encontraron incluso un efecto estimulador sobre la actividad de bacterias sulfooxidantes del azufre, trabajando a densidades de corriente del orden de 20,0 mA cm⁻². También se ha sugerido el uso del campo eléctrico para facilitar la dispersión de los microorganismos hacia las zonas contaminadas en los procesos de bioaumentación (DeFlaun y Condee, 1997; Wick *et al.*, 2004). Bien es verdad que la capacidad del flujo electroosmótico para fomentar la dispersión de los microorganismos en el suelo estará limitada por características particulares de la propia bacteria, como son su

potencial zeta z o su capacidad de adhesión a los distintos componentes del suelo. Wick *et al.* (2004) consiguieron, no obstante, mejorar un 80 % el transporte electrocinético de una bacteria de carácter altamente hidrófobo, como es *Mycobacterium frederiksbergense* LB501T, mediante el tratamiento de ésta con tensioactivo Brij 35.

Biodegradación de los HAPs. En ausencia de tensioactivo la aplicación del campo eléctrico tuvo escasa influencia sobre la degradación de los HAPs por la población indígena del suelo, a pesar de que los ensayos de biodegradación en fase sólida habían demostrado previamente la capacidad degradadora de esta población. Es más, la desaparición de estos compuestos fue relativamente baja incluso cuando el suelo fue inoculado con *M. gilvum* VM552, a pesar de la más que demostrada capacidad de esta cepa para degradar de forma significativa un buen número de HAPs. En las condiciones experimentales de la celda, más en consonancia con una situación real, el aporte de oxígeno pudo estar limitado, más aún si la difusión de este gas pudo verse también dificultada por el grado de humedad del suelo; esta falta de oxígeno podría haber actuado como limitante en el proceso de biodegradación. Es más, las diferencias poco significativas entre las dos celdas inoculadas con *M. gilvum* VM552 y la celda que actuó como control abiótico reafirman la idea de que la actividad biológica estuvo muy limitada. Sonja *et al.* (2007) solventaron esta limitación sometiendo una muestra de suelo a un paso previo de “acondicionamiento” de 2 semanas, durante el cual se suministró a dicha muestra una solución de nutrientes (urea en tampón fosfato), aplicando a continuación el tratamiento electrocinético propiamente dicho durante 2 semanas. No hay que olvidar tampoco que la movilidad de las bacterias en el suelo es relativamente baja, penetrando en él muy pocos centímetros si han sido aplicados en superficie (Edmonds, 1976; Madsen y Alexander, 1982). En este sentido es posible que la cantidad de UFC aportadas por el inóculo al suelo durante la preparación de las celdas no fuese suficiente en algunos casos para garantizar una colonización de toda la masa de suelo.

De estos resultados se concluye que el flujo electroosmótico por sí sólo no es suficiente para lograr la desorción de estos compuestos. Esto viene corroborado por estudios anteriores en los que el porcentaje de compuesto movilizado por este flujo fue extremadamente bajo (Saichek y Reddy, 2003a; Reddy y Saichek, 2003). Van siendo cada vez más numerosos los estudios que abordan el empleo de agentes tensioactivos en combinación con el flujo electroosmótico para el lavado del suelo (Ko *et al.*, 2000; Reddy y Saichek, 2003; Saichek y Reddy, 2003b; Reddy y Saichek, 2004; Yuan y Weng, 2004; Jiradecha *et al.*, 2006). La gran mayoría de estos estudios recurren al uso de tensioactivos de naturaleza no iónica, ya que los tensioactivos aniónicos actuarían en perjuicio del flujo electroosmótico, al desplazarse por el suelo en un sentido contrario a éste. Por otro lado, los tensioactivos catiónicos están considerados como más tóxicos para los microorganismos

que los aniónicos o no iónicos (Bueno-Montes, 2005) y, además, pueden ser retenidos por los coloides del suelo mediante un proceso de intercambio catiónico (extremo polar, catiónico), formando estructuras denominadas hemimicelas y pudiendo incrementar la sorción de compuestos altamente hidrofóbicos (como HAPs) mediante interacción hidrofóbica con las largas cadenas hidrocarbonadas de estas estructuras (extremo apolar; Iglesias-Jiménez *et al.*, 1997).

Se ha encontrado también que el tensioactivo no iónico Tritón X-100 fue capaz de aumentar notablemente el transporte de bacterias del género *Mycobacterium* a través del suelo (Lahlou y Ortega-Calvo, 1999). Estas consideraciones, unidas a lo ya comentado anteriormente sobre Brij 35, justifican la elección de éste como el tensioactivo a usar también en los ensayos electrocinéticos.

Cuando el tensioactivo fue empleado los resultados muestran que, en general, la desaparición de compuestos fue más evidente en las muestras de suelo arenoso que en las de suelo arcilloso. Por ejemplo, el porcentaje de desaparición para el total de HAPs degradables por *M. gilvum* VM552 fue, para el suelo arenoso, de un 53 % (Tabla 2), en tanto que sólo un 24 % de la cantidad inicial desapareció en la muestra de suelo arcilloso II (Tabla 1), en tratamientos de 7 y 14 días respectivamente. Esto estuvo probablemente relacionado con el menor contenido de arcilla en el suelo arenoso, lo cual favoreció el desarrollo de un mayor flujo de agua al presentar una resistencia menor al movimiento del fluido. Por otro lado, las pérdidas para el total de HAPs biodegradables y para varios compuestos individuales fueron significativamente más altas en el suelo arenoso tratado electrocinéticamente en comparación con los controles sin aplicación de campo y sin inoculación, poniendo de manifiesto las ventajas del uso simultáneo de ambos procesos (Tabla 2).

El hecho de que la desaparición de los HAPs no fuese mayor al prolongar el tratamiento electrocinético pudo deberse a la interrupción o disminución del flujo electroosmótico, lo cual ya ha sido observado por otros investigadores que han estudiado los efectos de la aplicación continuada de la corriente eléctrica en el suelo (Reddy y Saichek, 2004; Maturi y Reddy, 2006). Según estos autores la disminución del flujo electroosmótico podría ser evitada mediante cambios periódicos de la polaridad de la corriente aplicada o, bien, mediante la aplicación discontinua de dicho campo, alternando ciclos de funcionamiento con periodos en los que el potencial se llevaba a valores residuales o incluso cero. Reddy y Saichek (2004) postularon que la aplicación del campo eléctrico de manera periódica (o bien la desconexión del sistema durante ciertos intervalos de tiempo) contribuyen a aumentar la solubilización micelar, mejorando así la eficiencia en la solubilización de fenantreno. En este mismo sentido, Maturi y Reddy (2006) opinaron que una operación discontinua de las celdas permite mantener un flujo electroosmótico más alto gracias a la despolarización de la doble capa difusa

en torno a las partículas del suelo. Estos periodos durante los cuales no se aplicaría gradiente eléctrico permitirían la transferencia de materia y/o la difusión del contaminante desde la matriz del suelo. Durante la aplicación discontinua de la corriente Reddy y Saichek (2004) observaron un patrón de diente de sierra en la intensidad de corriente que atravesaba el suelo, lo cual permitió mantener una intensidad media mayor durante todo el ensayo, en comparación con los llevados a cabo en régimen continuo. Es posible que en nuestros estudios estos procesos contribuyan positivamente a las pérdidas de HAP, ya sea a través de un aumento en la biodegradación del sustrato desorbido o mediante el transporte del compuesto fuera del suelo. Otro beneficio aportado por este sistema de aplicación de corriente fue que, ya que la intensidad permanecía más alta, el tratamiento pudo prolongarse por más tiempo (Reddy y Saichek, 2004). Los mismos autores consideran también que es posible que un bajo voltaje (1 V cm^{-1}) no sea el apropiado para usar en combinación con la aplicación periódica del potencial, ya que observaron que en estas condiciones sólo se movilizaba una pequeña fracción del fenantreno inicial, en comparación con un ensayo a mayor voltaje (2 V cm^{-1}). Sin embargo, en nuestro caso particular (que incluye además un componente biológico en el sistema) es posible que sólo un aumento de la difusión del contaminante a escala microscópica sea suficiente para que el hidrocarburo pase a estar más disponible para *M. gilvum* VM552. Por otro lado, los ensayos realizados con distintos regímenes de aplicación de campo no mostraron entre sí diferencias significativas.

Bioaccesibilidad de los HAPs. Los experimentos de mineralización realizados en suspensiones inoculadas con *M. gilvum* VM552, tanto con los suelos originales (es decir, no tratados electrocinéticamente) como con muestras de los mismos suelos sometidas previamente a campo eléctrico, mostraron que la bioaccesibilidad de los HAPs había aumentado como consecuencia del tratamiento electrocinético. En muchos casos se observaron unas mayores velocidades máximas de mineralización para los HAPs estudiados en las muestras previamente tratadas en comparación con las velocidades observadas en los controles. Esto sugiere un aumento de la bioaccesibilidad del compuesto nativo en dichas muestras. Por otro lado, las cantidades residuales de los HAP nativos fue normalmente inferior en las muestras pretratadas que en los controles. Es razonable suponer que los cambios fisicoquímicos producidos en el suelo expuesto a tratamiento electrocinético pudieron promover la bioaccesibilidad de estos compuestos, favoreciendo de esta forma su biodegradación. Estos cambios fisicoquímicos a los que se hace referencia pudieron haber movilizado las fracciones de contaminante asociadas a los nanoporos del suelo, los cuales son a menudo inaccesibles para los microorganismos (Nam y Alexander, 1998). El desarrollo del flujo electroosmótico a través de los agregados del suelo pudo provocar una cierta “conversión” de la fracción de desorción más lenta del hidrocarburo hacia una fracción más rápida, de mayor bioaccesibilidad (Gómez-Lahoz y Ortega-Calvo, 2005).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos apuntan a que los procesos de biodegradación y electroósmosis pueden ser utilizados conjuntamente para la recuperación de suelos contaminados por HAPs, ya sea actuando simultánea o secuencialmente, mejorando los resultados obtenidos por cada uno de ellos de forma independiente. No obstante, la aplicación del campo eléctrico no fue suficiente por sí misma para movilizar los HAPs, siendo preciso el empleo de un tensioactivo para observar un efecto positivo del campo eléctrico sobre la biodegradación de los HAPs. Es más, la modalidad de aplicación del campo eléctrico afectó al rendimiento de la biodegradación, siendo mayor la desaparición de contaminante durante la aplicación no continuada del campo eléctrico. El efecto de un pretratamiento electrocinético del suelo pareció favorecer la biodegradación de los compuestos y ello es un aspecto a estudiar con más detalle en futuras publicaciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acar Y.B. y Alshawabkeh A.N. 1993. Principles of electrokinetic remediation. *Environ. Sci. Technol.*, 27: 2638-2647.
- Acar Y. B.; Gale R. J.; Alshawabkeh A.N.; Marks R.E.; Puppula S.; Bricka M. y Parker R. 1995. Electrokinetic remediation: basics and technology status. *J. Hazard. Mater.*, 40: 117-137.
- Alexander M. 1999. *Biodegradation and Bioremediation*, Academic Press, San Diego, CA, USA.
- Alexander M. 2000. Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants. *Environ. Sci. Technol.*, 34: 4259-4265.
- Alshawabkeh A.N. 2001. Basics and applications of electrokinetic remediation. *Handouts prepared for a short course*. 19-20 Noviembre 2001, Río de Janeiro, Brasil.
- Alshawabkeh A.N.; Yeung A.T. y Bricka M. 1999. Practical aspects of in situ electrokinetic extraction. *J. Environ. Eng.*, 125: 27-35.
- Atagana H.I.; Haynes R.J. y Wallis F. M. 2003. Optimization of soil physical and chemical conditions for the bioremediation of creosote-contaminated soil. *Biodegradation*, 14: 297-307.
- Bueno-Montes M. 2005. Biorrecuperación de suelos contaminados: Influencia de los agentes tensioactivos en la biodisponibilidad microbiana de hidrocarburos aromáticos policíclicos. *Tesis doctoral. Universidad de Sevilla* (España).
- Casagrande I.L. 1949. Electro-osmosis in soils. *Geotechnique*, 1: 159-177.
- Cherepy N.J. y Wildenschild, D. 2003. Electrolyte management for effective long-term electro-osmotic transport in low-permeability soils. *Environ. Sci. Technol.*, 37: 3024-3030.

- DeFlaun M.F. y Condee C.W. 1997. Electrokinetic transport of bacteria. *J. Hazard. Mater.*, 55: 263-277.
- Edmonds R. L. 1976. Survival of coliform bacteria in sewage sludge applied to a forest clearcut and potencial movement into groundwater. *Appl. Environ. Microbiol.*, 32: 537-546.
- Eweis J. B; Ergas S.J.; Chang D.P.Y. y Schroeder, E.D. 1998. Principios de biorrecuperación. Tratamientos para la descontaminación y regeneración de suelos y aguas subterráneas mediante procesos biológicos y fisico-químicos. McGraw Hill, Boston, MA., USA.
- F.A.O. 1970. Physical and Chemicals methods and Water analysis. *Soils Bulletin. Roma*, Volumen 10. FAO, Roma.
- Gómez-Lahoz C. y Ortega-Calvo J.J. 2005. Effect of slow desorption on the kinetics of biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environ. Sci. Technol.*, 39: 8776-8783.
- Gray D.H. 1970. Electrochemical hardening of clay soils. *Geotechnique*, 20: 81-93.
- Grolimund D. Borkovec M. Bartmettler K. y Sticher H. 1996. Colloid-facilitated transport of strongly sorbing contaminants in natural porous media: a laboratory column study. *Environ. Sci. Technol.*, 30: 3118-3123.
- Hamed J.T. y Bhadra, A. 1997. Influence of current density and pH on electrokinetics. *J. Hazard. Mater.*, 55: 279-294.
- Hatzinger P.B. y Alexander M. 1995. Effect of aging of chemicals in soil on their biodegradability and extractability. *Environ. Sci. Technol.*, 29: 537-547.
- Ho S.V.; Sheridan P. W.; Athmer C.J.; Heitkamp M.A.; Brackin J.M.; Weber, D. y Brodsky P.H. 1995. Integrated *in situ* soil remediation technology: the Lasagna process. *Environ. Sci. Technol.*, 29: 2528-2534.
- Iglesias-Jiménez E.; Poveda E.; Sánchez-Martín M.J. y Sánchez-Camazano M. 1997. Effect of the nature of exogenous organic matter on pesticide sorption by the soil. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 33: 117-124.
- Jackman S.A.; Maini G.; Sharman A.K. y Knowles C.J. 1999. The effects of direct electric current on the viability and metabolism of acidophilic bacteria. *Enzyme Microb. Technol.*, 24: 316-324.
- Jiradecha C.; Urgun-Dermatas M. y Pagilla K. 2006. Enhanced electrokinetic dissolution of naphthalene and 2,4-DNT from contaminated soils. *J. Hazard. Mater.*, 136: 61-67.
- Juhasz A.L. y Naidu R. 2000. Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: A review of the microbial degradation of benzo(a)pyrene. *Internat. Biodet. Biodegrad.*, 45: 57-88.
- Klute A. 1986. Methods of Soil Analysis. Physical and Mineralogical Methods. *Soil Sci. Soc. Am. J. Madison*, WI. USA.
- Ko S.O.; Schlautman M.A. y Carraway, E.R. 2000. Cyclodextrin-enhanced electrokinetic removal of phenanthrene from a model clay soil. *Environ. Sci. Technol.*, 34: 1535-1541.

- Lahlou M. y Ortega-Calvo J.J. 1999. Bioavailability of labile and desorption-resistant phenanthrene sorbed to montmorillonite clay containing humic fractions. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18: 2729-2735.
- Lear G.; Harbottle M.J.; van der Gast C.J.; Jackman S.A.; Knowles C.J.; Sills G. y Thompson I.P. 2004. The effect of electrokinetics on soil microbial communities. *Soil Biol. Biochem.*, 36: 1751-1760.
- Li Z.; Yu J.W. y Neretnieks I. 1998. Electroremediation: removal of heavy metals from soils by using cation selective membrane. *Environ. Sci. Technol.*, 32: 394-397.
- Madsen E.L. y Alexander M. 1982. Transport of *Rhizobium* and *Pseudomonas* through soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 46: 557-560.
- Maini G.; Sharman A.K.; Sunderland G.; Knowles C.J. y Jackman S.A. 2000. An integrated method incorporating sulfur-oxidizing bacteria and electrokinetics to enhance removal of copper from contaminated soil. *Environ. Sci. Technol.*, 34: 1081-1087.
- Mastandrea C.; Chichizola C.; Ludueña B.; Sánchez H.; Álvarez H. y Gutiérrez, A. 2005. Hidrocarburos aromáticos policíclicos. Riesgos para la salud y marcadores biológicos. *Acta Bioquím. Clin. Latinoam.*, 39: 27-36.
- Maturi, K. y Reddy, K.R. 2006. Simultaneous removal of organic compounds and heavy metals from soils by electrokinetic remediation with a modified cyclodextrin. *Chemosphere*, 63: 1022-1031.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. 1986. Métodos oficiales de análisis. Plantas, productos orgánicos fertilizantes, suelos, agua, productos fitosanitarios y fertilizantes inorgánicos. *Tomo III*. M.A.P.A., Madrid.
- Ministerio de Medio Ambiente. 2005. Nota de prensa 14 Enero de 2005. <<http://www.mma.es>>. M.M.A., Madrid.
- Mueller J.G.; Chapman P.J. y Pritchard, P.H. 1989. Creosote-contaminated sites. *Environ. Sci. Technol.*, 23: 1197-1201.
- Nam K. y Alexander M. 1998. Role of nanoporosity and hydrophobicity in sequestration and bioavailability: Tests with model solids. *Environ. Sci. Technol.*, 32: 71-74.
- Niqui-Arroyo J.L.; Bueno Montes M.; Posada Baquero R. y Ortega Calvo J.L. 2006. Electrokinetic enhancement of phenanthrene biodegradation in creosote polluted soil. *Environ. Pollut.*, 142: 326-332.
- Niqui-Arroyo J.L. y Ortega-Calvo, J.J. 2007. Integrating biodegradation and electroosmosis for the enhanced removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from creosote-polluted soils. *J. Environ. Qual.*, 36: 1444-1451.
- Ortega-Calvo J.J.; Birman I. y Alexander M. 1995. Effect of varying the rate of partitioning of phenanthrene in nonaqueous-phase liquids on biodegradation in soil slurries. *Environ. Sci. Technol.*, 29: 2222-2225.
- Page A.L.; Miller R.H. y Keeny D. R. 1982. Methods of Soil Analysis. Chemical and Microbiological Properties. *Soil Sci. Soc. Am. J. Madison*, WI. USA.
- Pamuckcu S. 1997. Electro-chemical technologies for in-situ restoration of contaminated subsurface soils. *Electronic Journal of Geotechnical Engineering*, 2: 1-34.

- Reddy K.R. y Saichek R.E. 2004. Enhanced electrokinetic removal of phenanthrene from clay soil by periodic electric potential application. *J. Environ. Sci. Health*, A39, n° 5: 1189-1212.
- Reddy K.R. y Saichek R.E. 2003. Effect of soil type on electrokinetic removal of phenanthrene using surfactants and cosolvents. *J. Environ. Eng.*, 129: 336-346.
- Rehm H.J.; Reed G.; Püller A. y Stadler P. 2000. Biotechnology, volume 11b; Environmental processes (II). Wiley-VCH, Weinheim.
- Saichek R.E. y Reddy K.R. 2003b. Effects of system variables on surfactant enhanced electrokinetic removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from clayey soils. *Environ. Technol.*, 24: 503-515.
- Saichek R.E. y Reddy K.R. 2003a. Effect of pH control at the anode for the electrokinetic removal of phenanthrene from kaolin soil. *Chemosphere*, 51: 273-287.
- Schultz D.S. 1997. Electroosmosis technology for soil remediation: laboratory results, field trial, and economic modelling. *J. Hazard. Mater.*, 55: 81-91.
- Shapiro A.P. y Probstein R.F. 1993. Removal of contaminants from saturated clay by electroosmosis. *Environ. Sci. Technol.*, 27: 283-291.
- Sonja S.; Essi M.; Jarmo K.; Hannu S. y Martin, R. 2007. Electrokinetically enhanced bioremediation of creosote-contaminated soil: Laboratory and field studies. *J. Environ. Sci. Health*, 42: 277-287.
- Van Herwijnen R. 2003. Metabolic and cometabolic biodegradation. *Tesis doctoral. Universidad de Amsterdam*.
- Virkutyte J.; Sillanpää M. y Latostenmaa P. 2002. Electrokinetic soil remediation - critical overview. *Sci. Total Environ.*, 289: 97-121.
- White J.C. y Alexander M. 1996. Reduced biodegradability of desorption-resistant fractions of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil and aquifer solids. *Environ. Toxicol. Chem.*, 15: 1973-1978.
- Wick L.Y.; Mattle P.A.; Wattiau P. y Harms H. 2004. Electrokinetic transport of PAH-degrading bacteria in model aquifers and soil. *Environ. Sci. Technol.*, 38: 4596-4602.
- Wick L.Y.; Shi L. y Harms H. 2007. Electro-bioremediation of hydrophobic organic soil-contaminants: A review of fundamental interactions. *Electrochim. Acta*, 52: 3441-3448.
- Wick L.Y.; Springael D, y Harms H. 2001. Bacterial strategies to improve the bioavailability of hydrophobic organic pollutants. In R. Stegmann, G. Brunner, W. Calmano, and G. Math (ed.), *Treatment of Contaminated Soil*, Springer-Verlag, Berlin., 1: 203-217.
- Wick L.Y.; Wattiau P. y Harms H. 2002. Influence of the growth substrate on the micolic acid profiles on *Mycobacterium*. *Environ. Microbiol.*, 4: 612-616.
- Yuan C. y Weng C.H. 2004. Remediating ethylbenzene-contaminated clayey soil by a surfactant-aided electrokinetic (SAEK) process. *Chemosphere*, 57: 225-232.

MODIFICACIÓN DE LA SUPERFICIE DE MONTMORILLONITA PARA LA ADSORCIÓN DE IPRODION

M. Pantanetti, M. dos Santos Afonso y R. M. Torres Sánchez

*CETMIC. Camino Centenario y 506, CC 49, (B1897ZCA) M. B. Gonnet.; *Dep. de Química Inorgánica, Analítica y Química Física e INQUIMAE, FCEN, UBA, Ciudad Universitaria, Pabellón II. Buenos Aires, C1428EHA (Argentina). E-mail: <rosats@cetmic.unlp.edu.ar>.*

Resumen: Se utilizó la arcilla montmorillonita y sus productos de tratamiento mecánico y térmico para identificar los sitios superficiales de adsorción del fungicida iprodion. La superficie interna de las muestras modificadas por tratamiento térmico disminuyó por colapso de la intercapa, presentando un pequeño incremento de microporosidad. Por otra parte, el tratamiento mecánico generó la ruptura de los cristales con un importante aumento de la microporosidad. La mayor adsorción del fungicida en la muestra tratada mecánicamente indicó a la microporosidad como el principal sitio de adsorción. El tratamiento térmico el análisis del pico de reflexión d(001), también mostró una participación de la superficie de la intercapa como sitio de adsorción del fungicida.

Palabras clave: Fungicidas, sitios de adsorción, montmorillonitas.

Montmorillonite Surface Modification for Iprodion Adsorption

Abstract: *The montmorillonite clay and their mechanical and thermal treatment products were used to identify the iprodione fungicide adsorption sites. The decrease of the inner surface of the samples modified by heat treatment was due to the collapse of the interlayer that also presents a small increase of microporous. The mechanical treatment broke the crystalline structure, with a significant increase in the micropores. The higher adsorption of fungicide on the sample treated mechanically, indicates the microporous surface is the main site of adsorption. The analysis of the reflection peak d(001) of the initial and the thermal treated sample showed that the fungicide is also adsorbed in the interlayer surface.*

Key words: Fungicides, adsorption sites, montmorillonite.

INTRODUCCIÓN

El fungicida Iprodion, de la familia de las dicarboximidias, es de amplio uso en el control de las especies *Rhizoctonia solana* Kuhn, generadora de manchas marrones en el césped utilizado generalmente en campos de golf (Carmona *et al.*, 1992, 1994; Barreto *et al.*, 1993, 1994 a, 1996) y *Drechslera teres*, manchas en red de la cebada cervecera (Reis *et al.*, 1993, 1995, 1997; Forcelini 1992; Barreto y Carmona 1994 b), extendiéndose también su aplicación a las especies *Botrytis cinerea* y de los géneros *Monilia* y *Sclerotinia*, para proteger cultivos de frutillas (o fresas), uvas, plantas ornamentales y horticultura (Meister *et al.*, 2004).

En Argentina existe una aplicación creciente de este fungicida, originada principalmente por el aumento del consumo interno de cerveza y por la gran exportación de malta a Brasil. Su utilización en distintos cultivos ha generado estudios para determinar su contenido residual en productos alimenticios, estando generalmente, presente en concentraciones menores a la permitida por límites legales (Molinari *et al.*, 1980; Cabras *et al.*, 1982; Flori *et al.*, 1982 a, b). Sin embargo, Sandra *et al.* (2001) detectaron concentraciones superiores a $65 \mu\text{g L}^{-1}$ de iprodion en vinos y sus destilados, debido a que éste no es removido o metabolizado completamente durante el proceso vitivinícola (Cabras *et al.*, 1999; Cabras y Angioni 2000; Ripley *et al.*, 2000).

Respecto de la degradación del Iprodion en el suelo la información existente también es contradictoria, ya que, en presencia de ácidos húmicos y concentraciones de iprodion menores a 10 mg L^{-1} , se degrada completamente (Garbin *et al.*, 2007), pero las concentraciones encontradas en lixiviados de distintos suelos (Suzuki, 2000) y los residuos detectados en aguas de escorrentía de campos de golf indican que deben tomarse restricciones para su uso (Strömquist y Jarvis, 2005). La vida media de este fungicida en el suelo, con un K_{oc} de $400 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$, es dependiente de la temperatura; su degradación tiene una fase inicial rápida de 17 días de vida media, disminuyendo a los 5 días (con 38 días de vida media; Strömquist y Jarvis, 2005). Estos parámetros se modifican también en función del pH, generando el metabolito 3,5- DCA (Vanni *et al.*, 2000).

Por lo dicho, es necesario un mejor conocimiento de los procesos que afectan la retención del Iprodion en suelos para minimizar los consiguientes impactos medioambientales por lixiviado. Debido a la complejidad de los compuestos presentes, y para modelar las interacciones en distintos suelos, en este trabajo se analiza la adsorción sobre una montmorillonita y los productos derivados de su tratamiento térmico y mecánico.

La elección de estos productos fue debida a que el tratamiento térmico, originado en los suelos por la práctica de tala y quema (Ewel *et al.*, 1981) provoca el colapso de la intercapa de la montmorillonita, genera un enriquecimiento en iones aluminio y/o cationes hidroxialuminio en el borde de las

láminas de la montmorillonita (Bojemueller *et al.*, 2001) y un aumento de la microporosidad. En cambio, el tratamiento mecánico no sólo produce una destrucción de la estructura cristalina de la montmorillonita, sino que afecta a la capa octaédrica, disminuyendo las fuerzas de cohesión entre ésta y la capa tetraédrica (Volzone *et al.*, 1987), lo cual lleva también a un aumento de la microporosidad del sólido resultante. Ambos tratamientos pueden cambiar los procesos de adsorción de moléculas orgánicas.

Se caracterizó la montmorillonita previamente (Pantanetti *et al.*, 2008) evidenciándose, por UV-visible, la interacción entre el Ca^{++} de la intercapa de la arcilla y el fungicida. Esto último originó la necesidad de homoionizar esta arcilla con Na^+ para eliminar la interferencia.

El objetivo del presente trabajo fue caracterizar la adsorción del iprodion sobre una montmorillonita y los productos derivados de su tratamiento térmico y mecánico en condiciones ambientales de temperatura y de pH, con el fin de determinar los sitios de la adsorción.

MATERIALES Y MÉTODOS

La montmorillonita utilizada proviene de la provincia de Río Negro (Argentina). La fórmula estructural de esta muestra fue determinada en trabajos anteriores (Martínez y Torres Sánchez 2005), siendo la misma: $(\text{Si}_{3,81} \text{Al}_{0,09}) [\text{Al}_{1,43} \text{Fe}_{0,27} \text{Mg}_{0,30}] \text{M}^+_{0,39}$, donde entre paréntesis está indicada la capa tetraédrica y entre corchetes la octaédrica de la arcilla y M^+ representa los cationes de la intercapa que equilibran la sustitución isomórfica (de Al^{3+} por Si^{4+} en la capa tetraédrica y de Fe^{2+} o Fe^{3+} y Mg^{2+} por Al^{3+} en la octaédrica) existente en dichas capas. El contenido de los cationes de la intercapa, determinado por análisis químico y expresado como óxidos, fue de 0,87 % CaO , 1,52 % Na_2O y 0,14 % K_2O .

Una muestra de esta montmorillonita (M) fue homoionizada con Na, suspendiendo 100 g de la misma con NaCl 0,1 M y manteniendo la suspensión en agitación durante 2 h. Este intercambio se repitió dos veces, separando el sobrenadante de cada intercambio por centrifugación. Posteriormente, se lavó con agua destilada por centrifugación a 15000 rpm hasta eliminación del Cl^- , separando en este proceso la fracción $<2 \mu\text{m}$ de la muestra. Esta fracción se secó a 60°C y se la identificó como Na-M. Distintas fracciones de Na-M fueron tratadas mecánica y térmicamente, por molienda en molino Herzog durante 300 segundos (muestra Na-M300s) y por calentamiento a 550°C durante 3 h (muestra Na-M550C), respectivamente.

El iprodion, 3-(3,5 diclorofenil)-N-isopropil-2,4-dioximidazolidina-1-carboxamida, fue suministrado por la firma *Chem Service West Chester* de Filadelfia (99 % de pureza) y utilizado sin otro tratamiento.

El iprodion es un polvo cristalino blanco, con PM 330,17; punto de fusión 134 °C; y solubilidad en agua 96,1 %. La Fig. 1 indica su estructura química.

La constante cinética de degradación del iprodion se determinó a temperatura ambiente (20 °C) y pH 6,0 (Vanni *et al.*, 2000). La concentración del iprodion, a los distintos tiempos, se determinó por espectroscopía UV-Visible (= 212 nm), utilizando un espectrofotómetro Hewlett Packard 8453. Cada determinación experimental se realizó por duplicado.

Las suspensiones acuosas de montmorillonita, previo a su uso en las distintas adsorciones, en las concentraciones 0,01 y 0,001 % p/p, fueron equilibradas con agitación, a pH 6,0 durante 10 días, mediante adición de alícuotas de HCl y NaOH.

La superficie específica (S_{N_2}) se evaluó por adsorción de N_2 en un equipo *Micromeritics*, modelo TriStar 3000. Las muestras fueron secadas en vacío a 100 °C durante 6 h antes de la adsorción de N_2 . El volumen de microporos y los valores de S_{N_2} fueron obtenidos utilizando el software *Micromeritics* asociado con el equipo. La superficie total (S_w) se determinó por adsorción con vapor de agua (Torres Sánchez y Falasca 1997). La superficie interna (S_{int}) o de la intercapa fue calculada por diferencia entre S_w y S_{N_2} .

Los análisis de difracción de rayos X (DRX) se llevaron a cabo con un equipo Philips 3710 a 40 Kv y 20 mA, con radiación $CuK\alpha$ y filtro de Ni. Las condiciones de medida fueron 0,02° (2λ), 1 segundo por paso y la reflexión d(001) se determinó en el rango de 3 a 14° (2λ). Las muestras se analizaron utilizando los métodos: a) Muestra orientada, secada a temperatura ambiente en humedad constante de 0,47, durante 48 h, y b) Muestra semiorientada en polvo, previo secado a 80 °C durante 24 h.

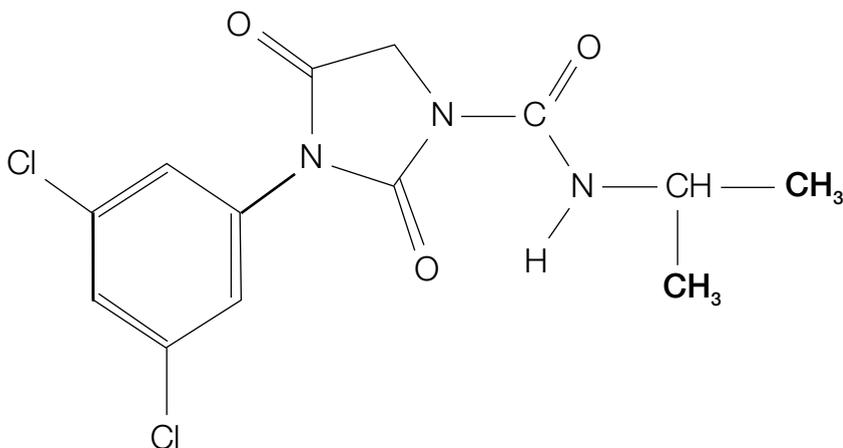


Figura 1. Estructura del iprodion.

Los espectros IR fueron realizados en un equipo FTIR *Spectrum One* de Perkin Elmer, en pastillas de KBr (0,3 mg muestra + 200 mg KBr).

La cinética de equilibrio de las adsorciones del iprodion en la montmorillonita se determinó en *batch* para dos suspensiones al 0,01 y 0,001 % (p/p) de las muestras Na-M, Na-M300s y Na-M550C en agua. Las experiencias se realizaron en tubos de plástico de 10 mL de capacidad, a temperatura ambiente, con agitación y con concentración inicial del fungicida de 0,39 mM.

Para realizar las isotermas de adsorción del iprodion en la montmorillonita las adsorciones se realizaron en suspensiones al 0,001 % (p/p) para todas las muestras en las mismas condiciones que las indicadas precedentemente, con agitación durante 24 h y concentración inicial del fungicida entre 0,06 y 0,51 mM. Las muestras con adsorción de iprodion se identificaron anteponiéndoles la letra I (I-Na-M, *etc.*).

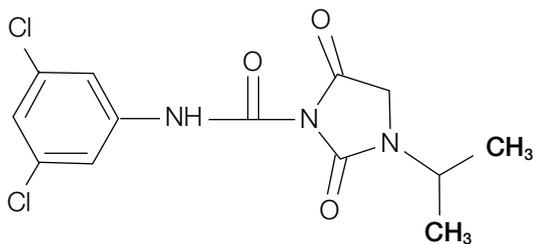
La cantidad de fungicida adsorbida se determinó por diferencia entre la concentración inicial y la del sobrenadante. La solución sobrenadante se separó por centrifugación a 3000 rpm y posterior filtrado a través de membranas de nitrocelulosa de tamaño de poro de 0,2 μm . La curva de calibración mostró linealidad entre 3×10^{-2} y 3×10^{-3} mM. Los puntos de las curvas de adsorción se realizaron por duplicado. La cantidad de fungicida en el sobrenadante fue analizada por espectroscopía UV-Visible, en las mismas condiciones en las que se determinó la constante de degradación del iprodion.

Las muestras con iprodion adsorbido utilizadas para IR y DRX se obtuvieron con la misma metodología que la indicada precedentemente, a partir de suspensiones al 1 % p/p.

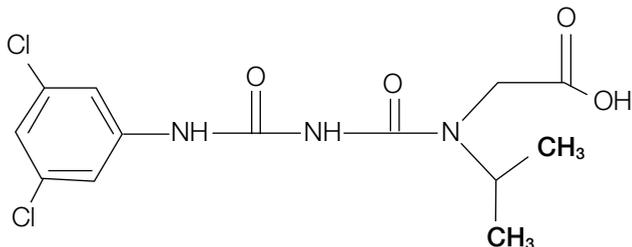
RESULTADOS

1. Cinética de degradación del iprodion

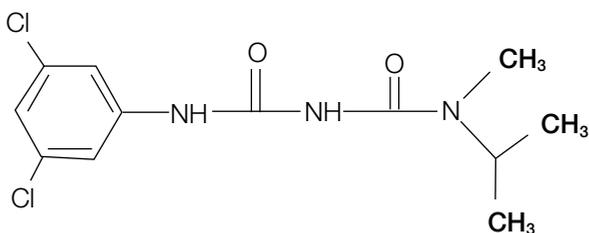
En un trabajo anterior (Pantanetti *et al.*, 2008) se evidenciaron variaciones en los espectros UV-visible, a temperatura ambiente de soluciones de iprodion equilibradas a distintos pHs en función del tiempo. Estos cambios fueron atribuidos a la hidrólisis del iprodion con generación del isómero 3-isopropil-N-(3,5-diclorofenil)-2,4-dioxo-1-imidazolidina-carboxamida (Fig. 2; Newsome y Collins 1990). Trabajos posteriores (Vanni *et al.*, 2000) evidenciaron la formación paralela de otros dos productos de degradación, a partir de 3 días a pH 6,0 y 35 °C (indicados en la Fig. 2) con una velocidad de degradación de pseudo primer orden con constantes de velocidad (K_{obs}) influenciadas más fuertemente por el pH que por la temperatura (K_{obs} : $1,4 \times 10^{-4}$, $1,07 \times 10^{-3}$ y $268 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$, a pH 6,0 a 35 y 55 °C y pH 8,7 a 35 °C, respectivamente).



Isómero 3-5



Producto degradación 2



Producto degradación 3

Figura 2. Estructura de los productos de degradación del iprodion.

Debido a la labilidad del iprodion a 20°C y pH 6,0 fue necesario determinar la constante de la velocidad de degradación a esta temperatura. La Fig. 3 muestra: (A) el espectro UV-visible; y (B) la cinética de degradación, para una concentración inicial de $2,4 \cdot 10^{-2}$ mM, pH 6,0 y 20 °C.

El espectro UV-visible del iprodion, para tiempos superiores a 24 h, evidenció la formación de su producto de degradación (Fig. 3A) con un máximo de absorbancia a 248 nm (Vanni *et al.*, 2000). La comparación de los espectros a $\lambda = 212$ y 248 indican la presencia de un punto isobéptico en 248 nm.

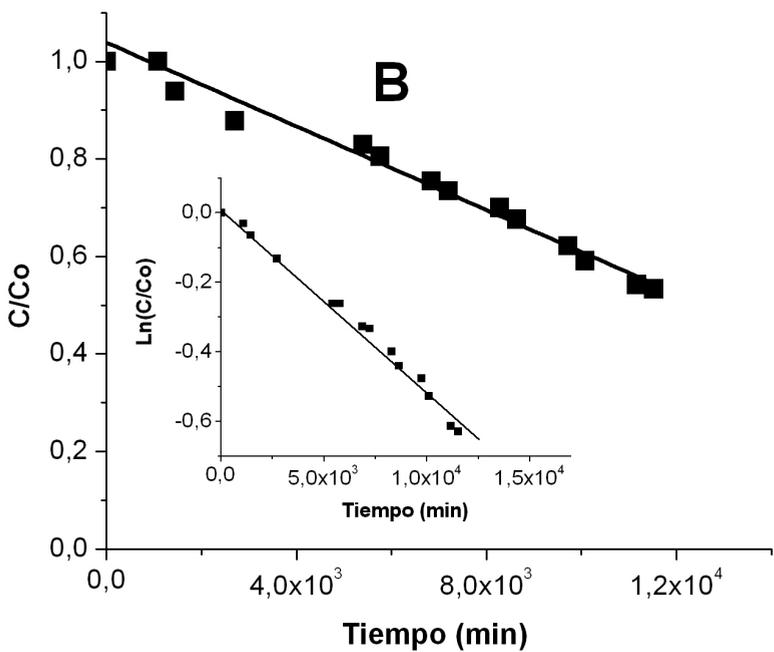
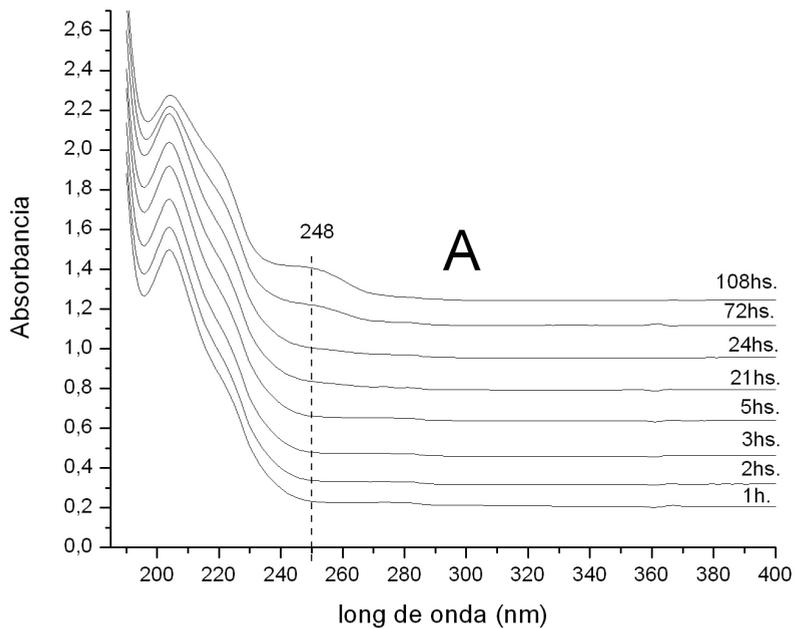


Figura 3. (A) Espectro UV-visible de iprodion y (B) cinética de degradación. Condiciones: Concentración inicial de iprodion $2,4 \cdot 10^{-2}$ mM, pH 6,0 y 20°C .

Desde un punto de vista cinético los resultados de la degradación primaria (Fig. 3B) del iprodion, en las condiciones de pH 6,0 y 20 °C, indican una ley de pseudo primer orden, descritos por la siguiente ecuación:

$$-dC/dt = k_{obs} C; \quad \text{ecuación 1}$$

donde C es la concentración del sustrato y k_{obs} es la constante observada de primer orden. El valor de $k_{obs} = 5 \cdot 10^{-5} \text{ min}^{-1}$ es coherente con los datos obtenidos por Vanni *et al.* (2000) para otras temperaturas.

2. Caracterización de las montmorillonitas

La Tabla 1 indica los valores de S_{N_2} , volumen de microporos, Sw y S_{int} para las tres muestras: Montmorillonita sódica (Na-M) y los productos derivados de su tratamiento mecánico (Na-M300s) y térmico (Na-M550C).

Se evidencia es colapso de la intercapa de la montmorillonita (discutido a continuación con los resultados de DRX) con ambos tratamientos por la disminución de la medida de Sw, originado por la disminución de la superficie de la intercapa donde se localizan los iones de intercambio catiónico hidratados y que generan la inaccesibilidad de la molécula de N_2 (Mooney *et al.*, 1952). Los valores de S_{N_2} de las muestras Na-M y Na-M550C siguen la misma tendencia que los valores de la superficie específica encontrados por Bojemueller *et al.* (2001); mientras que la muestra Na-M300s manifiesta un aumento significativo en el valor de S_{N_2} generado por un aumento en el volumen de microporos y una disminución importante en el valor de Sw que indica la desaparición de la intercapa.

Los picos de reflexión d(001) obtenidos en los DRX de las muestras orientadas y d(001) y d(060) de las muestras semiorientadas, de Na-M, Na-M550C y Na-M300s se presentan en la Fig. 4 A, B y C, respectivamente.

Muestra	S_{N_2} (m ² /g)	Volumen Microporos	Sw (m ² /g)	S_{int} (m ² /g)
		(cc/g)		
Na-M	65	0,0196	731	666
Na-M _{300s}	146	0,0423	25	-
Na-M _{550C}	54	0,0133	253	199

Tabla 1. Superficies específicas y volumen de microporos.

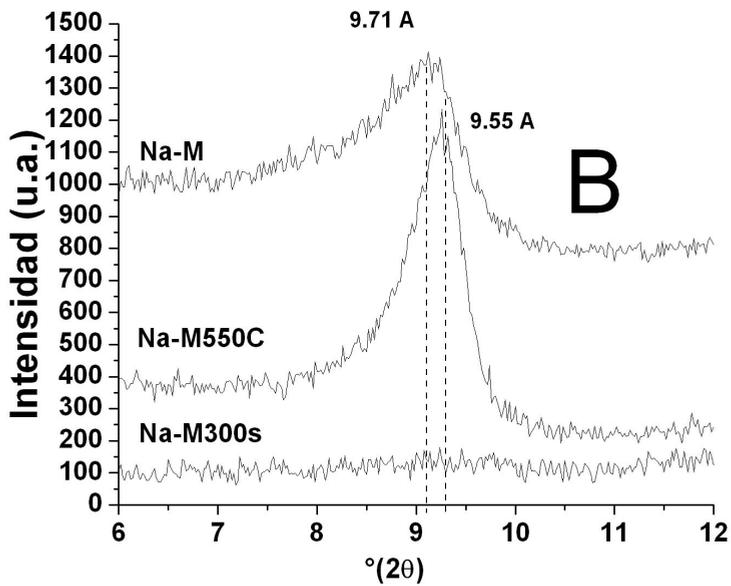
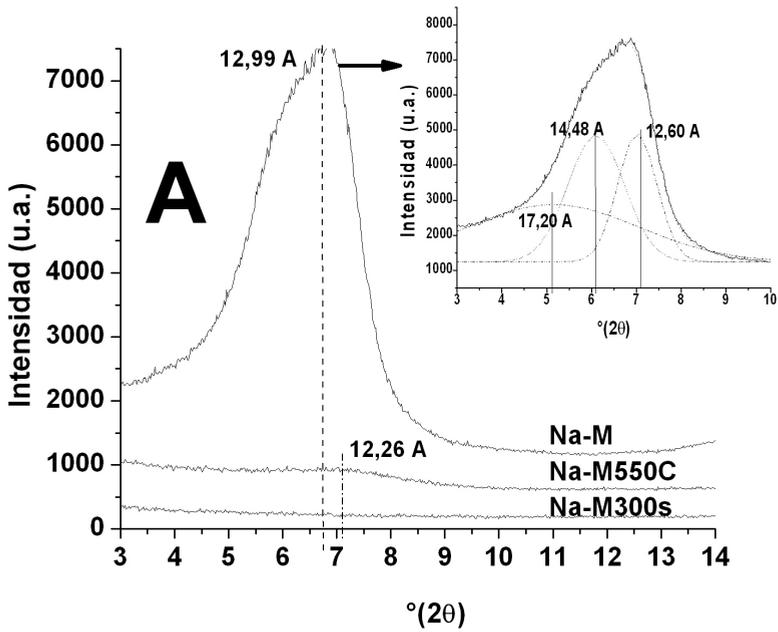


Figura 4. Picos de reflexión d(001) de las muestras indicadas (A) orientadas $rh = 0,47$; (B) semiorientadas secas $80\text{ }^{\circ}\text{C}$. (Continúa...).

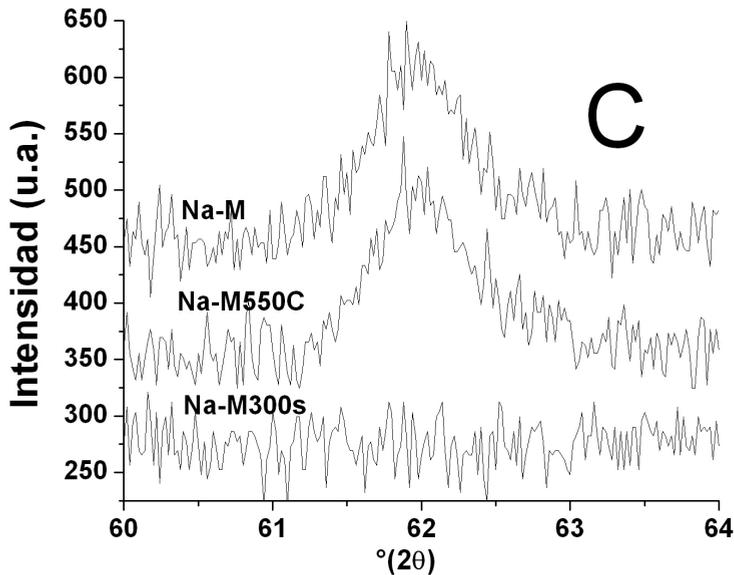


Figura 4. Espectros de IR de: (C) d(060) semiorientadas secas 80 °C. (Concluye).

En el recuadro insertado en el borde superior de la Fig. 4 A puede verse la descomposición matemática del pico de reflexión d(001), con un ajuste entre la curva experimental y la resultante de la suma de las tres curvas Gaussianas correspondiente a $R^2 = 0.998$. Las tres curvas de la Fig. 4, evidencian la presencia en la intercapa de recubrimientos con distinta cantidad de moléculas de agua. Considerando el tamaño de la molécula de agua de 2,2 Å (Naono y Hakuman, 1993) se puede asignar la formación de una monocapa a 12,60 Å; una bicapa a 14,48 Å y una tricapa de agua a 17,20Å (correspondientes a 7,02, 6,10 y 5,15° (2λ)). La comparación de este mismo pico entre las muestras Na-M y Na-M550C (Fig. 4 A) permite evidenciar el colapso de la intercapa de la montmorillonita, originado por el tratamiento térmico, con el corrimiento del pico de reflexión d(001) hacia ángulos de difracción más altos (o disminución en valores de Å, correspondientes a 12,99 y 12,26 Å, para las muestras Na-M y Na-M550C, respectivamente). La notable disminución de la intensidad y ensanchamiento del mismo pico de reflexión d(001) en la muestra M550C indica la desestabilización del plano basal, originada principalmente por la pérdida de moléculas de agua. El tratamiento mecánico genera la desaparición del pico de reflexión d(001), indicando un cambio estructural importante en el plano basal (ab).

El análisis de las muestras Na-M y Na-M550C secas (Fig. 4 B) revela un corrimiento del espaciado de la intercapa de 12,99 y 12,26 Å a 9,71 y 9,55

Å, para Na-M y Na-M550C, respectivamente, originado por la eliminación del agua interlamilar, lo cual corresponde a una variación de alrededor de 2Å.

La Fig. 4 C, muestra un pico de reflexión d(060) similar para las muestras Na-M y Na-M550C, indicando la escasa variación de los planos ac y bc (Dellissanti y Valdre, 2005). Por el contrario, la desaparición de este pico de reflexión en la muestra Na-M300s, evidencia la modificación estructural de dichos planos.

Las bandas de absorción típicas de los grupos constituyentes del iprodion se muestran en la Fig. 5 A. Los espectros de IR de las tres muestras Na-M, Na-M550C y Na-M300s (Fig. 5 B) muestran la banda de absorción a 3644 cm^{-1} , asignada a los grupos OH octaédricos, que es independiente del tratamiento efectuado sobre la montmorillonita, mientras que las bandas de absorción a 1521 y 1366 cm^{-1} , asignadas a las vibraciones del agua adsorbida, disminuyen con ambos tratamientos coincidiendo con lo encontrado por Emmerich *et al.* (1999) para el aumento de temperatura en montmorillonitas homoiónicas. En la región de las vibraciones M-O y flexión-OH (entre 450 y 1200 cm^{-1}) no se pueden apreciar cambios originados por los dos tratamientos.

3. Adsorción del iprodion

El tiempo de equilibrio de adsorción para las tres muestras se representa en la Fig. 6. Los valores de las adsorciones se normalizaron respecto al área superficial para tener una mejor comparación debido a las importantes diferencias existentes entre las áreas superficiales de las muestras con diferentes tratamientos. Para la normalización de las muestras Na-M y Na-M550C se utilizó el valor de S_w , mientras que para la muestra Na-M300s se utilizó el valor de S_{N_2} debido a que en este caso la intercapa se encuentra totalmente colapsada, no siendo accesible para el fungicida y, por ende, no participa en el proceso de adsorción. En el cálculo de los recubrimientos superficiales se tuvo en cuenta el valor de la k_{obs} para corregir las concentraciones medidas teniendo en cuenta la contribución de la degradación abiótica del fungicida.

La Fig. 6 indica que en todos los casos el equilibrio es alcanzado en un período mínimo de 1 h; por razones de normalización se adoptó un tiempo de equilibrio de 24 h para las curvas posteriores. En todas las muestras se evidenció una disminución de la adsorción, cercana a un 15 %, a partir de las 48 h de contacto, probablemente debido a la contribución de la degradación del iprodion en fase homogénea, lo que reduce la concentración de equilibrio. En todas las muestras la mayor adsorción fue obtenida para la menor cantidad de arcilla utilizada (0,001 % p/p); esta concentración de la suspensión se eligió para realizar las isotermas de adsorción representadas en la Fig. 7.

Todas las isotermas fueron descritas por las ecuaciones de Langmuir. La Tabla 2 indica los valores de las constantes de las curvas de Langmuir y el recubrimiento máximo para cada una de las muestras, expresado en función de la superficie (S_w para Na-M y Na-M550C y S_{N_2} para Na-M300s) de las muestras.

Los datos de la Tabla 2 muestran que el mejor adsorbente es la muestra Na-M300s con un parámetro de monocapa de 0,204 mmol iprodion m⁻², mientras que para las muestras Na-M y Na-M550C el recubrimiento máximo disminuyó 5 y 2 veces (0,043 y 0,089 mmol iprodion m⁻²), respectivamente. La normalización de las curvas en función de la superficie total (S_w) pone en evidencia la mayor adsorción generada por las muestras tratadas frente a la muestra Na-M. En particular, la diferencia de los valores de recubrimiento

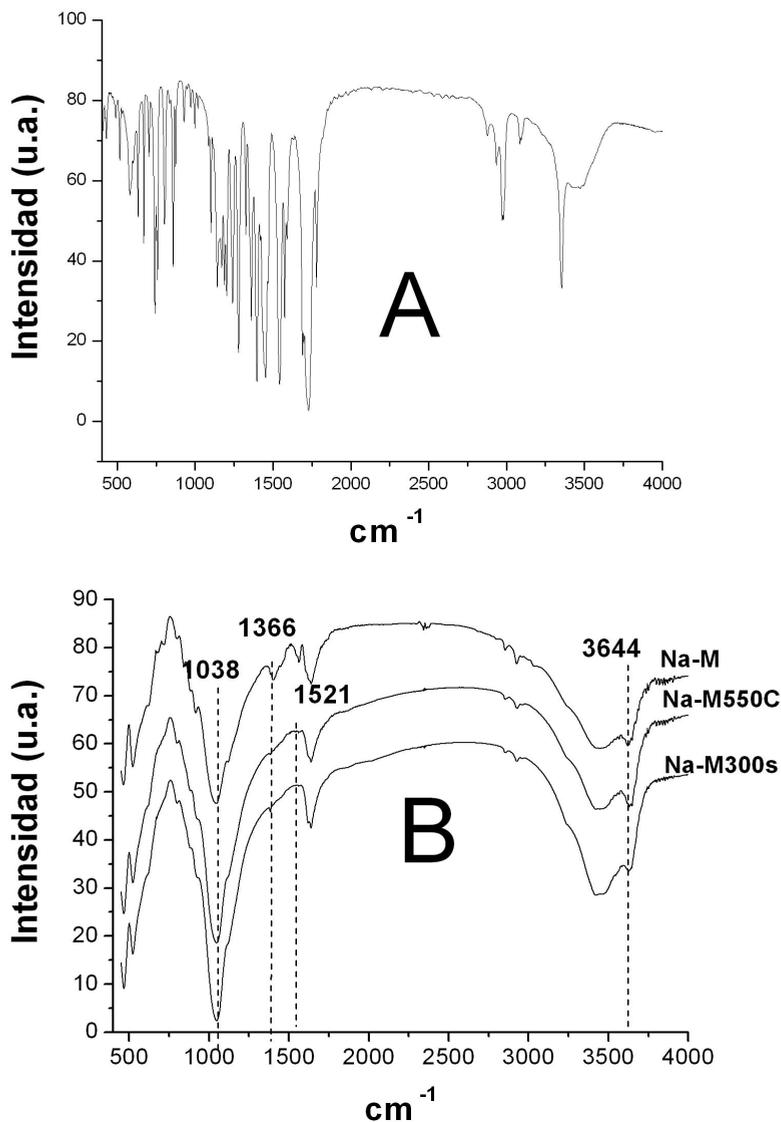


Figura 5. Espectros de IR de: (A) iprodion; y (B) muestras de montmorillonitas.

máximo entre las muestras Na-M y Na-M550C no puede asignarse a diferencias entre los valores de la CIC debido a que este valor no cambia con la temperatura (Emmerich *et al.*, 1999). El aumento de microporosidad (Tabla 1) de las muestras tratadas parecería ser el principal responsable del aumento de la adsorción, en coincidencia con lo hallado por Bojemueller *et al.* (2001) para el herbicida metolaclor.

Para determinar el arreglo geométrico del iprodion adsorbido sobre la montmorillonita se determinó el tamaño de la molécula utilizando el software *Hiperchem*. Las dimensiones del fungicida determinadas fueron: Largo, 14,0 Å; alto 5,0 Å; y ancho 3,5 Å (desarrollando un área de 508 Å²).

La interacción de los sitios de la intercapa con el iprodion se evaluaron mediante el análisis del pico de reflexión d(001) de las muestras con iprodion adsorbido (Fig. 8 A y B), orientadas y secadas a humedad relativa 0,47; y para no alterar la molécula de iprodion se analizaron también semiorientadas y secas a temperatura y humedad ambiente.

El análisis de la Fig. 8 A indica que la adsorción de iprodion a pH 6,0; en la muestra I-Na-M, no parece modificar marcadamente el pico d(001) del espectro, mientras que en la muestra I-Na-M550C genera un aumento marcado de la intensidad y corrimiento del pico d(001) de 12,26 (Fig. 4 A) a 13,00 Å. El recuadro insertado en el borde superior de la Fig. 8 A es nuevamente la descomposición matemática del pico de reflexión d(001), con una R²= 0,991 para la muestra I-Na-M, que coincide con la obtenida para la muestra I-Na-M550C; en la misma se observa la presencia

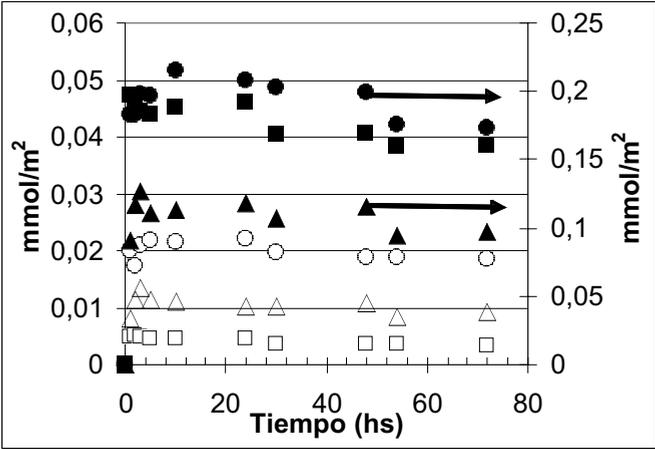


Figura 6. Tiempo de equilibrio para las muestras Na-M (□), Na-M550C (△) y Na-M300s (○). Los símbolos llenos y vacíos corresponden a suspensiones de 0,001 y 0,01% p/p, respectivamente. Los puntos representan las medias para duplicados.

de una bicapa de agua que lleva el valor de la intercapa a 14,40 Å y otro pico a 12,98 Å, el cual podría asignarse a la presencia de una monocapa de agua. El aumento de intensidad encontrado en la muestra I-Na-M550C, respecto a la muestra Na-M550C (Fig. 4 A), no puede asignarse directamente a la inserción del fungicida en la intercapa, debido a la presencia de agua y la posible reversibilidad del colapso de dicha superficie. Este último comportamiento hizo necesario la medición de este pico en muestras secas y semiorientadas, para confirmar la inserción del fungicida en la intercapa. La reflexión d(001) de la muestra I-Na-M300s no difiere del de la muestra Na-M300s, confirmando que la ruptura de los cristalitos es irreversible.

La Fig. 8 B muestra una notoria diferencia entre los picos de reflexión d(001) de las muestras secas con iprodion y las de la Fig. 4 B (sin iprodion). El corrimiento de este pico de reflexión a 13,38 y 12,90 Å, para las muestras I-Na-M y I-Na-M550C, de 3,67 y 3,35 Å, respectivamente, y el valor

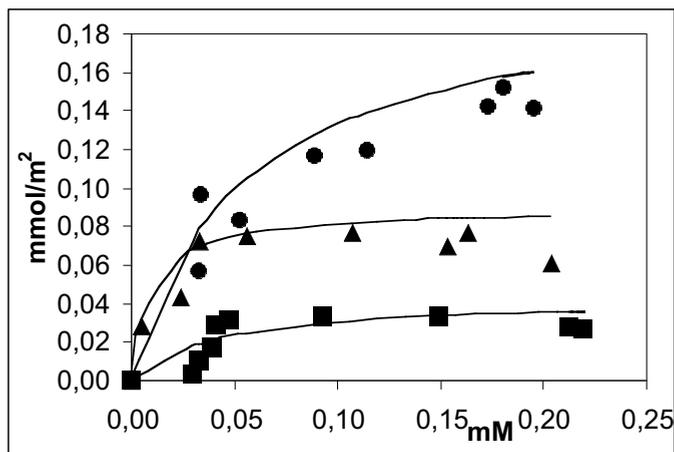


Figura 7. Isothermas de adsorción de iprodion. Símbolos: (■) Na-M; (▲) Na-M550C y (●) Na-M300s. Los puntos representan las medias para duplicados y la desviación máxima fue menor que $\pm 5\%$ de los valores medios. Las líneas fueron calculadas usando las isothermas de Langmuir y los datos de la Tabla 2.

Tabla 2. Constantes de Langmuir (K) y recubrimiento máximo ($\Gamma = \max$) a pH 6,0 para una monocapa de iprodion ($T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$) en las muestras indicadas.

	Na-M	Na-M550C	Na-M300s
K (L/mmol)	23,3	100,6	18,6
Γ_{\max} (mmol/m ²)	0,0427	0,0889	0,2042

de ancho ($3,5 \text{ \AA}$) determinado para la molécula de iprodion, permite indicar la inserción del fungicida, en forma plana, en esta superficie. El espectro de la muestra I-Na-M300s (no mostrado) no evidenció diferencias con el obtenido para la muestra sin iprodion.

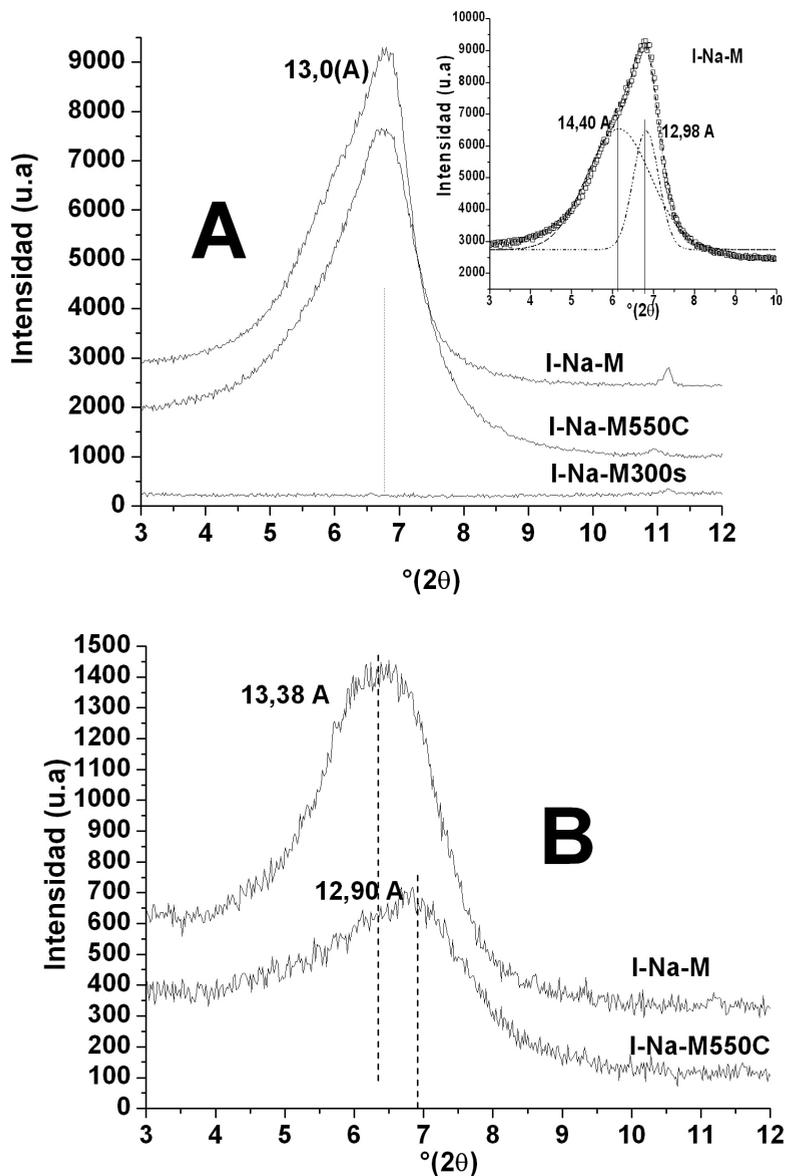


Figura 8. Pico de reflexión d(001) de las muestras con iprodion: (A) orientadas $rh=0,47$; y (B) semiorientadas secas a temperatura y humedad ambiente.

El análisis por IR de mezclas sólidas (adsorbente/adsorbato), en iguales proporciones que las obtenidas en las adsorciones (figura no presentada), no mostró variaciones respecto a las muestras sin iprodion (Fig. 5 B). La adsorción de iprodion (Fig. 9) genera una banda de absorción a 1750 cm^{-1} y otra a 750 cm^{-1} , las cuales se asignan grupos amidas y benceno sustituidos del iprodion (Lide, 1994) y que indicarían la adsorción del mismo en las muestras de montmorillonita.

DISCUSIÓN

La caracterización de las muestras de montmorillonita con distintos tratamientos permitió determinar los cambios de la superficie interna por colapso de la intercapa y por destrucción cristalina, con generación de mayor microporosidad en la muestra tratada mecánicamente. Debido a que todas estas superficies son aptas para la adsorción del fungicida el análisis por DRX permite determinar la utilización de la superficie de la intercapa como sitio de absorción.

El análisis de las descomposiciones matemáticas del pico de reflexión $d(001)$ en las muestras orientadas Na-M y Na-M550C con humedad relativa de 0,47, con y sin iprodion, no permite analizar la inserción del mismo debido a un efecto de apantallamiento que origina la presencia de agua. Sin embargo, los análisis de este mismo pico de reflexión, en las muestras Na-M y Na-M550C semiorientadas secas sin y con iprodion (Fig. 4 y 8), y la coincidencia del corrimiento del mismo ($3,5\text{ \AA}$) con el valor del ancho de la molécula de iprodion permiten inferir la inserción del fungicida en la intercapa. La ruptura de las laminas de la muestra Na-M300s no permite el análisis de este sitio superficial de adsorción por DRX.

En particular, en el rango de concentración inicial del iprodion entre 0,40 y 0,51 mM (no mostrado en la Fig. 7) se observó una importante disminución de la adsorción, cuya concreta interpretación necesita la realización de otros trabajos ya en curso. La hipótesis planteada para interpretar esta disminución de la adsorción es la oclusión del fungicida entre los agregados generados por la coagulación de las láminas de montmorillonita, la cual ocurre debido a que la concentración del adsorbato es 20 veces mayor que la capacidad de intercambio catiónico de la muestra (Yariv *et al.*, 1989; Lombardi *et al.*, 2003).

El cambio de los valores de la superficie de la montmorillonita con los tratamientos empleados (térmico y mecánico) y, particularmente, el aumento de la microporosidad (Tabla 1) en la muestra Na-M300s señala a estos últimos sitios de adsorción como los responsables de su gran adsorción, coincidiendo con lo encontrado por Bojemueller *et al.* (2001) para muestras tratadas térmicamente y su iteración con el herbicida metolaclor.

Para definir el estado iónico o de carga superficial del fungicida adsorbido en las mismas condiciones de trabajo son necesarios nuevos estudios (ya en curso) debido a la no detección del grupo NHR_3^+ (bandas de absorción IR a

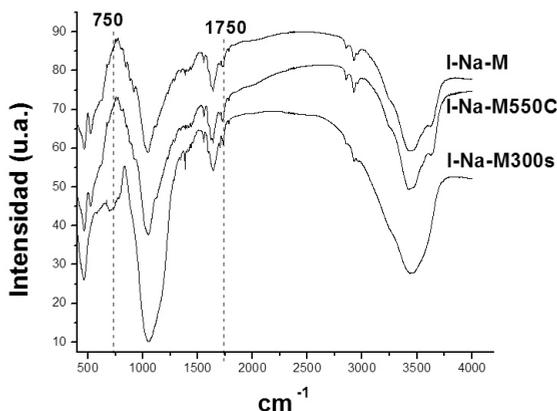


Figura 9. Espectros de IR de montmorillonitas con iprodion adsorbido.

1624 cm^{-1}), lo cual involucraría una adsorción del tipo catiónica en la intercapa de las muestras y el aumento de la concentración de iprodion con la disminución de la cantidad de montmorillonita, que sugieren adsorciones de tipo aniónicas (Damonte *et al.*, 2007).

CONCLUSIONES

El análisis del pico de reflexión d(001) por DRX de las muestras Na-M y Na-M550C permitió identificar a la superficie de la intercapa como uno de los sitios superficiales de adsorción del iprodion (para estas dos muestras). Asimismo, el aumento de adsorción en la muestra tratada mecánicamente, con destrucción de esta superficie de intercapa, señala a los sitios originados por microporosidad como los sitios responsables de la adsorción.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barreto D.E. y M.A. Carmona. 1993. Microflora of barley seed and malt in Argentina. *Proc. 1 Internat. Seed Testing Assoc. Symp. Seed Health Testing*, Ottawa, Canadá. 70 pp.
- Barreto D.E. y M.A. Carmona. 1994 a. Eficiencia in vitro de fungicidas en tratamiento de semillas para el control de *Drechslera teres*. *Acta 3 Cong. Nac. de Trigo*, Bahía Blanca, Argentina. 289 pp.
- Barreto D.E. y Carmona M.A. 1994 b. Panorama sanitario de la cebada cervecera Argentina. Estado actual de las investigaciones 1990-1993. *Actas 1ras. Jor. actualización técnica-económica cultivo de cebada cervecera*. Buenos Aires. 100 pp.

- Barreto D.E. y Carmona M.A. 1996. Field incidence of *Pyrenophora teres* and infection on barley seed. *Revista Invest. Agrop.*, 26: 61-66.
- Bojemueller E., Nennemann A. y Lagaly G. 2001. Enhanced pesticide adsorption by thermally modified bentonites. *Appl. Clay Sci.*, 18: 277-84.
- Cabras P., Diana P., Meloni M. y Pirisi F.M. 1982. Residue determination of some insecticides and fungicides on grapes by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, 30: 569-572.
- Cabras P., Angioni A., Garau V.L., Pirisi F.M., Farris G.A., Madau G. y Emonti G. 1999. Pesticides in fermentative processes of wine. *J. Agric. Food Chem.* 47: 3854- 3857
- Cabras P. y Angioni A. 2000. Pesticide residues in grapes, wine, and their processing products. *J. Agric. Food Chem.*, 48: 967-973.
- Carmona M.A., Barreto D.E. y Wright E.R. 1992. Relevamiento de enfermedades fúngicas de la cebada cervecera en Bs. Aires en 1990. *Rev. Fac. Agron.*, 13: 187-195.
- Carmon M.A. 1994. Distribución, incidencia y severidad de las enfermedades foliares de la cebada cervecera en Bs. Aires en 1992. *Fitopat.*, 29: 214-219.
- Damonte M., Torres Sánchez R.M. y dos Santos Afonso M. 2007. Some aspects of the glyphosate adsorption on montmorillonite and its calcined form. *Appl. Clay Sci.*, 36: 86-94.
- Dellissanti F. y Valdre G. 2005. Study of structural properties of ion treated and mechanically deformed commercial bentonite. *Appl. Clay Sci.*, 28: 233-244.
- Emmerich K., Madsen F. y Kahr G. 1999. Dehydroxylation behaviour of heat treated and steam treated homoionic cis-vacant montmorillonites. *Clay and Clay Min.*, 47: 591-604.
- Ewel J., Berish C. Brown B. Price N. y Raich J. 1981. Slash and burn impacts on a Costa Rican wet forest site. *Ecology*, 62: 816-829.
- Flori P., Stanzani R., Musaci P. y Zironi R. 1982a. *Residui di Vinclozolin, Iprodione, Pocinidone e Serinal summa, mosto e vino. Atti. Giorn. Fitopatol.*, 2: 13-22.
- Flori P., Zironi R. Brandolini V. y Musacci P. 1982b. En: F. Clementi (edt.). *Tai. Convegno Fitofarmaci e Ambiente Cagliari*. Parretti, Florencia. Pp.: 89-98.
- Forcelini C.A. 1992. Incidência, transmissão e controle de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de trigo. (Tese de Mestrado). Univ. São Paulo, São Paulo.
- Garbin J.R., Milori D.M., Simões M.L., da Silva W.T. y Neto L.M. 2007. Influence of humic substances on the photolysis of aqueous pesticide residues. *Chemosphere*, 66: 1692-1698.
- Lide D.R. 1994. *Handbook of Chem. and Phys.* 75th ed. CRC Press, Boca Raton.
- Lombardi B., Baschini M. y Torres Sánchez R.M. 2003. Optimization of parameters and adsorption mechanism of thiabendazole fungicide by a montmorillonite of North Patagonia, Argentina. *Appl. Clay Sci.*, 24: 43-50.
- Martínez A. y Torres Sánchez R.M. 2005. Adsorción de Pb en complejos de ácido húmico montmorillonita y sus productos de tratamientos térmico y mecánico. *Jor. SAM/CONAMET*. Mar del Plata, 4.
- Meister R.T., Sine C. y Sharp D.T. (ed.). 2004. *Crop Protection Handbook*. Meister Media Worldwide: Willoughby, Ohio. 40: 283.

- Molinari G.P. Stringari G. y Flori P. 1980. Prove comparative di determinazione dei residui di antibiottrici in uve *Atti. Giorn. Fitopatol.* (Suppl. 1), 97-100.
- Mooney R.W., Keenan A.G. y Wood L.A. 1952. Adsorption of water vapor by montmorillonite: I heat of desorption and application of BET theory. *J. Amer. Chem. Soc.* 74: 1367-1371.
- Naono H. y Hakuman M. 1993. Analysis of Porous Texture by Means of Water Vapor Adsorption Isotherm with Particular Attention to Lower Limit of Hysteresis Loop. *J. Colloid Interface Sci.*, 158: 19-26.
- Newsome W.H. y Collins P. 1990. Determination of Iprodione, Vinclozolin and Procymidone as the heptafluorobutyramides of 3, 5-dichloronaline. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 38: 489-494.
- Pantanetti M., dos Santos Afonso M. y Torres Sánchez R.M. 2008. Cambios en la adsorción del fungicida iprodion en montmorillonita por tratamiento térmico y mecánico. En: M. Blesa, M. dos Santos Afonso y R.M. Torres Sánchez (edt.). *Las fronteras de la física y la química ambiental en Iberoamérica*. Editorial Univ. San Martín, Buenos Aires. Pp.: 469-474.
- Reis E.M. y Forcelini C.A. 1993. Transmissão de Bipolaris sorokiniana de sementes para órgãos radiculares e aéreos do trigo. *Fitopat. Bras.*, 18: 76-85.
- Reis E.M., Casa Trezzi R. y Silva M.S. 1995. Efeito do tratamento de sementes de cevada no controle e no desenvolvimento da mancha em rede, causada por Drechslera teres. *Fitopat. Bras.*, 20: 561-567.
- Reis E.M., Casa M., Casa Trezzi R., Carmona M.A. y Barreto D.E. 1997. Sensibilidade de Drechslera teres ao fungicida triadimenol usado em tratamento de sementes de cevada. *Fitopat. Bras.*, 22: 539-542.
- Ripley B.D., Lissemore L.I., Leishman P.D., Denomme M.A. y Ritter L. 2000. Pesticide Residues on Fruits and Vegetables from Ontario, Canada, 1991-1995. *J. AOAC Int.*, 83: 196-204.
- Sandra P., Tienpont B., Vercammen J., Tredoux A., Sandra T. y David F. 2001. Stir bar sorptive extraction applied to the determination of dicarboximide fungicides in wine. *J. Chromatography, A* 928, 1, 31: 117-126.
- Strömqvist J. y Jarvis N. 2005. Sorption, degradation and leaching of the fungicide iprodione in a golf green under Scandinavian conditions: measurements, modelling and risk assessment. *Pest Manag. Sci.*, 61, 12: 1168- 1178.
- Suzuki S. 2000. Leaching of several pesticides in andosol upland field under natural rain conditions. *J. Pesticide Sci.*, 25: 1-9.
- Torres Sánchez R.M. y Falasca S. 1997. Specific surface and surface charges of some Argentinean soils. *Z. Pflanz. Boden.*, 160: 223-226.
- Vanni A., Gamberini R., Calabria A. y Nappi P. 2000. Determination and identification of metabolites of the fungicides Iprodione and Procymidone in compost. *Chemosphere*, 41: 1431-1439.
- Volzone C., Aglietti E., Scian A. y Porto López J.M. 1987. Effect of induced structural modifications on the phys chem. behavior of bentonite. *Appl. Clay Sci.*, 2: 97-104.
- Yariv S., Muller-Vonmoos M., Kah G. y Rub A. 1989. Thermal analytical study of the adsorption of crystal violet by laponite. *J. Therm. Anal.*, 35: 1941-1952.

EFFECTO DEL CATION DE INTERCAMBIO EN LA RETENCION DE TETRACICLINA SOBRE MONTMORILLONITA

M.E. Parolo¹, M.J. Avena², G.R. Pettinari³, J.M. Vallés³ y M.T. Baschini⁴

¹ Departamento de Química, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Comahue, Buenos Aires 1400, Neuquén 8300 (Argentina). <meparolo@uncoma.edu.ar>

² Departamento de Química, Universidad Nacional del Sur, Avda. Alemania 1253, Bahía Blanca 8000 (Argentina). ³ CIMAR, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Comahue y CONICET, Neuquén 8300 (Argentina).

Resumen: El objetivo del presente estudio fue evaluar la interacción entre el antibiótico tetraciclina (TC) y la montmorillonita. El uso de antibióticos en medicina humana y veterinaria se encuentra ampliamente extendido en el mundo. Frecuentemente son incorporados a los alimentos balanceados a fin de mejorar las condiciones de crecimiento de algunas especies animales. A través de las vías de excrección los antibióticos se expanden en el ambiente en forma directa o mediante la utilización de abonos, quedando retenidos en sus componentes superficiales activos, tales como los minerales arcillosos. La adsorción de tetraciclina sobre montmorillonita fue estudiada en función del pH del medio y del catión de intercambio del mineral usando espectroscopía UV-Visible, IR, Difracción de Rayos X (DRX) y experiencias en "batch". Las modificaciones espectrales (UV-Visible e IR) observadas para TC en presencia de montmorillonita sugieren importantes interacciones del antibiótico con el mineral. Mediante el análisis de DRX se observó un incremento en el espaciado basal del mineral arcilloso, lo cual es indicativo de la intercalación de TC en el espacio interlamilar del adsorbente. La adsorción y desorción de TC sobre montmorillonita dependen del pH y del catión de intercambio. La máxima retención de TC sobre los minerales sódico y cálcico se encuentra a bajos valores de pH (pH < 4,0), con una tendencia general de disminución a medida que el pH se incrementa. En condiciones de bajos valores de pH se alcanzan niveles de TC adsorbidos cercanos a los de la capacidad de intercambio catiónico (CIC) del mineral. En el rango de pH de 6,0 a 8,5 la afinidad de TC por la montmorillonita cálcica es mayor que para la sódica. El catión calcio, a través de la formación de complejos con TC, tiene una participación activa en el proceso de adsorción sobre la superficie del mineral. La interacción de TC con minerales arcillosos puede determinar la reactividad y distribución del antibiótico en el ambiente.

Palabras clave: Montmorillonita, antibióticos, adsorción, desorción.

Effect of Exchange Cation in Retention of Tetracycline on Montmorillonite

Abstract: The aim of this work was to evaluate the interaction between the antibiotic tetracycline (TC) and montmorillonite. The use of antibiotics in human and veterinary medicine is worldwide extended. They are frequently incorporated into balanced food in order to improve the growing conditions of some animal species. Antibiotics can be introduced into the environment by direct excretion routes or by using manure as fertilizer, and they can be retained in soils by surface active components such as clay minerals. Tetracycline adsorption on montmorillonite was studied as a function of pH and type of exchangeable cation by using UV-Visible spectroscopy, IR spectroscopy, X-Ray Diffraction (XRD), and batch experiments. The spectral modifications (UV-Visible and IR) observed for TC in the presence of montmorillonite suggest important interactions of the antibiotic with the mineral. An increase in the basal spacing of the clay mineral was observed by XRD, which is indicative of TC intercalation into the interlaminal space of the adsorbent. The adsorption and desorption of TC on montmorillonite depend on the pH and the exchangeable cation of the mineral. Experiments with sodium and calcium-exchanged montmorillonite show that the maximum retention occurs at low pH values ($\text{pH} < 4.0$), with a general tendency to decrease as the pH increases. At low pH values the adsorbed TC levels are close to the cation exchange capacity (CEC) of the mineral. In the pH range from 6.0 to 8.5 the affinity of TC by Ca-montmorillonite is higher than that of Na-montmorillonite. Calcium ion, through the formation of complexes with TC, has an active participation in the adsorption process at the mineral surface. The interaction of TC with clay minerals can determine the reactivity and distribution of the antibiotic in the environment.

Key words: Montmorillonite, antibiotics, adsorption, desorption.

INTRODUCCIÓN

El uso de antibióticos en medicina humana y veterinaria ha incrementado de manera vertiginosa desde su descubrimiento hasta la actualidad. Su amplio uso, como preventivo y en el tratamiento de diversas infecciones, ha logrado que estos compuestos sean unos de los más ampliamente difundidos para el cuidado de la salud humana y animal (Chambers, 2001). Las tetraciclinas constituyen un grupo de agentes antibacterianos de amplio espectro, muy utilizados contra microorganismos gram-positivo y gram-negativo. Además, estos antibióticos han sido incorporados en alimentos para animales a fin de favorecer un crecimiento más saludable de los mismos (Sarmah *et al.*, 2006).

Debido a la alta solubilidad en agua que suelen presentar estos compuestos químicos, se excretan en elevadas proporciones por los organismos con la

orina y heces, estas últimas utilizadas en ocasiones como abonos de suelos. Los residuos procedentes de las industrias farmacéuticas, así como los hospitalarios, constituyen otras vías de acceso de los antibióticos al ambiente, generando un ciclo que les permite llegar con cierta facilidad a las aguas superficiales, suelos e incluso aguas subterráneas, donde se encuentran en concentraciones del orden de unos pocos nanogramos a microgramos por litro o kilogramo (Grung *et al.*, 2007).

La continua exposición de microorganismos a residuos de antibióticos incorporados al ambiente contribuye a generar resistencia en las poblaciones microbianas y, en algunos casos, pueden actuar como sustancias tóxicas para diferentes organismos acuáticos, llegando a producir efectos adversos en edades tempranas de su desarrollo (Wolleberg *et al.*, 2000; Kümpel *et al.*, 2001; Aksu y TunV, 2004). Las condiciones que afectan la degradación de antibióticos de la familia de las tetraciclinas son la fotólisis, temperatura ambiental y características de la matriz en la cual se encuentran, siendo de baja importancia la proporción de oxígeno presente. Bajos valores de pH confieren mayor estabilidad a estos compuestos (Søeborg *et al.*, 2004).

Los procesos de adsorción, desorción y degradación en suelos son afectados por las propiedades fisicoquímicas del antibiótico, tales como sus constantes de acidez y solubilidad en agua. Cuando estos compuestos químicos entran en contacto con los suelos son capaces de reaccionar y formar complejos con los minerales arcillosos que los componen (montmorillonitas, vermiculitas, illitas y caolinitas).

Las montmorillonitas son filosilicatos de capas expansivas, con carga superficial negativa permanente balanceada por cationes inorgánicos. En el caso de las muestras procedentes de la Patagonia Argentina estos cationes son mayoritariamente sódicos, con muy bajas proporciones de Ca^{2+} , Mg^{2+} y K^+ , siendo posible designarlas como sódicas naturales (Vallés e Impicini, 1999; Viseras *et al.*, 2006). La presencia del catión de intercambio resulta fundamental en los procesos de adsorción de diversos compuestos químicos, ya que representan sitios superficiales activos con capacidad para retener diversas sustancias. Cationes divalentes como Ca^{2+} y el Mg^{2+} contribuyen a formar complejos con sustancias orgánicas como las tetraciclinas, facilitando la retención de estos antibióticos sobre los argilominerales y determinando el transporte y distribución de los contaminantes en los suelos.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar la adsorción de un compuesto orgánico como la tetraciclina sobre montmorillonita, evaluando los efectos de diferentes cationes de intercambio y el pH por medio de técnicas directas de adsorción y espectroscopía.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

El adsorbente utilizado fue montmorillonita obtenida de depósitos ubicados en el margen del Río Colorado, provincia de La Pampa (Norpatagonia Argentina). Este mineral arcilloso fue previamente caracterizado por Lombardi *et al.* (2003) y Viseras *et al.* (2006). Contiene 98 % de montmorillonita y 2 % de cuarzo, determinado por Difracción de Rayos X (DRX). La muestra natural presenta una capacidad de intercambio catiónico (CIC) de $104 \text{ cmol}_{(+)} \text{ kg}^{-1}$, siendo el Na^+ el catión predominante. A fin de obtener la variedad cálcica, 2 g de montmorillonita se dejaron en contacto con 50 mL de solución de CaCl_2 1N durante 24 h. Después de centrifugar a 8000 rpm durante 30 min, el residuo fue lavado a fin de eliminar el exceso de iones en el sobrenadante. Posteriormente las muestras fueron secadas a 40°C , molidas y almacenadas.

La tetraciclina (TC) utilizada fue suministrada por *PARAFARM*, con un grado de pureza superior al 99 %. La TC es una sustancia cristalina que, en solución acuosa, presenta reacciones de protonación-deprotonación según el pH del medio (Qiang y Adams, 2004); los valores de pKa correspondientes son 3,3, 7,7 y 9,5. La TC presenta carga neta positiva (TCH_3^+) a bajos valores de pH y a medida que el pH del medio aumenta prevalecen otras especies de carga neta cero (TCH_2) y cargas negativas TCH^- y TC^{2-} . La fórmula estructural de las especies de TC correspondientes a pH 7,0 (TCH_2 y TCH^-) se presentan en la Fig. 1. Los grupos dadores de electrones de la estructura de TC (N4-OH12a y O10-O12) permiten la formación de fuertes complejos con iones como Ca^{2+} y Mg^{2+} (Wessels *et al.*; 1998; Mackay y Canterbury, 2005; Gu *et al.*, 2007).

Se utilizaron NaOH y HCl para ajustar el pH de las soluciones de TC y NaCl 0,01 M como electrolito. El pH de las suspensiones fue medido en un pHmetro *Altronix*, modelo TPX-II, con un electrodo de vidrio *Altronix SilverCap*.

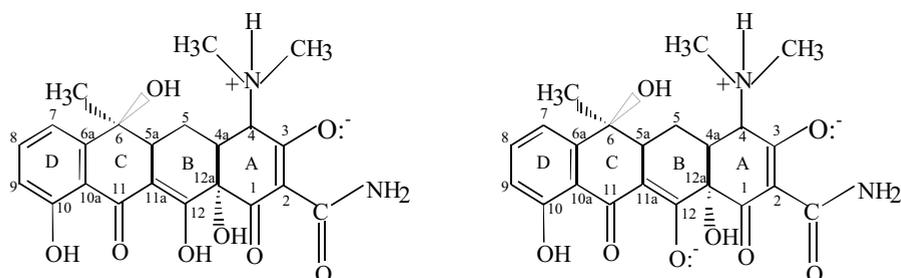


Figura 1. Estructura molecular de Tetraciclina; se presentan las especies TCH_2 y TCH^- existentes a pH7,0.

Espectroscopía UV-Visible

Se registraron los espectros UV-Visible de una solución de TC ($3,47 \cdot 10^{-4}$ M) y de dispersiones acuosas del complejo de adsorción de TC sobre montmorillonita sódica y cálcica ($7,7 \text{ mmol } 100 \text{ g}^{-1}$) a pH 7,0. Los espectros fueron obtenidos utilizando un espectrofotómetro “Shimadzu” 240. Se utilizó una dispersión del mineral a pH 7,0 para corregir la interferencia debida a la dispersión de la luz por las partículas de arcilla.

Espectroscopía IR

Los espectros IR fueron registrados utilizando un Espectrofotómetro *Back 500* (detector *DLATGS*) en la región $600\text{-}4000 \text{ cm}^{-1}$. Se prepararon pastillas sobre soporte de KBr para la TC, el mineral natural, el mineral homioionizado con iones Ca^{2+} y los complejos de adsorción de TC con cada mineral (relación inicial $170 \text{ mmol } 100 \text{ g}^{-1}$), así como una mezcla de sólidos TC-montmorillonita con la misma relación adsorbato-adsorbente que el complejo de adsorción.

Difracción de Rayos X

Los diagramas de DRX fueron obtenidos usando un difractómetro *Rigaku DII Max Geigerflex* con tubo de $\text{CuK}\alpha$, a 40 kV y 20 mA. Los registros se realizaron entre 2° y 40° (2θ), con una velocidad de 2° min^{-1} . Se prepararon dispersiones de la montmorillonita natural y cálcica (15 mg mL^{-1}) en agua destilada y también en solución de NaCl 0,01M; además de complejos de adsorción TC-montmorillonita en presencia del electrolito y para distintas cantidades de TC adsorbida. Para la montmorillonita natural sódica se prepararon los sistemas a pH 7,0: $6,88 \text{ mmol } 100 \text{ g}^{-1}$; $28,97 \text{ mmol } 100 \text{ g}^{-1}$ y $36,60 \text{ mmol } 100 \text{ g}^{-1}$ y para montmorillonita cálcica los sistemas fueron: $7,78 \text{ mmol } 100 \text{ g}^{-1}$; $29,74 \text{ mmol } 100 \text{ g}^{-1}$ y $61,94 \text{ mmol } 100 \text{ g}^{-1}$. Las dispersiones fueron colocadas sobre placas de vidrio y secadas bajo condiciones de humedad constante (36 %), lográndose así un preparado orientado según (00l).

Estudios de adsorción:

Se llevaron a cabo dos tipos de estudios de adsorción: isothermas de adsorción de TC a pH 7,0 y medidas de adsorción a distintos valores de pH para una relación inicial TC-montmorillonita ($169 \text{ mmol TC } 100 \text{ g}^{-1}$) superior a la CIC del mineral, utilizando el adsorbente natural y homioionizado con calcio.

Para las isothermas de adsorción se prepararon una serie de tubos donde se colocaron distintos volúmenes de solución stock de TC a pH 7,0, en NaCl 0,01 M y 4 mL de dispersión de montmorillonita en las mismas condiciones de pH y fuerza iónica. Las relaciones TC/montmorillonita iniciales variaron entre $15,4 \text{ mmol } 100 \text{ g}^{-1}$ y $231 \text{ mmol } 100 \text{ g}^{-1}$. Cuando fue necesario

se ajustaron los valores de pH en los sistemas de adsorción. Los tubos se mantuvieron en agitación y oscuridad durante 24 h y después las dispersiones fueron centrifugadas a 8000 rpm durante 30 min. En estudios previos se comprobó que un periodo de 24 h es un tiempo suficiente para alcanzar el equilibrio. El sobrenadante fue separado y analizado por espectroscopia UV-Visible a 357 nm. La cantidad de TC adsorbida se calculó por diferencia entre la concentración de TC inicial y la concentración de TC remanente en el sobrenadante. Un procedimiento similar se siguió en el análisis del efecto del pH en la adsorción de TC sobre montmorillonita natural y cálcica, donde los valores de pH variaron entre 2,0 y 11,0. Los estudios de adsorción se llevaron a cabo a 20 °C y por duplicado.

Estudios de desorción:

Los estudios de desorción se realizaron preparando 160 mL de suspensiones conteniendo 36 mg de montmorillonita y TC a una concentración de 0,38 mmol L⁻¹. A estas suspensiones iniciales se les ajustó el pH a 3,0 ó 7,0. Después de 24 h de agitación se centrifugaron a 8000 rpm durante 30 m y se eliminó el sobrenadante, reponiéndose el mismo volumen con NaCl 0,01 M con el objeto de inducir la desorción. Se mantuvieron los sistemas con agitación constante y en oscuridad. A distintos intervalos de tiempo se tomaron 5 mL de dispersión, centrifugando a 8000 rpm durante 30 minutos, analizando los sobrenadantes por espectroscopia UV-Visible para determinar la cantidad de TC desorbida. Los resultados son expresados como % desorción.

Las experiencias de desorción se llevaron a cabo por duplicado y para las muestras correspondientes a montmorillonita sódica y cálcica.

RESULTADOS

En la Fig. 2 se muestran los espectros UV-Visible correspondientes a la solución de TC a pH 7,0 y la dispersión de los sistemas TC–montmorillonita sódica y TC–montmorillonita cálcica. En el espectro correspondiente a la solución de TC se observa una banda a 275 nm que corresponde al sistema tricarbonílico del anillo A, mientras que la de 357 nm es la que se atribuye al sistema de anillos BCD (Mitscher, 1978). Para las dispersiones del complejo TC-montmorillonita más del 80 % de TC agregado al sistema se encuentra adsorbida al mineral y, por tanto, el espectro obtenido corresponde principalmente a la TC adsorbida. La banda a 275 nm no sufre desplazamiento respecto de la solución, mientras que en la de 357 nm se observan desplazamientos batocrómicos de 5 nm y 13 nm para la TC adsorbida en montmorillonita sódica y montmorillonita cálcica respectivamente.

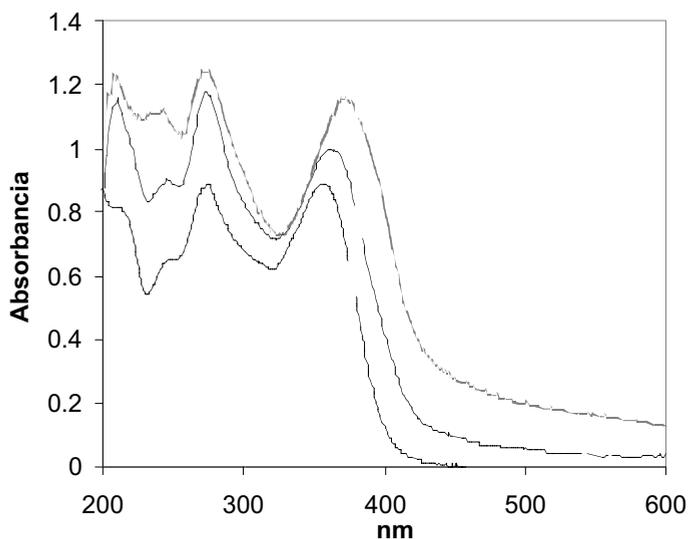


Figura 2. Espectros UV-Visible a pH 7,0 de; (a) solución acuosa de tetraciclina; (b) tetraciclina adsorbida a montmorillonita sódica; y (c) tetraciclina adsorbida a montmorillonita cálcica.

Los espectros IR correspondientes a la montmorillonita cálcica, a una mezcla física de sólidos TC–montmorillonita cálcica y a un complejo de adsorción TC–montmorillonita cálcica se muestran en la Fig. 3. El espectro de la montmorillonita cálcica es característico de este mineral y similar al de la sódica natural, siendo las principales bandas: 3639 cm^{-1} atribuible a la vibración del grupo -OH estructural, 3434 cm^{-1} vibración de tensión del -OH del agua, 1634 cm^{-1} deformación del -OH del agua y 1062 cm^{-1} estiramiento Si-O (Madejová y Komadel, 2001).

El espectro de la mezcla de sólidos TC–montmorillonita cálcica muestra las mismas bandas descritas previamente para el mineral, así como las atribuibles a TC pura (Caminati *et al.*, 2002): 2760 cm^{-1} y 2670 cm^{-1} correspondientes al grupo -NHR_3^+ , 1598 cm^{-1} al grupo carbonilo del anillo A, 1524 cm^{-1} para amida II y 1466 cm^{-1} para deformación -CH_2 . Esta invariabilidad en la posición de las bandas respecto de los sólidos puros es lo que cabe observar, ya que en esta mezcla de sólidos la interacción entre TC y montmorillonita es despreciable.

En el complejo de adsorción se observan todas las señales de la montmorillonita, mientras que algunas bandas de TC (tales como las correspondientes a los enlaces NHR_3^+ y al grupo carbonilo) no son observables. Las bandas atribuibles a amida II (1524 cm^{-1}) y -CH_2 (1466 cm^{-1}) no sufren modificaciones respecto del espectro obtenido para TC. Resultados similares se encontraron para los sistemas de adsorción TC-montmorillonita sódica (datos no presentados).

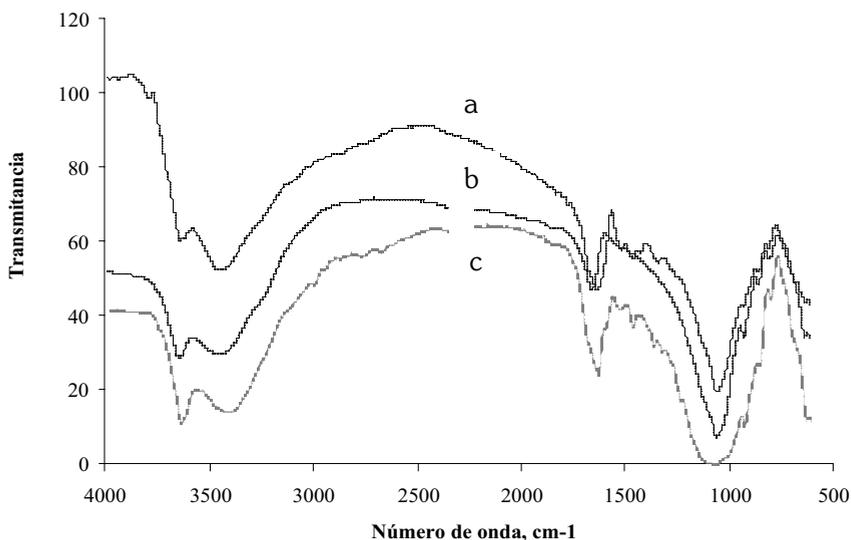


Figura 3. Espectros IR de: (a) complejo de adsorción TC-montmorillonita cálcica; (b) montmorillonita cálcica; y (c) mezcla física de sólidos TC-montmorillonita cálcica.

En la Fig. 4a se observan los diagramas de DRX de dispersiones en agua correspondientes a montmorillonita natural sódica con valores $d(001)$ 12,66 Å, $d(002)$ 6,25 Å y $d(004)$ 3,13 Å y a montmorillonita cálcica con valores $d(001)$ 15,44 Å, $d(002)$ 5,07 Å y $d(004)$ 3,05 Å. En las Fig. 4b y 4c se muestran los diagramas de DRX correspondientes a dispersiones en solución de NaCl a pH 7,0 de montmorillonita natural y cálcica y los correspondientes complejos de adsorción que forman con TC (36,6 mmoles TC 100 g⁻¹ para montmorillonita sódica y 61,94 mmoles TC 100 g⁻¹ para montmorillonita cálcica).

El diagrama del complejo TC-montmorillonita natural sódica (36,60 mmol TC 100 g⁻¹) presenta un desdoblamiento de la reflexión basal $d(001)$ que corresponde a $d = 21,98$ Å y $d = 12,45$ Å (Fig. 4b), observándose un comportamiento similar para el complejo TC-montmorillonita cálcica $d = 21,74$ Å y $d = 12,10$ Å (Fig. 4c).

La Fig. 5 muestra el efecto del pH en la adsorción de TC sobre montmorillonita sódica y cálcica en un rango de pH entre 2,0 y 11,5. Entre valores de pH 2,0 y 5,0 no se observan diferencias en la cantidad de TC adsorbida sobre ambos minerales, siendo elevada la adsorción a pH 2,0 y disminuyendo a medida que el pH se incrementa. Entre los valores de pH 6,0 a 8,5 se encuentran las mayores diferencias en el comportamiento de adsorción, siendo en el caso de la montmorillonita cálcica

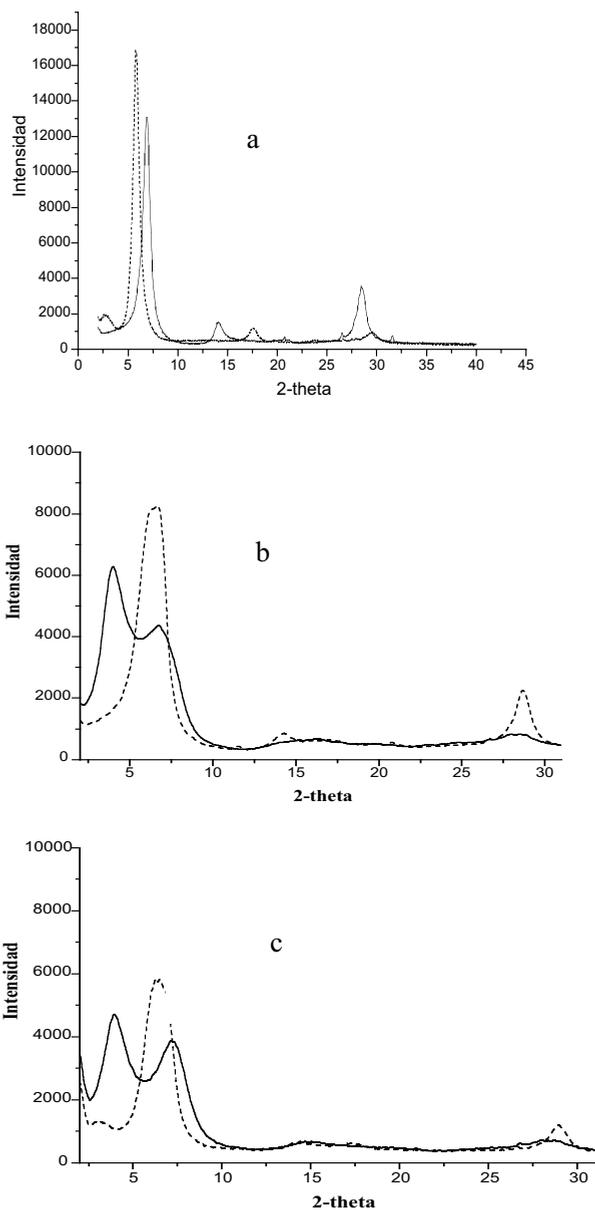


Figura 4. a.- Diagrama DRX de montmorillonita sódica natural (línea punteada) y montmorillonita cálcica (línea sólida) en agua. b.- Diagrama DRX de montmorillonita sódica natural (línea punteada) y montmorillonita con TC adsorbida a pH 7,0 a una relación de 36,60 mmol 100 g⁻¹ (línea sólida). c.- DRX de montmorillonita cálcica (línea punteada) y montmorillonita con TC adsorbida a pH 7,0, a una relación de 61,94 mmol 100 g⁻¹ (línea sólida).

marcadamente superior y aproximadamente constante (45 mmol 100 g⁻¹) respecto de la montmorillonita sódica y partir de pH 9,0 ambas curvas vuelven a superponerse. El máximo valor de TC retenido se logra bajo condiciones de pH 2,0 correspondiendo a 70 mmol 100 g⁻¹ de mineral. Un efecto similar del pH en la adsorción de TC sobre varios minerales arcillosos ha sido descrito por otros autores (Browne *et al.*; 1980).

En la Fig. 6 se comparan las isotermas de adsorción a pH 7,0 de TC sobre las variedades sódica y cálcica de montmorillonita. Tal como se encontró al analizar el efecto del pH en la adsorción la retención sobre el mineral sódico es considerablemente menor que la que se produce cuando el catión de intercambio es Ca²⁺; en este último caso se logran cantidades de TC retenidas del orden de los 60 mmol 100 g⁻¹, mientras que en el material sódico se alcanzan valores del orden de los 40 mmol 100 g⁻¹.

La Fig. 7 presenta los datos de desorción en función del tiempo a pH 7,0. Para ambos minerales la desorción es rápida y el porcentaje desorbido se mantiene constante a partir de los 30 min de desorción. En el caso de la muestra sódica la desorción resulta completa, mientras que en la montmorillonita cálcica la desorción no supera el 60 %.

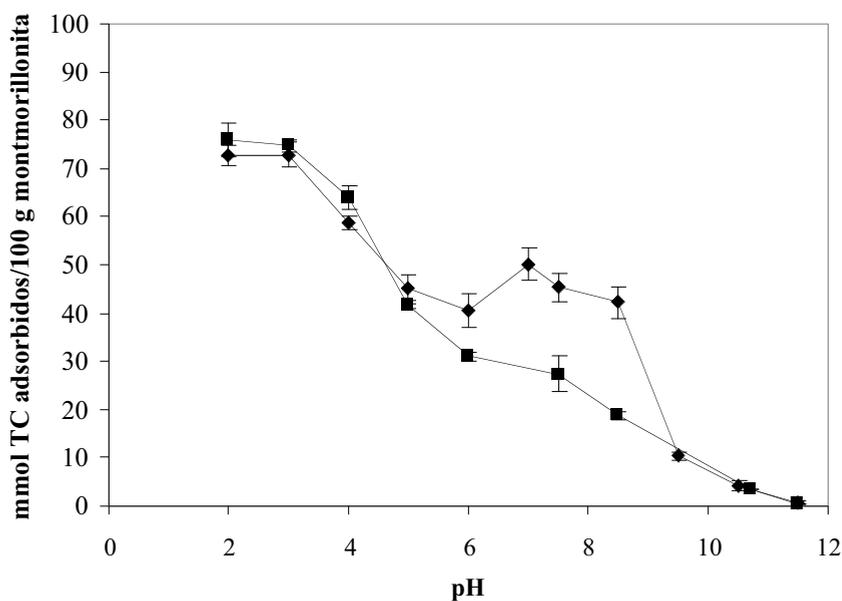


Figura 5. Efecto del pH en la adsorción de tetraciclina sobre montmorillonita sódica (■) y sobre montmorillonita cálcica (◆).

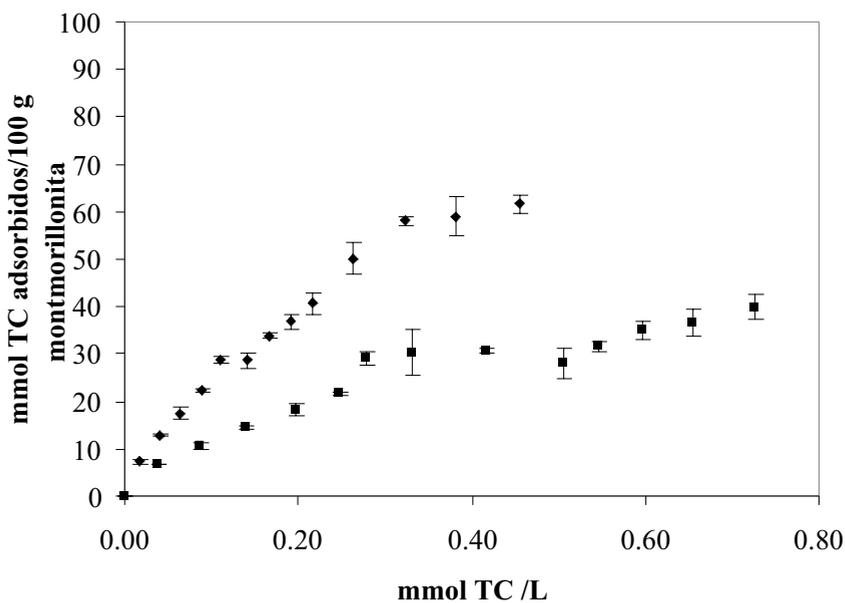


Figura 6. Isothermas de adsorción de tetraciclina sobre montmorillonita sódica (■) y montmorillonita cálcica (◆) a pH 7,0.

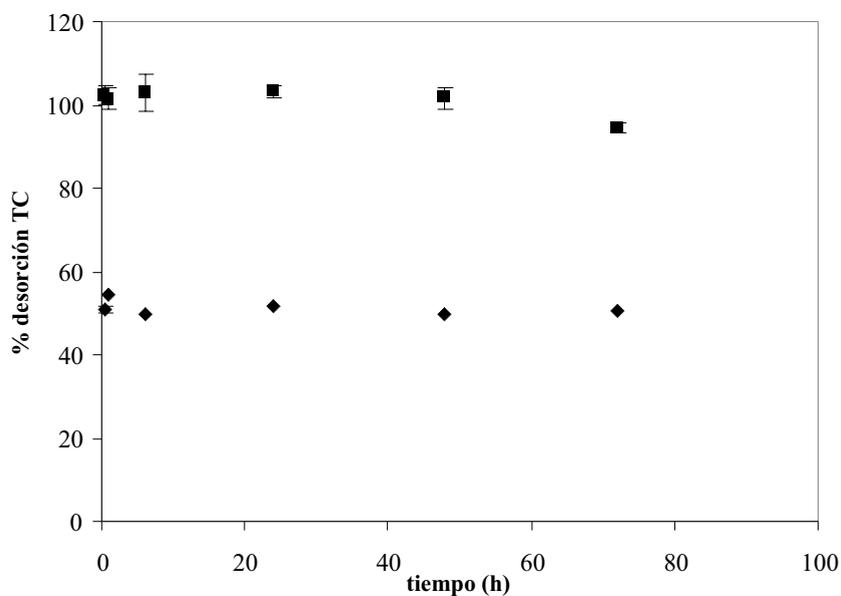


Figura 7. Desorción de TC a pH 7 para montmorillonita sódica (■) y cálcica (◆).

DISCUSIÓN

Los cambios en los espectros UV-Visible observados para las dispersiones TC-montmorillonita a pH 7,0 son una buena evidencia de la interacción de TC con la superficie del mineral, siendo los grupos funcionales de los anillos BCD de la molécula los que se encuentran principalmente involucrados en el desplazamiento batocrómico.

La adsorción de TC sobre el mineral puede inducir cambios conformacionales en la molécula que se traducen en diferencias espectrales (Wessels *et al.*, 1998; Parolo *et al.*, 2008). Resultados similares han sido publicados por otros autores al evaluar la interacción de TC con fosfolípidos (Caminati *et al.*; 2002).

Los resultados de adsorción indican que la molécula de TC aporta los grupos dadores de electrones del sistema BCD de la molécula para interactuar con los cationes Na^+ y Ca^+ de la montmorillonita. Esta donación de electrones es seguramente mayor en presencia de Ca^{2+} que en presencia de Na^+ , lo que explica el mayor desplazamiento batocrómico con montmorillonita cálcica que con montmorillonita sódica.

Los espectros IR indican que los grupos NHR_3^+ y carbonilo de TC están también involucrados en la interacción, ya que estos grupos presentan cambios espectrales cuando TC se encuentra adsorbida. La interacción del grupo NHR_3^+ puede ser fácilmente explicada si se supone la existencia de una atracción electrostática con las cargas estructurales negativas de la montmorillonita o a través de enlaces de puente de H con los grupos superficiales de la misma. El grupo carbonilo podría estar interactuando con los sitios activos del mineral, aunque no hay evidencia directa al respecto.

El espaciado basal de 12,6 Å observado en el difractograma (DRX) de la muestra natural dispersa en agua (Fig. 4a) es característico de una montmorillonita sódica con una monocapa de agua en la región interlamina. Asimismo, en la muestra homoionizada con Ca el espaciado basal de 15,44 Å caracteriza a una montmorillonita cálcica. En presencia de un electrolito (NaCl 0,01M) los espaciados basales de ambas se modifican, siendo el espaciado basal de 13,38 Å en la montmorillonita natural y 14,65 Å en la variedad cálcica.

El desdoblamiento y los espaciados basales del difractograma del complejo de adsorción TC-montmorillonita (Fig. 4b y 4c) sugieren que en el espacio interlamina se encontrarían cationes Na^+ hidratados y TC intercalada. Teniendo en cuenta las dimensiones moleculares de TC (longitud 12,9; altura 6,2; y ancho 7,5 Å), la reflexión $d = 21,98$ Å indica que la molécula se ubica en el espacio interlamina bajo la forma de monocapa. La permanencia de un espaciado característico de motmorillonita sódica (12,45 Å) sugiere que no toda la intercapa del mineral fue ocupada por TC.

Para el complejo de adsorción formado con la montmorillonita cálcica (Fig. 4c) el Na^+ utilizado como electrolito (NaOH) en concentraciones 100 veces superiores a la del catión de intercambio podría competir con parte del Ca^{2+} intercambiable, obteniéndose un espaciado característico de montmorillonita sódica (12,10 Å), además del pico correspondiente al mineral con TC en la región interlaminaar (21,74 Å).

Algunas evidencias experimentales de nuestro grupo de investigación (no presentadas en este trabajo) sobre determinación de Ca por absorción atómica en sistemas de adsorción TC/montmorillonita cálcica a distintos valores de pH indican que en el intervalo de pH de 6,0 a 8,5 disminuye la concentración de Ca en la solución, lo cual implicaría la formación de un complejo del tipo TC-Ca-montmorillonita.

A partir de los resultados de adsorción la alta afinidad de TC por la montmorillonita a bajos valores de pH puede atribuirse al intercambio iónico que se produce entre la especie protonada de TC y la superficie del mineral que presenta carga estructural negativa. A partir de pH 3,3 comienza el predominio de la forma zwitteriónica de TC, donde la carga negativa en la estructura contrarresta la tendencia al intercambio catiónico con el mineral. Este efecto es notable debido a la proximidad de los lugares de enlace catiónicos y aniónicos en la molécula orgánica. A medida que el pH se incrementa, la repulsión entre las especies TCH^- y TC^{2-} y la superficie del mineral explicaría la marcada disminución observada en la adsorción.

Sin embargo, cuando el Ca^{2+} es el catión de intercambio en el mineral y dentro del rango de pH de 6,0 a 8,5, se produce un incremento en la afinidad de TC por el adsorbente respecto del mineral sódico. En este rango de pH TC tiene carga neta negativa debido a la deprotonación de los grupos funcionales localizados en los anillos BCD, que actúan como grupos dadores de electrones en la interacción con el catión Ca^{2+} , logrando de esta manera valores de TC retenidos sobre el mineral que alcanzan el 60 % del valor de la CIC. Los resultados de desorción de TC obtenidos para montmorillonita cálcica como adsorbente constituyen otra evidencia de la elevada afinidad entre el compuesto orgánico y el mineral arcilloso.

CONCLUSIONES

La montmorillonita es uno de los componentes minerales con mayor reactividad superficial presentes en suelos. Su interacción con TC podría determinar la actividad, movilidad y, por tanto, el grado de biodisponibilidad del antibiótico en el medioambiente.

Los procesos de adsorción y desorción de TC sobre minerales arcillosos están condicionados fundamentalmente por el pH del medio y el tipo de catión de intercambio del mineral, encontrándose una activa participación del catión Ca^{2+} en el proceso de adsorción, debido presumiblemente a la

formación de complejos superficiales con TC. En valores de pH en torno a la neutralidad (pH = 7,0) la montmorillonita cálcica es un mejor adsorbente para TC que la montmorillonita sódica, pudiendo ser utilizada en la descontaminación de sistemas que presentan residuos del antibiótico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aksu Z. y Tunç O. 2004. Application of biosorption for penicillin G removal comparison with activated carbon. *Process Biochem.*, 40: 831-847.
- Browne J.E., Feldkamp J.R., White J.L. y Hem S.L. 1980. Characterization and adsorptive properties of pharmaceutical grade clays. *J. Pharm. Sci.*, 69: 816-823.
- Caminati G., C. Focardi G. Gabrielli F. Gambinossi B. Mecheri M. Nocentini y Puggelli M. 2002. Spectroscopic investigation of tetracycline interaction with phospholipid Langmuir-Blodgett films. *Materials Science and Engineering C*, 22: 301-305.
- Chambers H.F. 2001. Antimicrobial agents: protein synthesis, inhibitors and miscellaneous antibacterial agents. En: A.G. Gilman, T.W. Rall, A.S.Niels, P. Taylor (eds). *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 8th ed. McGraw Hill, New York. Pp. 1239-1271.
- Grung M., K. Torsten, S. Sakshaugb, S. Skurtveitb y K. V. Thomasa. 2007. Environmental assessment of Norwegian priority pharmaceuticals based on the EMEA guideline. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, doi:10.1016/j.ecoenv.2007.10.015.
- Gu C., K.G. Karthikeyan, S. Sibley y J.A. Pedersen. 2007. Complexation of the antibiotic tetracycline with humic acid. *Chemosphere*, 66: 1494-1501.
- Kümpel T., R. Alexy y K. Kümmerer. 2001. What do we know about antibiotics in the environment? En: K. Kümmerer (ed.). *Pharmaceuticals in the Environment: Sources, Fate, Effects and Risks*. Springer Verlag, Berlin.
- Lombardi B., M. Baschini y R.M. Torres Sánchez. 2003. Bentonite deposits of Northern Patagonia. *Appl. Clay Sci.*, 22: 309-312.
- Mackay A.A. y B. Canterbury. 2005. Oxytetracycline Sorption to Organic Matter by Metal-Bridging. *J. Environ. Qual.*, 34: 1964-1971.
- Madejová J., P. Komadel. 2001. Baseline studies of the Clay Minerals Society Source Clays: Infrared Methods. *Clays, Clay Min.*, 49: 410-432.
- Mitscher L.A. 1978. *The Chemistry of the Tetracycline Antibiotics*. Marcel Dekker, New York.
- Parolo M. E., M. C. Savini, J. M. Vallés, M. T. Baschini, M. J. Avena. 2008. Tetracycline adsorption on montmorillonite: pH and ionic strength effects. *Appl. Clay Sci.*, 40: 179-186.
- Qiang Z. y C. Adams. 2004. Potentiometric determination of acid dissociation constants (pKa) for human and veterinary antibiotics. *Water Res.*, 38: 2874-2890.
- Sarmah A. K., M. T. Meyer y A. B. Boxall. 2006. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (Vas) in the environment. *Chemosphere*, 65: 725-759.

- Søeborg T., Ingerslev F. y Halling-Sørensen B. 2004. Chemical stability of chlortetracycline and chlortetracycline degradation products and epimers in soil interstitial water. *Chemosphere*, 57: 1515–1524.
- Vallés J.M. y Impiccini A. 1999. Bentonitas de la Cuenca Neuquina, Río Negro, Neuquén y La Pampa y Depósitos de Bentonitas Terciarias de Zapala y Añelo, Neuquén. *Recursos Minerales de la República Argentina, Anales* 35, 1113-1125 y 1385-1390. Ed. E.O. Zappettini, Instituto de Geología y Recursos Minerales, SEGEMAR, Buenos Aires (Argentina).
- Viseras C., Cultrone G., Cerezo P., Aguzzi C., Baschini M.T., Vallés J. y López-Galindo A. 2006. Characterization of northern Patagonian bentonites for pharmaceutical uses. *Appl. Clay Sci.*, 31: 272-281.
- Wessels J.M., Ford W.E., Szymczak W. y Schneider S. 1998. The complexation of tetracycline and anhydrotetracycline with Mg^{2+} and Ca^{2+} : A Spectroscopic Study. *J. Phys. Chem.*, 102: 9323-9331.
- Wollenberger L., B. Halling-S/orensen y K. Kusk. 2000. Accute and chronic toxicity of veterinary antibiotics to *Daphnia magna* Straus. *Chemosphere*, 40: 723-730.

METALES PESADOS

Editores

M.^a ISABEL GONZÁLEZ y ALICIA F. DE IORIO

COPPER AND BUTYLTIN COMPOUNDS IN BAHÍA BLANCA ESTUARINE SEDIMENTS AND ITS RELATIONSHIP WITH ANTIFOULING PAINTS, ARGENTINA

Federico Delucchi^{1, 2}, Sandra Botté^{1, 2},
Hugo Freije³ y Jorge Marcovecchio^{1, 4, 5}

¹Área de Oceanografía Química, Instituto Argentino de Oceanografía (IADO), CONICET-CCT-BB. Florida 7500, Edificio E-1, CC 804. Bahía Blanca B8000FWB (Argentina). E-mail: <fdeluc@criba.edu.ar>; <sbotte@criba.edu.ar>; <jorgemar@criba.edu.ar>.

²Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur (UNS), San Juan 670, Bahía Blanca B8000ICN (Argentina). ³Laboratorio de Química Ambiental, Departamento de Química, Universidad Nacional del Sur (UNS), Av. Alem 1161, Bahía Blanca, B8000ICN (Argentina). ⁴Facultad Regional Bahía Blanca (FRBB), Universidad Tecnológica Nacional (UNT), 11 de Abril 461, Bahía Blanca B8000LMI (Argentina). ⁵Universidad de la Fraternidad de Agrupaciones Santo Tomás de Aquino (FASTA), Gascón 3151, Mar del Plata B7600FNK (Argentina).

Abstract: The use of some chemicals, such as Cu and butyltin compounds, with high affinity to sediments leave persistent toxic residues, and they are likely to produce a negative impact on the environment. However, new information about the amount of these chemicals within the studied sediments is needed in order to assess the corresponding risk. A rapid increase in both the traffic of ships and the industrial development has occurred over the last 25 years in the Bahía Blanca estuary. This fact is extremely important from an economic viewpoint not only for Bahía Blanca, but also for the neighbouring region although its environmental impact has not been completely evaluated up to now. This study deals with the updating of information on several chemicals (i.e., Cu and butyltin compounds) used in marine paints as biocide to prevent the fouling on ships and harbour facilities. Different sites located over a gradient of impact within the estuary (including reference ones) have been selected for this research. The study was focused on: 1) available metals within the sediments; 2) comparison of the distribution and concentration of TBT (Tributyltin) and Cu; and 3) a discussion on the potential environmental impact of these substances according to the recorded levels. Comparison of the levels of both elements within the sediments from the inner zone of the estuary indicated that detectable anthropogenic inputs occurred, particularly for TBT (0.98 – 416.09 ng TBT g⁻¹). The higher contents of Cu (10-21 µg Cu g⁻¹ dry wt.) were detected in two sites where the marine traffic was more intense. Notwithstanding, and keeping in mind that the obtained values were in the same order of magnitude as those from the 1980s, they can be considered as background concentrations within the system. The obtained results revealed that TBT is more significant than Cu regarding their use as antifoulant agents and the pollution status of the sediments.

Key words: Heavy metals, butyltin compounds, maritime traffic.

Cobre y compuestos butilados de estaño en sedimentos y su relación con las pinturas anti-incrustantes, en el estuario de Bahía Blanca (R. Argentina)

Resumen: El uso de algunas sustancias químicas con alta afinidad a los sedimentos (tales como el Cu y los compuestos butilados de Sn) dejan residuos tóxicos persistentes, tendiendo a un probable impacto negativo sobre el medio ambiente. Sin embargo, para evaluar el correspondiente riesgo es necesario obtener información sobre la cantidad de estas sustancias presente en los sedimentos. Es evidente el rápido incremento en el tráfico de embarcaciones y el desarrollo industrial durante los últimos 25 años en el estuario de Bahía Blanca, lo cual es extremadamente importante desde el punto de vista económico, no sólo para Bahía Blanca, sino también para la región circundante. Pero ello provoca impactos ambientales no evaluados completamente. En este estudio se presenta la actualización de información sobre diversas sustancias químicas (p. e., Cu y compuestos butilados de Sn) usadas en las pinturas marinas como biocidas para prevenir las incrustaciones en barcos e instalaciones portuarias. Para este trabajo fueron seleccionados diferentes sitios localizados sobre un gradiente de impacto dentro del estuario (incluyendo sitios de referencia). El estudio fue enfocado en: 1) metales disponibles en los sedimentos; 2) comparación de la distribución y concentración de TBT (Tributilestaño) y Cu; y 3); y discusión sobre el potencial impacto ambiental de estas sustancias de acuerdo a los niveles registrados. La comparación de los niveles de ambas sustancias en sedimentos de la zona interna del estuario indicaron la presencia de aportes antropogénicos detectables, particularmente para TBT ($0.98 - 416.09 \text{ ng TBT g}^{-1}$). Los mayores contenidos de Cu ($10 - 21 \mu\text{g Cu g}^{-1}$ peso seco) fueron detectados en dos sitios donde el tráfico marítimo era más intenso. Sin embargo, y teniendo en cuenta que los valores obtenidos se encuentran en el mismo orden de magnitud que los registrados en los años 80, se puede considerar concentraciones de fondo dentro del sistema. Los resultados obtenidos revelaron que el TBT es más significativo que el Cu de acuerdo a su uso como agente antiincrustante y en el status de contaminación de los sedimentos.

Palabras clave: Metales pesados, compuestos butilados de estaño, tráfico marítimo.

INTRODUCTION

It is a fact that boats spend a large proportion of their working life partly submerged in water. As with all objects subjected to long periods of time in the water, boat hulls become prone to colonisation by the many micro-organisms which inhabit the aquatic environment. This colonisation is known as

fouling (UK Marine SACs Project 2001; Valkirs *et al.*, 2003). The deleterious effects of marine fouling have affected ocean going vessels since men first travelled by sea (Valkirs *et al.*, 2003). The fouling, if not attended to, causes increased drag on the hull, leading to increased fuel consumption, and eventually causing significant damage to the boat structure. Antifouling paints usually contain a biocide, or toxin, held within the structure of the paint. The coating is designed to leach biocide slowly into the marine environment, preventing any organisms from adhering to the paint by poisoning the settling organisms (UK Marine SACs Project 2001).

The aim of this study is to show the dissimilar pollution level of organotin compounds and Cu in estuarine sediments, both used as antifouling agents.

Over the years tributyltin (TBT) was the favoured antifouling biocide; it has been referred to as the most effective ever developed. However, its continued use has caused severe damage on non-target organisms, particularly shellfish communities. An International Convention on the Control of Harmful Anti-fouling Systems on Ships, adopted by The International Maritime Organization (IMO) banned the application of TBT after January 1, 2003 (Valkirs *et al.*, 2003).

The release of biocides, such as Cu or tributyltin (TBT) from antifouling (AF) coatings on vessel hulls, represents a significant proportion of the overall Cu and TBT loading in active harbours and estuaries. For example locations where substantial numbers of small craft or large vessels are berthed (Valkirs *et al.*, 2003).

The ban on TBT resulted in a shift back to paints which contain Cu as the main biocide consequently raising the levels of this metal in the environment. Cu is included in antifouling paints most commonly as cuprous oxide, but also as cuprous thiocyanate and metallic Cu powder. It is used as both an additive in TBT-based paints increasing the spectrum of biocidal activity, as well as the main biocide in Cu-based paints applied to smaller craft (Haynes and Loong 2002; Valkirs *et al.*, 2003). In Argentina there are paints in the market that are TBT-free or tin-free. In the Bahía Blanca estuary fishing boats are painted using these Cu-based products (Delucchi, *pers. observ.*).

Cu is a naturally occurring element and is essential as a trace element for metabolic processes in living organisms. However, it can also prove to be extremely toxic in high concentrations. Therefore if Cu accumulates to a significant degree in the aquatic environment, it can have a detrimental effect on marine life. Ionic Cu^{2+} , identified as the most toxic and bioavailable fraction, rapidly forms organic and inorganic complexes and becomes less available and less toxic to sensitive single cell and larval planktonic organisms (Zirino and Seligman 2002). Cu is present in all human and animal wastes, and non-human activity, such as natural weathering, also leads to Cu input within the environment. Fungicides, wood preservatives and boat antifouling

paints can also contribute to high levels of Cu in the aquatic ecosystem (UK Marine SACs Project 2001).

The rate of biocide release from antifouling coatings could be influenced by factors such as hydrodynamics, temperature, pH, and salinity, as well as the presence of biofilms (communities of bacteria and algae) on the coating surface. It has been found that controlled release rate takes place through a combination of hydrolysis and dissolution of pigment particles and erosion in seawater. It is well known that the cuprous ion (Cu^+), released from copper-based coatings, is rapidly converted into cupric ion (Cu^{++}) and then slowly forms inorganic and organic complexes and attaches to solids becoming less bioavailable (Morel and Hering 1993; Valkirs *et al.*, 2003).

When most heavy metals and organometallic pollutants enter coastal environments they rapidly adsorb to the suspended particulate matter (SPM) due to its high surface-volume rate and its net negative charge. SPM has high affinity to hydrophobic compounds (high octanol:water partition coefficient) such as TBT. Thus, pollutants could be transported and distributed through the entire estuarine environment adsorbed to the SPM. Then, in turbid water estuaries with high SPM contents and high sedimentation rates, they tend to accumulate in sediments. These reasons led us to include TBT and DBT content in SPM in this research.

Although it may be possible to detect the presence of Cu concentrations in sediments by sampling, it is rather more difficult to identify the source of such concentrations. Cu sources include storm water runoff, industrial, municipal and vessel discharges, atmospheric deposition, leachates and discharges from antifouling coatings and in-water hull cleaning from private, commercial and military vessels, and sediment fluxes (Johnson *et al.*, 1998). While Cu is unlikely to accumulate in fast flushing open coastal areas, it can be found in higher concentrations in the sediments of low flushing waters including streams, bays and estuaries (UK Marine SACs Project 2001).

The detection of TBT and its breakdown products at marina sites which never receive large vessels raises the possibility that this antifoulant is either being used illegally on the hulls of smaller recreational vessels, or that TBT is being dispersed away from harbours through wind and wave action as well as dredging operations. As shown with TBT, the critical issue for any biocide regarding its environmental impact on non-target organisms is its steady state concentration defined by specific site flux or loading rate, dispersion, and persistence in the environment (Valkirs *et al.*, 2003). Hence it is important to know its real distribution in the environment and which its potential sources are.

MATERIALS AND METHODS

Study area

Bahía Blanca (Argentina) is a mesotidal (mean tidal range: 2.0 - 3.3 m) coastal plain estuary (Perillo *et al.*, 2001) located between 38° 45' and 39° 40' S, and 61° 45' and 62° 30' W, with an approximately total area of 2,300 km². It has an elongated shape with major NW-SE-oriented channels separating extensive tidal flats, low salt marshes and islands. It is nearly 80 km long, with depths ranging from -3 to -22 m, and a Principal Channel of Navigation with a width varying from 200 m in the northwest to 3-4 km in the southeast (Piccolo and Perillo 1990; Perillo *et al.*, 2001). The supply of fluvial sediment to this estuary is very low, acting wherefore in an erosional mode (Cuadrado *et al.*, 2004).

Sediments are mainly sand (0.062 to 2.0 mm) and silt clay (< 0.062) and show a distribution pattern in the estuary. Sandy ones predominate in the outer zone while silt clay prevails in the middle and inner area. Moreover there is a difference in sediment composition between tidal flats with more contents of fine fraction and the Principal channel which presents sandbanks with bioclasts (Gelós *et al.*, 2004).

The Bahía Blanca deep harbour system is one of the most important in Argentina. The harbours (Cuatros Port, Galván Port, Ing. White Port, Rosales Port, Belgrano Port) are all located along the main channel of the estuary, which requires regular dredging.

The inner zone of the Bahía Blanca estuary was selected due to its intensive maritime traffic, activities related to cereal industries and commercial or artisanal fisheries and to the contaminant inputs it receives from municipal waste-waters and direct industrial discharges. Two large commercial ports, fishing areas and the most important Argentinean Army harbour (Puerto Belgrano) are located within this estuary, including two dry dock facilities for repairs and painting of different kinds of commercial and military vessels. The first sampling was done in March and April 2005, and five further collections were done every two months from March to December 2005.

Sample collection and storage

The sampling sites (Fig. 1) were located within the inner zone of Bahía Blanca estuary. Eight sampling sites were selected alongside the Principal Channel (from the inner to the outer zone in the estuary) for this study, to determine Cu and TBT contents in sub-surface sediments:

–Villarino Viejo (VV.): with extremely low anthropogenic impact, as reference site (for organotin analysis)

–Cuatrerros port: fishing and recreational port (for organotin and Cu analysis).

–Maldonado: recreational area, close to a former municipal waste dumping site with medium anthropogenic impact (for organotin analysis)

–Galvan channel: A narrow stream where the sewage discharge from the petrochemical industries is done (for Cu analysis).

–Galvan port: a fuel harbour, for loading oil and petrochemical by-products, the sampling site is located next to the fuel pier (for organotin and Cu analysis).

–Ingeniero White port: one of the major commercial and general freight ports of Argentina with a fleet of fishing and recreational boats (for organotin and Cu analysis).

–La Ballena channel: next to the municipal sewage discharge site (for Cu analysis).

–Buoy 25: the outermost sampling site within the Main Navigation Channel (for organotin and Cu analysis).

All glassware used for the collection, storage and analysis of the samples was carefully cleaned according to APHA (1998) with non-ionic detergent, rinsed with tap water and double distilled water. Then, all the pieces were soaked for 24/48 hours in 5 % nitric acid (for butyltin analysis) and 0.7 % (for Cu determination), and finally rinsed three 3 with double distilled water.

Surface sediment samples were collected on deck from the stern using a bottom dredge from the first –10 cm, minimizing contamination from the ship. Samples were placed in amber flasks in the darkness for butyltin analysis and in plastic bags for Cu determination and kept in an icebox. They were then carried to the laboratory, where the first were stored at –20 °C until organotin analysis (McFarland *et al.*, 1995) and the second at 4 °C for less than 48 h to determine total Cu contents.

Seawater samples were collected in 1 L amber bottles for butyltin determination in suspended particulate matter (SPM) and carried to the laboratory as well as sediments. Then they were immediately filtered to avoid losses by adsorption to the recipient and by degradation. Filtration was carried out using a vacuum electric pump and polycarbonate membranes ISOPORE (MILLIPORE), 0.4 µm HTTP. At the end these membrane filters containing SPM were frozen, then lyophilised up to constant weight and stored in a desiccator.

Sediment sub-samples for heavy metal determination were oven-dried (50 ± 5 °C) up to constant weight, homogenized and stored in plastic ware in a desiccator until their analytical treatment. Finally, 20 g sediment sub-samples were oven-dried (at 105 °C) up to constant weight, to determine moisture content, for butyltin analysis.

Organotin determination

Dibutyltin dichloride (DBT, 97 %) was obtained from Fluka Chemika; Tributyltin chloride (TBT, 96 %) and Tetrabutyltin (TeBT, 93 %) were obtained from Aldrich; and Tripropyltin chloride, used as internal standard (TPrT, >99 %), from LGC Promochem. Standard stock solutions of DBT, TBT, and TPrT were prepared in pesticide grade methanol (U.V.E.) and individual working solutions were then prepared by successive dilutions. Sodium borohydride (NaBH_4 , >96 %) was purchased from Fluka Chemika, and the NaOH in methanol reagent was prepared to get a 0.1 % solution (UNEP, 1994). Pesticide grade hexane was provided by Merck (Delucchi *et al.*, 2007).

Butyltin determination was performed following the reference method published by UNEP (1994) and modified by Delucchi *et al.* (2007). Briefly, the extraction of alkyltin compounds was performed on up to 4 g of wet sediment or on lyophilized SPM samples, after adding 100 μL of tripropyltin chloride (internal standard) to each tube. An appropriate volume of 0.1 % NaOH in methanol was added. The tubes were shaken and sonicated for 45 min in an ultrasonic bath and 2 mL of hexane and 100 mg of sodium borohydride was added to each one. Finally, after shaking and centrifugation the hexane layers containing the derivatives compounds were siphoned out and put into an amber glass vial. The hexane extract was blown down and concentrated to approximately 200 μL by a gentle stream of pure nitrogen. Then it was analyzed by gas chromatography and mass spectrometry as described below.

All the organotin determinations were carried out using a Hewlett-Packard HP 6890 gas chromatograph coupled to an HP 5972 mass spectrometer. The injection of 1 μL of the extracts was on splitless mode at 220 °C. He was used as the carrier gas at a constant flow of 1 mL min^{-1} and a temperature programme was used. The organotin hydrides were determined in the Selected Ion Monitoring (SIM) Mode. Limits of Detection (LD) of 2.15 ng Sn g^{-1} and 0.49 ng g^{-1} for DBT and TBT respectively calculated at a signal-to-noise ratio of 3:1 were obtained (Delucchi *et al.*, 2007).

In order to validate the method a certified reference material (NRC-PACS 2) was analyzed. Results obtained by the internal standard method are summarized in Table 1. Acceptable analyte recovery (80 to 105 %) and precision (RSD of 6.8 to 7.6 %) were obtained considering the measured magnitudes (AOAC, 1993).

Copper determination

Cu concentrations were determined in total sediment fraction according to Marcovecchio and Ferrer (2005). Sub-samples of 500 ± 50 mg and reagent blanks were digested using a 1:3 mL mixture of HClO_4 and HNO_3 concentrated. The wet mineralization was made in a thermostatic bath (at 110

Table 1. Internal standard method for TBT and DBT.

	n	Mean (ng Sn g ⁻¹)	SD (ng Sn g ⁻¹)	RSD %	Assigned Value (ng Sn g ⁻¹)	SD (ng Sn g ⁻¹)	Recovery %
DBT	4	1101	84	7.6	1047	64	105 %
TBT	4	714	49	6.8	890	105	80 %

SD: Standard deviation. RSD: Relative Standard deviation.

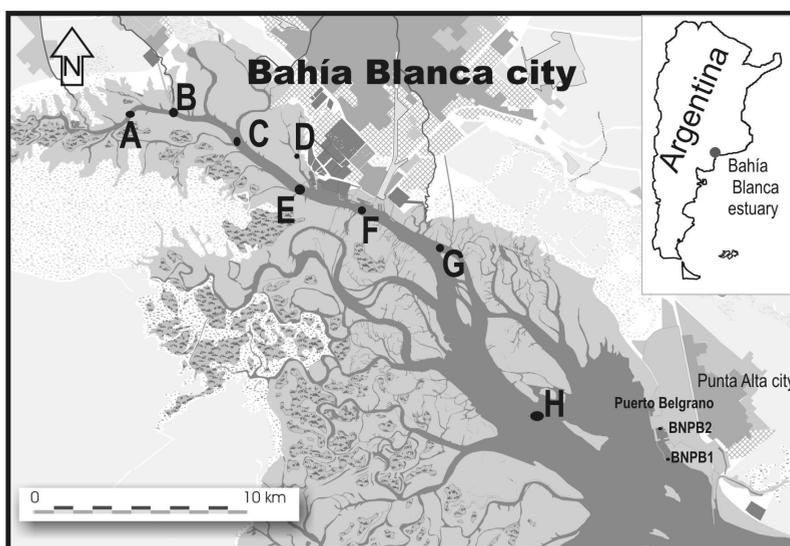


Figure 1. Sampling sites within the Bahía Blanca estuary.

± 10 °C) to minimum volume (<1 mL). The extracts were made up to 10 mL volumes with 0.7 % (v/v) nitric acid.

For the Cu determinations a Perkin Elmer 2380 atomic absorption spectrophotometer (AAS) with air/acetylene flame, was used to perform the corresponding analyses.

In all cases analytical grade reagents (Merck or Baker) were used to build up the corresponding blanks and calibration curves. The analytical quality (AQ) was checked against Certified Reference Material (*Pond Sediments*, R.M. N°2) provided by The National Institute for Environmental Studies (NIES), from Tsukuba, Japan. Recovery percentages for copper resulting from these analyses were between 95.5 % and 99.4 % (Ferrer *et al.*, 2003).

The detection limit of the method (MDL) was calculated as standard deviation (SD) of twelve blank replicates (EPA, 1984), being equal to 0.77 $\mu\text{g g}^{-1}$.

Statistical analysis

One-way statistical analysis of variance (ANOVA) was performed to assess different Cu concentrations between the sampling sites. The SPSS (Statistical Package of Statistical Department, from Universidad Nacional del Sur) Bonferroni and least-significant-difference (LSD) contrast procedures were used to determine to which site correspond the observed differences. Besides, application of descriptive statistics was done and determination of association between sites was demonstrated by correlation test.

RESULTS

DBT and TBT concentrations and distribution

DBT and TBT average concentrations obtained in surface bottom sediments for all the studied sites of the inner zone of the Bahía Blanca estuary are shown in Table 2.

The high temporal variability of TBT and DBT, reflected in high SD values, was due to the heterogeneity of the samples collected in not exactly the same point each time. In some campaigns the samples were mostly sandy with a low content of sediment organic matter (SOM). As reported by Langston and Pope (1995) organotin compounds are known to adsorb onto fine sediments with high contents of SOM but not onto sandy ones. This is the reason why these compounds were not found at all or only in a very low level. However in some cases samples were silt clay with high SOM content and therefore higher concentration of TBT.

The TBT and DBT concentrations assessed within the inner zone of the estuary were much lower than those reported by Delucchi *et al.* (2007) from the dock of Puerto Belgrano Navy Station (BNPB2). Organotin compound concentrations found in the inner zone were importantly lower than those documented in similar environments from other countries (Godoi *et al.*, 2003)

The results of TBT and DBT concentrations obtained in SPM showed diverse values. The more affected sites where we found high values of TBT adsorbed to the SPM were the active harbours such as Ing. White where the highest value of TBT (952.1 ng g^{-1}) was recorded. A high concentration of TBT (651.4 ng g^{-1}) was also found in the Buoy 25 site while the DBT concentration was 125.0 ng g^{-1} .

There are higher concentrations of DBT than of TBT in almost all the studied sites (Fig. 2) and the highest were recorded specially in May and September, except in site F where the DBT concentration slowly increased until November 2005. The highest values of TBT concentration were found in site E and F in March, while in C and H locations the highest ones were recorded in September (2005). The maximum concentration of TBT

Table 2. TBT and DBT concentrations (average \pm standard deviation) in sediments samples from six sites at Bahía Blanca estuary. Sampling period: March to December 2005 (6 campaigns).

Sample sites	ng (cation) g ⁻¹ dry wt			
	TBT min - max		DBT min - max	
A	0.0 - 4.15	2.6 \pm 2.3	0.0 - 147.6	47.1 \pm 58.3
B	0.0 - 4.89	2.2 \pm 1.1	0.0 - 146.4	56.9 \pm 54.4
C	0.0 - 85.5	29.9 \pm 48.2	0.0 - 137.1	55.5 \pm 48.2
E	0.0 - 416	86.4 \pm 184	4.1 - 137.1	54.9 \pm 48.5
F	0.0 - 11.6	14.1 \pm 10.7	6.3 - 64.8	38.7 \pm 19.2
H	1.7 - 38.4	14.0 \pm 21.1	14.7 - 93.2	41.0 \pm 45.3

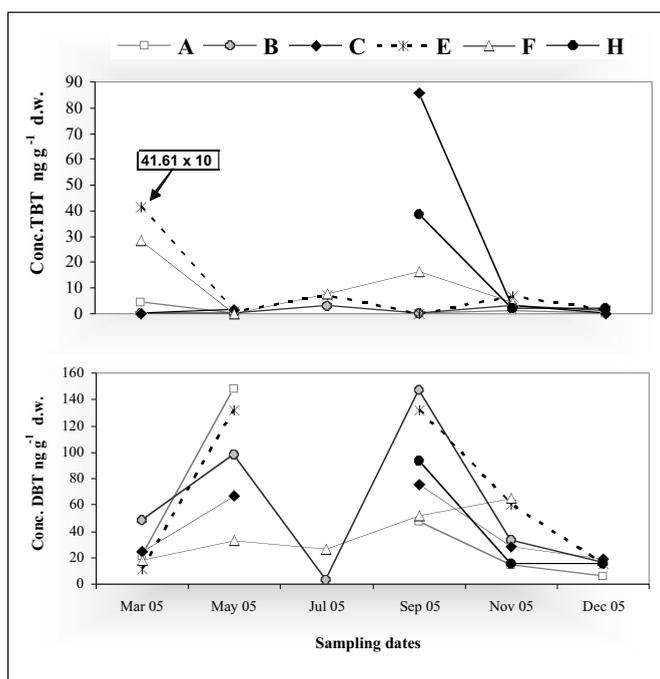


Figure 2. TBT and DBT concentrations in sediments from the Bahía Blanca estuary, during the sampling period.

registered in sediments of the inner zone of the Bahía Blanca estuary, was 416.09 ng g⁻¹ and it was determined in March 2005 in a sample taken in a low flushing area very close to the Galvan harbour pier (site E) and to a floating petrochemical refinery.

The highest correlation was found between sites B and C ($r = 0.97$) in the case of DBT concentration, while site E was positively and significantly correlated with site B ($r = 0.87$) and site H with E ($r = 89$). In the case of TBT concentration, the highest correlation was found between sites H and C ($r = 0.99$) both being pathway environments. Sites E and F have positive and significant correlations with area A ($r = 0.98$ and 0.81 , respectively) probably due to the dispersion of dredged sediments from those active harbours. Lastly, we found a high correlation ($r = 0.84$) between TBT concentration in sediments from sites F and E, showing a similar pollution origin from antifouling paints.

As shown in Fig. 3 the first component reveals that the TBT concentration levels are similar in sites A, E, and F, while the second component shows an opposition for C and H. These two sites named Maldonado and Buoy 25 are the pathway between harbours where ship traffic may be the source of butyltin pollution.

Total Copper concentrations and distribution

Cu contamination in the sediment was widespread in the all evaluated sites of the inner estuary region (Fig. 1). Concentrations in the surface sediments from Principal Channel ranged from 4.54 to 20.76 mg g^{-1} and averaged 12.75 mg g^{-1} (Table 3). Five of the study areas had elevated Cu concentrations with the greatest concentrations observed in the Galvan Channel (D) and Galvan Port (E) areas, followed by Cuatreros Port (B), probably due to boating recreational activities. It was generally observed a gradient in Cu concentration, decreasing since the innermost site to the medium zone of the estuary (Fig. 4). Cu concentrations was significantly different between sites ($p < 0.0001$, ANOVA), showing the Buoy 25 area the lowest concentrations (average = $6.48 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$). Both Bonferroni and LSD tests indicated that the last site differed from the all other sampling sites, with $p < 0.05$ (Fig. 4).

The correlation coefficient ($p < 0.01$) among sites for the Cu contents in the surface sediment showed the following: D and E ($r = 0.9079$, $p < 0.01$) were strongly correlated, and both presented a high correlation with site F ($r = 0.7952$ and $r = 0.8082$, $p < 0.01$, respectively), indicating a possible common problem associated with cargo vessels and lower ships. On the other hand, G was positively and significantly correlated to site H ($r = 0.9235$, $p < 0.01$), suggesting that both points shared similar characteristics probably due to reduced harbour activities.

Fig. 5 shows that the first component represents the abundance of copper in site F followed by D and E, while the second component is defined by the opposition between G and H sites respect to B. These facts let us state that there are three areas with different Cu contents: one in the innermost site (Cuatreros Port), another one in a place with little influence of maintenance

activities on vessels, and in the middle of both the 3 sites with the highest ship traffic and more influenced by the industrial sector.

The concentrations of Cu were similar to those in previous studies undertaken in the region by Pucci (1988), Ferrer *et al.* (2003), and Marcovecchio and Ferrer (2005) for surface sediments. The Cu contents in sediments in Bahía Blanca estuary were lower than those measured in different coastal areas of the world, particularly estuaries strongly contaminated by specific sources of this metal (Rosales-Hoz *et al.*, 2003). However, the overall levels of the six evaluated sites were higher compared to the results reported for sediments associated with recreational vessels using popular anchor sites or boating activities (Warnken *et al.*, 2004). This fact could be related to high levels of SOM and a highly significant correlation of Cu with the SOM concentrations in the sediments (Ferrer *et al.*, 2003), and even more, due to the high content of sediment fraction <63 μm from 63 % o 96 % in the inner zone (Delucchi *et al.*, 2007).

DISCUSSION

The levels of Cu throughout the sampling period for all the assessed areas in the bottom sediments from Bahía Blanca estuary could mean that there is a relation between Cu content and antifouling paints on vessels.

Valkirs *et al.* (2003) based on their own data, suggested that the presence of an established biofilm could help moderate the release of Cu from field-exposed antifouling coatings on hull surfaces. This could be the reason why Cu even when found in higher values at those sites which are more influenced by ships, showed lower concentrations than in other marine coastal places.

The total Cu concentration exhibited a distribution pattern related to harbour activities and traffic vessels. The lowest values were recorded at the furthest study area of the estuary (Buoy 25 followed by La Ballena channel) and the highest in the inner one, particularly in the central industrial area (Galván port and Galván channel). As with other heavy metals in the Bahía Blanca estuary, this report could not establish whether Cu entered the estuary at these points or if it was redistributed through circulation and transport processes (Marcovecchio and Ferrer 2005).

Overall, Cu loading or flux to a harbour or estuary is the sum of all input sources. Ultimately, it is the steady state concentration of the toxic or bioavailable form of the chemical that determines its environmental toxicity and ecological impact (Valkirs *et al.*, 2003).

Cu severely affects the gills in fish, it also destroys their mechano- and chemo-receptors and the fish lose the elusivity. It affects the epithelium of

Table 3. Summary statistics for Cu concentrations ($\mu\text{g g}^{-1}$) from Principal Channel in the Bahía Blanca estuary. Sampling period: March to December 2005 (6 campaigns).

Sites	N	Min	Max	Average (\pm SD)	Var.	95% C.I.
B	6	9.04	20.76	14.4 \pm 4.6	21.3	(14.31-14.55)
D	6	11.63	19.36	15.0 \pm 3.4	11.5	(14.93-15.10)
E	6	12.63	16.80	14.9 \pm 1.8	3.24	(14.87-14.96)
F	6	9.48	17.12	12.6 \pm 2.6	6.49	(12.55-12.68)
G	6	10.89	15.18	13.0 \pm 1.7	2.44	(13.00-13.08)
H	6	4.54	8.90	6.5 \pm 1.8	3.38	(6.44-6.53)
All area	36	4.54	20.76	12.75		

the lateral line. Embryos and reproductive adults are most sensible to Cu pollution (Freije, *pers. observ.*).

As reported by His and Robert (1987), the effects of two antifouling paints, one containing organotin compounds, the other Cu oxide, were evaluated on *Crassostrea gigas* growth under natural field conditions in France. The organotin paint reduced growth rate expressed as weight, length and width, but it did not affect shell height. It drastically decreased the dry condition factor and shell density, but it did not affect the viability of embryos and larvae from exposed oysters. However, some decrease in larval growth rate was observed. The Cu paint had no effect on oyster growth, but it lowered the condition factor compared to controls. Neither the viability of embryos and larvae nor larval growth, were affected by this paint.

Factors influencing Cu loading values include loss rates based on hydrodynamic flushing, complexation and speciation, adsorption to particles and loss to the sediments or through bioaccumulation. In the Bahía Blanca estuary Cu distribution depends not only on the sources but also on the hydrodynamic characteristics of the system. They are very particular and give a different scenario for the assessment of Cu occurrence. Cu concentrations in the sediments from the Principal Channel were influenced by proximity to sources (cities, industries, and harbours). In this study, the areas with highest Cu concentrations tended to be associated with great vessel density and low water circulation. It is necessary to implement a monitoring programme of Cu occurrence directly within the harbour, to determine if concentrations are increasing or decreasing due to its use as antifouling paint.

TBT-based antifoulants became widely used on the hulls of ships in the 1970s with the development of self-polishing copolymer paints (Waite *et al.*, 1991). The unregulated use of those antifouling paints produced harmful environmental problems especially in harbours, marinas, and estuaries. It almost caused the collapse of oyster farming in France and Britain and the

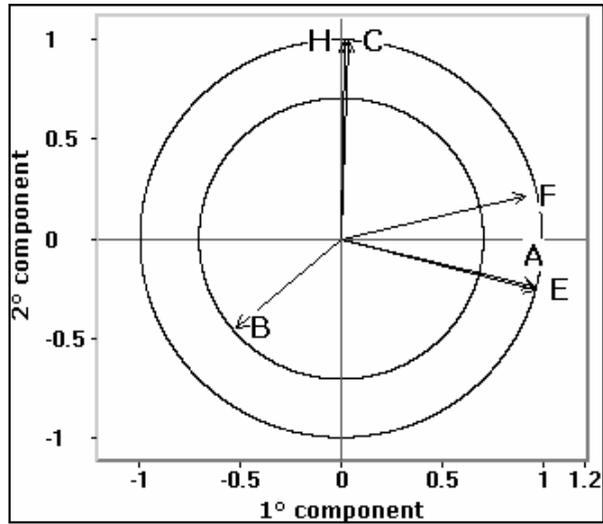


Figure 3. Ordination diagram of TBT between sites.

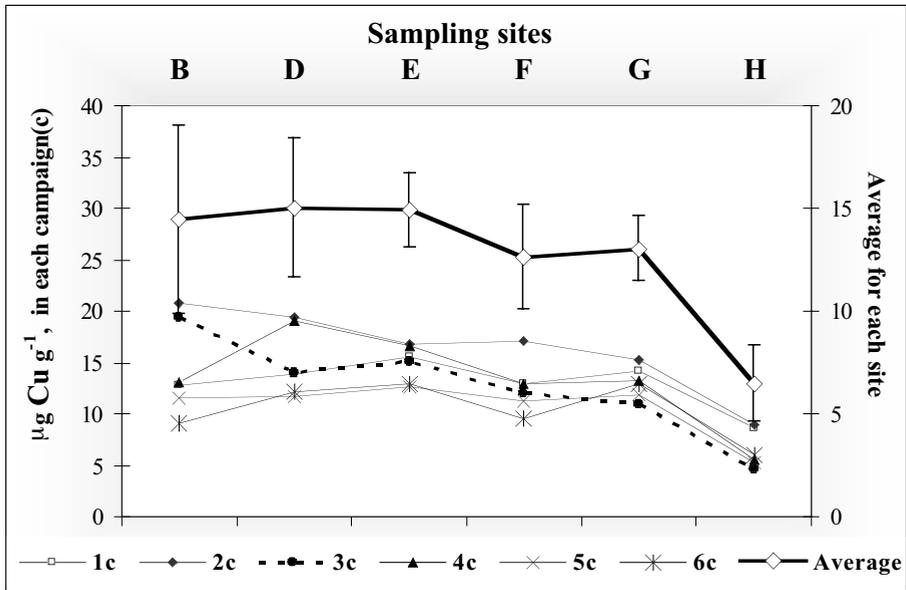


Figure 4. Copper concentrations in sediments from the Bahía Blanca estuary, along the sampling sites.

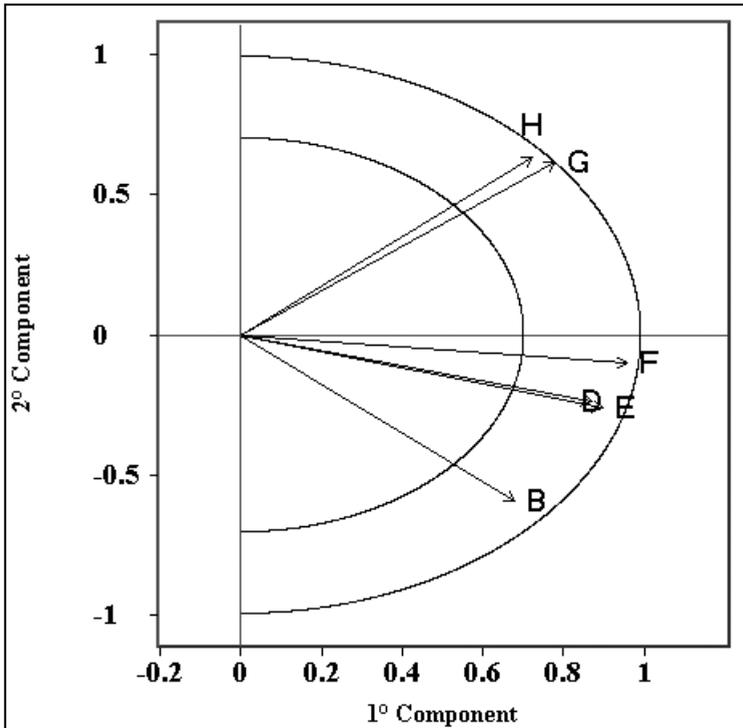


Figure 5. Ordination diagram of copper between sites.

decline of populations of *Nucella lapillus* on rocky shores of the North Sea (Evans and Nicholson 2000). In spite of regulations prohibiting TBT-based antifoulants, these are still used on large vessels and in some cases on pleasure boats. In consequence, ports and especially those with dry dock and repair facilities are still hot spots of pollution (Evans and Nicholson 2000). TBT tends to accumulate in sediments and so places that need dredging operations, such as Bahía Blanca estuary, may have a problem when contaminated sediments are removed and transferred.

The relatively higher amounts of DBT found in the inner zone of the Bahía Blanca estuary could be related to the removal of sediments due to dredging operations which lead to the faster degradation of TBT into DBT by sunlight and microorganisms. These processes could also explain the scattering of these compounds in the studied area.

Organotin compounds are not present in nature and the origin of butyltin compounds can be found in the industrial synthesis for stabilization of PVC in the case of DBT and for antifouling paints in case of TBT. While DBT could come from degradation of TBT but could also be related to the weathering of PVC pipes (Fent 1996), we focused our research on harbour areas

of the Bahía Blanca estuary where the organotin pollution is directly related to antifouling paints used in ships that have entered this coastal system.

CONCLUSION

The reported differences between studied sites for Cu concentrations in sediments would confirm the effect of ship activities, taking into account those from B, D, E, and F sites which usually presented the highest values. In the sewage discharge area (G) the high values respond to input from municipal waste-waters.

The detection of TBT and its breakdown product (DBT) in the main channel of the Bahía Blanca estuary, near the most active commercial harbours, implies that this banned antifouling agent may continue to be used illegally on the hulls of ocean going ships.

The impact of residual antifouling agents such as Cu and TBT in low flushing areas of estuaries should be recognised as a significant and long-term environmental problem. Unless antifoulant clean-up and dry-dock waste treatments are undertaken organotin and Cu pollution may turn into a very serious environmental situation that will need constant monitoring.

Acknowledgements: This study was financially supported by grants of CONICET (PIP N°026666/01) and ANPCYT (PICT N°07/11636) from Argentina. Authors are grateful to Lic. J. Arlenghi (IADO) for his help in sample processing and Cu chemical analysis. We wish to thank Dr. W. Melo for kindly providing the map of the Bahía Blanca estuary requested. We also wish to thank Ms. M. Boubée who has kindly reviewed the English version of this manuscript, and her suggestions were welcome and accepted.

REFERENCES

- APHA, AWWA, WEF. 1998. Standard Methods for the examination of water and wastewater. 20th edn. L. S. Clesceri, A. E. Greenberg and A. D. Eaton (Eds.), Washington D.C. 1200 pp.
- Association of Analytical Communities (AOAC). 1993. Peer verified methods program. Manual on policies and procedures. AOAC. Arlington, USA.
- Cuadrado D.G., Ginsberg S.S. and Gómez, E.A. 2004. Geomorfología. In: Piccolo MC, Hoffmeyer MS (eds). *Ecosistema del Estuario de Bahía Blanca*. Bahía Blanca, Argentina. Pp. 29-38.
- Delucchi F., Tombesi N.B., Freije R.H. and Marcovecchio J.E. 2007. Butyltin Compounds in Sediments of the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Environ. Monit. Assess.*, 132: 445-451.

- EPA (Environmental Protection Agency). 1984. *Federal Register, Rules and Regulations*, 49: 198-199.
- Evans S.M. and Nicholson G.J. 2000. The use of imposex to assess tributyltin contamination in coastal waters and open seas. *Sci. Total Environ.*, 258: 73-80.
- Fent K. 1996. Organotin compounds in municipal wastewater and sewage sludge: contamination, fate in treatment process and ecotoxicological consequences. *Sci. Total Environ.*, 185: 151-159.
- Ferrer L.D., Andrade S.J., Contardi E.T., Asteasuain R.O. and Marcovecchio J.E. 2003. Copper and zinc concentrations in the Bahía Blanca Estuary (Argentina), and their acute lethal effects on larvae of the crab *Chasmagnathus granulata*. *Chem. Spec. Bioavail.*, 15: 7-14.
- Gelós E.M., Marcos A.O. Spagnuolo J.O. and Schillizzi, R.A. 2004. Textura y Mineralogía de Sedimentos. In: Piccolo MC, Hoffmeyer MS (eds). *Ecosistema del Estuario de Bahía Blanca*. Bahía Blanca, Argentina. Pp.: 43-50.
- Godoi Ana F.L., Montone R.C. and Santiago-Silva M. 2003. Determination of butyltin compounds in surface sediments from the São Paulo State coast (Brazil) by gas chromatography-pulsed flame photometric detection. *J Chromatogr., A*, 985: 205-210.
- Haynes D. and Loong D. 2002. Antifoulant (butyltin and copper) concentrations in sediments from the Great Barrier Reef World Heritage Area, Australia. *Environ. Pollut.*, 120: 391-396.
- His E. and Robert R. 1987. Comparative effects of two antifouling paints on the oyster *Crassostrea gigas*. *Mar. Biol.*, 95: 83-86.
- Johnson H.K., Grovhoug J.G. and Valkirs A.O. 1998. *Copper Loading to US Navy Harbors*. SPAWAR Systems Center San Diego. Tech. Doc. 3052. San Diego, USA.
- Langston W.J. & Pope N.D. (1995). Determinants of TBT adsorption and desorption in estuarine sediments. *Mar. Pollut. Bull.*, 31: 32-43.
- Marcovecchio J.E. and Ferrer L.D. 2005. Distribution and geochemical partitioning of heavy metals in sediments of the Bahía Blanca estuary, Argentina. *J. Coast. Res.*, 21: 826-834.
- McFarland M., England S. and Hamilton M.C. 1995. Assessment of the integrity of chemicals in environmental samples over an extended period of time. DOE FRAP 1996-27. *Environment Canada*, Pacific Region, Vancouver B.C. 46 pp.
- Morel F.M.M. and Hering J.G. 1993. *Principles and Applications of Aquatic Chemistry*, second ed. Wiley/Interscience, New York.
- Perillo G.M.E., Piccolo C., Parodi E. and Freije R.H. 2001. The Bahía Blanca Estuary, Argentina. In: U. Seeliger and B. Kjerfve (Eds.), *Coastal marine ecosystems of Latin America, Ecological Studies*, Vol. 144, Springer-Verlag, Berlin. Pp.: 205-217.
- Piccolo M.C. and Perillo G.M.E. 1990. Physical characteristics of the Bahía Blanca Estuary (Argentina). *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 31: 303-317.
- Pucci A.E. 1988. Heavy Metals in Water and Sediments of the Blanca Bay, Argentina. In: U. Seeliger, L.D. de Lacerda and S.R. Patchineelam (eds.) *Metals in Coastal Environments of Latin America*, Springer-Verlag, Berlin. Pp.: 9-15.

- Rosales-Hoz L., Cundy A.B. and Bahena-Manjarrez J.L. 2003. Heavy metals in sediments cores from a tropical estuary affected by anthropogenic discharges: Coatzacoalcos estuary, Mexico. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 58: 117-126.
- UK Marine SACs Project. 2001. *The potential effects of antifouling paints*. <<http://www.ukmarinesac.org.uk>>.
- UNEP/IOC/IAEA. 1994. Determination of organotins in environmental samples. *Reference Methods for Marine Pollution Studies*, No. 59, UNEP. 38 pp.
- Valkirs A.O., Seligman P.F., Haslbeck E. and Caso J.S. 2003. Measurement of copper release rates from antifouling paint under laboratory and in situ conditions: implications for loading estimation to marine water bodies. *Mar. Pollut. Bull.*, 46: 763-779.
- Waite M.E., Waldock M.J., Thain J.E., Smith D.J. and Milton S.J. 1991. Reductions in TBT concentrations in UK estuaries following legislation in 1986 and 1987. *Mar. Environ. Res.*, 32: 89-111.
- Warnken J., Dunn R.J.K and Teasdale P.R. 2004. Investigation of recreational boats as a source of copper at anchorage sites using time-integrated diffusive gradients in thin film and sediment measurements. *Mar. Pollut. Bull.*, 49: 833-843.
- Zirino A. and Seligman P.F. (Eds.) 2002. *Copper chemistry, toxicity, and bioavailability and its relationship to regulation in the marine environment*. Office of Naval Research Second Workshop Report. SPAWAR Systems Center San Diego. Tech. Doc. 3140. San Diego, USA.

ESTUDIO DE VARIABLES INDICATIVAS DE RIESGO EN LA TOXICIDAD DEL ARSÉNICO

Elsa Mónica Farfán Torres^{1,2}, Analía Boemo¹ y Liliana E. Lorenzo²

¹ Facultad de Ciencias Exactas y Consejo de Investigación, Universidad Nacional de Salta. Avda. Bolivia 5150, Salta 4400 (Argentina). ² INIQUI-CONICET, Universidad Nacional de Salta, Avda. Bolivia 5150, Salta 4400 (Argentina). E-mail: <mfarfan@unsa.edu.ar>.

Resumen: La llanura Chaco-salteña (Argentina) es una región semiárida, con provisión de agua para beber con elevadas concentraciones naturales de As y con una población dispersa, ya sea urbana o rural, que carece de alternativas de abastecimiento. Se caracterizaron 16 aguas subterráneas del Departamento Rivadavia Banda Sur (Salta) en cuanto a sus componentes mayoritarios y algunos elementos traza de interés. Las aguas bicarbonatadas, sulfatadas y cloradas sódicas resultaron las de mayor contenido en As, con concentraciones comprendidas entre 0,13 y 1,22 mg As L⁻¹, mientras que las cálcicas no superaron los 0,06 mg As L⁻¹. La determinación de As en muestras de alimentos confirmó que la principal vía de exposición es el agua de bebida. El análisis de Se, Sb y Zn (elementos moduladores de la toxicidad del As) en aguas y alimentos puso en evidencia que la ingesta diaria de Sb está por debajo del nivel de exposición normal (0,4 µg Sb kg⁻¹ peso corporal/día), mientras que para Se y Zn sólo las carnes rojas y los alimentos compuestos que las contienen alcanzaron la Ingesta Diaria Admisible (12,5 µg Se kg⁻¹ peso corporal/día y 1 mg Zn kg⁻¹ peso corporal/día respectivamente). La destoxificación vía urinaria mostró altos contenidos de As, Se y Sb totales, los dos últimos no compatibles con la ingesta.

Palabras clave: Llanura chacosalteña, hidroarsenicismo, remediación, moduladores de toxicidad, destoxificación urinaria.

Indicative variables in arsenic toxicity risk assessment

Abstract: In the semi-arid Chaco plain in the Salta province, NW of Argentina, high natural concentrations of As is often found in ground-water supply. Better quality drinking water is unavailable to the population, settled in small towns or dispersed in rural communities. Trace element analysis and major components characterization of 16 ground-water from Rivadavia Banda Sur, Salta, showed high concentration of As in sodium sulfate, acid carbonate or chloride waters (0.13 to 1.22 mg As L⁻¹), while in hard waters As concentrations are below 0.06 mg As L⁻¹. Arsenic contents found in food samples indicate that the major route of exposition is drinking water. Se, Sb, and Zn are known to modulate As

toxicity; evaluation of dietary exposure of these elements indicate that Sb intake is under the tolerable limit (0.4 $\mu\text{g Sb kg}^{-1}$ bw/day), while Recommended Daily Intake for Se and Zn is achieved only in red meat and its composite food (12.5 $\mu\text{g Se kg}^{-1}$ bw/day and 1 mg Zn kg^{-1} bw/day respectively). Total As, Se and Sb analysis in urine samples proved high urinary detoxification ability, not compatible with dietary intake for Se and Sb.

Key words: Chaco plain, hydroarsenicism, remediation, toxicity modulators, urinary detoxification.

INTRODUCCIÓN

En la provincia de Salta (R. Argentina), se encuentran dos zonas geográficas bien diferenciadas entre sí que presentan concentraciones naturales muy elevadas de arsénico: a) la Puna, planicie de altura, en la zona cordillerana andina del Oeste; y b) la llanura chaqueña, de escaso relieve, al Este. Entre ambas se extiende la zona de los valles centrales, con contenidos de As en aguas superficiales y subterráneas menores que $10 \mu\text{g As L}^{-1}$. En estudios anteriores (Rodríguez Rey 1999) se determinó que el contenido de As en aguas superficiales de la Puna ($0,05\text{--}1,5 \text{ mg As L}^{-1}$) y subterráneas de la región chaqueña ($0,004\text{--}0,21 \text{ mg As L}^{-1}$) exceden en muchos casos lo indicado para aguas a potabilizar. Sin embargo, las enfermedades derivadas del hidroarsenicismo aparecen con mayor frecuencia en la zona del Chaco: Esta discrepancia ha sido atribuida a diferencias genéticas o de adaptación al ambiente a través de las generaciones de los pobladores originarios de la Puna (Concha Quezada 2001). Este comportamiento diferencial inició una serie de estudios sistemáticos en el Chaco salteño referidos no sólo al nivel de contaminación de As y elementos modificadores de su toxicidad en las aguas usadas como potables, sino también en alimentos, así como su eliminación del organismo humano a través del sistema urinario.

El objetivo de este estudio es determinar el contenido de As y concomitantes de interés en muestras de agua, alimento y orina en una región afectada de hidroarsenicismo crónico regional endémico (HACRE), a fin de establecer en el futuro correspondencias entre estas variables y las manifestaciones clínicas que permitan implementar políticas de prevención y remediación.

1. Toxicidades e ingestas

1.1. Toxicidad del arsénico

El hidroarsenicismo crónico es una alteración en la salud relacionada con factores toxicológicos ambientales. Las elevadas concentraciones naturales de As en agua, que tienen origen en el vulcanismo andino, varían en un amplio rango comprendido entre 5 a $8000 \mu\text{g L}^{-1}$ y están frecuentemente

asociadas a otros elementos como V, F, Mo, U, eventualmente Se y sulfatos (Nicolli 1989). Numerosos estudios previos han demostrado que existe una marcada relación entre la exposición a As y patologías tales como cáncer de piel y otros varios órganos internos, hiperpigmentación, queratosis, efectos negativos sobre el sistema nervioso y complicaciones vasculares (NRC-US 1999).

La toxicidad del As está regida por la forma química en la cual se encuentra. Así, para una adecuada asignación de riesgo toxicológico la investigación ambiental moderna no debe restringirse a la determinación de la concentración total, sino que debe tener en cuenta las diferentes especies presentes. Por ejemplo, arsenobetaina, el compuesto mayoritario de As en pescado, no es tóxico para el organismo humano, mientras que las especies inorgánicas (As(III) más que As(V)) sí lo son. La especie predominante en aguas subterráneas es As(V); la presencia de Arsénico(III) está ligada a potenciales redox negativos y a la posible estabilización de esta especie por el C orgánico disuelto (COD). Las especies metiladas, producidas por los organismos vivos como forma de detoxificación, son aún de menor peligrosidad (Vahter 2001). Sin embargo, muchos organismos internacionales aún expresan los límites máximos tolerables en concentraciones totales, dado que la especiación de As (y de otros elementos) todavía está lejos de ser un análisis rutinario de laboratorio (FSANZ 2002).

La mayor exposición del hombre al As se produce a través del agua ingerida, generalmente en la forma de AsO_4^{3-} , que es absorbido por el tracto gastrointestinal, metabolizado a través de una serie de reacciones redox/metilantes y excretado por vía urinaria. El tiempo de permanencia en el organismo varía con la dosis, forma de exposición, género y probablemente factores como la dieta. El Código Alimentario Argentino (CAA 2007) fija como máximo permitido una concentración de As total de $10 \mu\text{g As L}^{-1}$ para agua potable.

La Agencia de Protección Ambiental (US-EPA 1988) clasifica al As inorgánico (AsI) en el Grupo A (carcinógeno humano); sin embargo, aún no se ha establecido para agua de bebida una concentración de referencia. El límite tolerable en humanos para As inorgánico es $3 \mu\text{g As kg}^{-1}$ de peso corporal por día ($\mu\text{g As kg}^{-1} \text{pc/día}^{-1}$) basado en hiperpigmentación, queratosis y complicaciones vasculares. La Organización Mundial de la Salud (WHO 1993) estima, en forma provisional, que la dosis diaria para AsI que puede originar lesiones en piel (tras algunos años) es 1 mg As día^{-1} .

Finalmente, la situación es aún más complicada cuando se considera que existen varios elementos capaces de modular la toxicidad crónica del As ambiental, variables que pueden aumentar o suprimir la genotoxicidad y carcinogenicidad del As en el tejido vivo. Entre éstos están los co-contaminantes en el agua de bebida, como el Sb y los incorporados en la dieta, como el Se y el Zn.

1.2. Elementos moduladores de la toxicidad del As

1.2.1. Antimonio (concomitante del As en agua)

En comparación con otros elementos existe muy poca información sobre la química ambiental del Sb, principalmente debido a su baja concentración. La toxicidad y comportamiento biológico del Sb depende de su estado de oxidación, siendo el Sb(III) un tóxico más activo que el Sb(V) (Gebel 2000).

El Sb no está presente normalmente en muestras biológicas y raramente es tratado en el análisis toxicológico. Sin embargo, tiene características químicas similares al As y es probablemente más activo que éste como competidor biológico.

Una exposición prolongada en forma conjunta a As y Sb puede tener importancia relevante en la asignación de riesgo toxicológico, pues se conoce que este elemento es capaz de modificar los efectos del As. En experimentos *in vivo* el Sb (III) inhibe completamente la metilación metabólica del As; por otro lado, se ha demostrado que el Sb es capaz de suprimir la inducción de intercambio de cromátidas hermanas y micronucleídos iniciada por el As. Así, el Sb puede actuar como exaltador o supresor de la toxicidad del As. El Código Alimentario Argentino (CAA 2007) establece como máximo 20 $\mu\text{g Sb L}^{-1}$ para agua potable.

1.2.2. Selenio (concomitante del As en alimentos)

El Se es un micronutriente esencial para el ser humano, animales y algunas plantas; es imprescindible para el normal funcionamiento de la glándula tiroides y del sistema inmunológico, por lo que interviene en el desarrollo normal, crecimiento, metabolismo y defensa del organismo. En contraste, la exposición alta a Se (selenosis) es perjudicial para la salud, provocando trastornos gastrointestinales, caries dentales, dermatitis, anorexia, nerviosismo y algunas otras alteraciones menores (Gebel 2000).

Los niveles de Se en el organismo dependen principalmente de la cantidad incorporada a través de la alimentación, que es la vía principal de exposición ambiental. El rol que cumple en la salud o enfermedad humana es un tema de gran actualidad, en particular su posible efecto preventivo cuando es suplementado a la dieta natural por preparados farmacéuticos, ya que el margen de seguridad entre la dosis nutricional y tóxica es muy estrecho (CSQS 2007).

As y Se son antagonistas mutuos en el organismo y cada uno inhibe la toxicidad del otro. Según estudios en Taiwán, cuanto mayor es la concentración de As en agua (y, por tanto, la exposición acumulada a As) mayor es la concentración de metabolitos de As en orina; además, el porcentaje excretado de AsI decrece significativamente y paralelamente aumenta el de

As metilado con el aumento de Se urinario. Esto parece indicar que altos niveles de Se estimulan la metilación metabólica del As, disminuyendo su toxicidad (Chiou *et al.* 1997).

Cuando se considera la capacidad antioxidante del Se en condiciones de exposición crónica al As, la deficiencia de Se puede ser un factor exaltador de la toxicidad del As, pues el exceso de éste en el hígado compite con el Se y lo reemplaza en enzimas Se-dependientes tal como la glutation-peroxidasa (GPO), inactivándolas. La asociación entre un nivel bajo de Se, daño genotóxico y riesgo de cáncer todavía sigue en estudio, dado que no se ha encontrado un nexo consistente entre estos factores.

El contenido natural de Se en agua dulce se encuentra a nivel de traza y no es un contribuyente principal a la ingesta diaria. En nuestro país el límite máximo permisible para aguas potables (CAA 2007) es $10 \mu\text{g Se L}^{-1}$. La Academia Nacional de Ciencias (NAS 1989) estima, provisionalmente, las dosis máximas diarias de Se inorgánico para infantes y adultos en 1,7 y 0,9 mg Se d^{-1} , respectivamente. La ingesta típica, basada en estudios nutricionales, varía entre 50 y 500 mg Se d^{-1} (FSANZ 2002).

Está claro que la exposición al Se debe ser analizada en forma conjunta al As en el caso de monitoreo biológico humano; sin embargo, es necesario un mayor entendimiento de los mecanismos por los cuales el Se modula la iniciación y progreso del cáncer para implementar la suplementación dietaria del Se como una estrategia práctica de prevención oncológica y mutagénica.

1.2.3. Cinc (concomitante del As en alimentos)

El Zn es un oligoelemento; su función principal es actuar como cofactor o regulador de distintos enzimas, entre los que cabe señalar la anhidrasa carbónica, las ADN y ARN polimerasas (enzimas que intervienen en la replicación celular y síntesis de proteínas, respectivamente) y la superóxido dismutasa (que actúa en la desaparición de sustancias con poder oxidante).

El Zn es incorporado al organismo humano principalmente vía alimentaria; se ha encontrado que la concentración media de Zn en especias es mucho mayor que en cereales y, en orden decreciente, en productos de panadería y vegetales. La ingesta media diaria recomendada es 15 mg Zn d^{-1} para varones adultos, 12 mg Zn d^{-1} para mujeres adultas, 10 mg Zn d^{-1} para pre-adolescentes y 5 mg Zn d^{-1} para lactantes (*National Academy of Science*, 1989). La deficiencia nutricional de Zn fue señalada como exaltadora de los desórdenes vasculares periféricos no cancerígenos (conocidos como la enfermedad de los pies negros), endémico en las regiones con alto contenido de As en el agua de bebida (Engel 1994). Además, se conoce que el Zn aumenta

el nivel de metalotioneína y altos niveles de esta proteína pueden ayudar a la detoxificación del As.

En aguas naturales el Zn es un constituyente minoritario. En Argentina, la concentración máxima permitida en agua a potabilizar es 5 mg Zn L⁻¹ (CAA 2007). A pesar de la alta tolerancia las organizaciones internacionales *Global Environment Monitoring System* y *USEPA* incluyen al Zn en sus programas de asignación de calidad de aguas.

1.3. Ingesta Diaria Recomendada y Límite Tolerable Diario

El Comité conjunto *FAO/OMS* ha definido la Ingesta Diaria Admisible (IDA; *Recommended Daily Intake, RDI* en inglés), como la “cantidad máxima de una sustancia química presente en un alimento que se recomienda ingerir al día, expresada en mg del agente por kg de peso corporal, que carece de riesgo apreciable”. No se trata, entonces, de un nivel de toxicidad, sino de un nivel de ingesta seguro que se asigna en base a un Nivel de No Observación de Efectos Adversos (NOEA).

Se y Zn son elementos esenciales para la salud, pero pueden resultar tóxicos cuando se exceden ciertos valores. Las IDAs son fijadas para Se y Zn de acuerdo a las necesidades de la mayoría de la población sana, esto es, evitar la deficiencia. En contraste, los Límites Tolerables Diarios (LTD) son usualmente fijados a niveles mayores que las IDAs y corresponden a la cantidad de sustancia por debajo de la cual no ocurrirán efectos tóxicos, es decir, el LTD es un límite superior de salud. Las Tablas 1 y 2 muestran valores de IDAs y LTDs establecidos por organizaciones reconocidas, discriminados por edad y género.

Tabla 1. Límites Tolerables Diarios (LTD) para As y concomitantes en alimentos.

Elemento	LTD (µg/kg pc/día)	Limite tolerable diario (µg/día)			Organización
		Adulto masc.	Adulto fem.	Niños	
Antimonio	0,4	30	24	16	USEPA 1991
Arsénico total	3,0	225	180	120	ANZFA 1999
Arsénico inorg.	2,1	158	126	84	Joint FAO/WHO
Selenio	12,5	938	750	500	Joint FAO/WHO
Cinc	1000	75000	60000	40000	Joint FAO/WHO

ANZFA: Australia New Zealand Food Authority.

Tabla 2. Ingesta Diaria Admisible para los oligoelementos estudiados.

Elemento	IDA Adultos masc. ($\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{día}$)	IDA Adultos fem. ($\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{día}$)	IDA Menores masc. ($\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{día}$)	IDA Menores fem. ($\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{día}$)	Organización
Selenio	1,04	1,06	1,73	1,35	FSANZ 2002
Cinc	146	182	245	231	ANZFA 1999

FSANZ: Food Std. Australia New Zealand. ANZFA: Australia New Zealand Food Authority.

1.4. Selección de orina como indicador biológico

Para evaluar exposición el As puede ser medido en sangre, pelo, uñas y orina. La medida de As en sangre no se considera un indicador confiable de la exposición crónica a bajos niveles de As, dado que éste es eliminado del torrente sanguíneo en pocas horas. Debido a la gran variabilidad entre individuos y a la contaminación potencial por otras fuentes, pelos y uñas no son considerados indicadores confiables (TDH/ASTR 2003). La concentración de As total (AsT) en la orina es generalmente aceptado como un buen indicador de la cantidad de As absorbido, dado que la excreción vía urinaria es la ruta principal para la eliminación de todas las especies en la mayoría de los animales (Lauwerys 2001; Vahter 1994). Una muestra integrada de 24 h resulta óptima, pues minimiza las fluctuaciones en la cantidad de As excretada; sin embargo, las dificultades asociadas a su recolección determinaron el uso de primeras micciones o micciones puntuales al azar en la mayoría de los estudios de exposición (TDH/ASTR 2003). La corrección de la concentración de AsT por análisis simultáneo de creatinina urinaria (CU) ajusta las diferencias surgidas por el estado de hidratación del individuo al momento de la micción, es decir, la concentración o dilución de los metabolitos en orina. Los resultados de la concentración de los analitos se expresan en $\mu\text{g X g}^{-1}$ CU.

2. Información del área muestreada y población

La región chacosalteña es una extensa planicie ubicada al Este de la provincia de Salta; geomorfológicamente es parte integrante de la llanura chacopampeana que se extiende sobre la mitad occidental de las provincias argentinas de Formosa y Chaco, Santiago del Estero, Norte de Santa Fe y Córdoba. Presenta una suave pendiente hacia el Este, con dos cuencas hidrográficas importantes, las de los ríos Pilcomayo y Bermejo, que en esa zona escurren en dirección NO-SE en forma casi paralela, sin recibir aportes hídricos de magnitud. El clima es continental, cálido subtropical, con una

temperatura media anual de 20 °C. Las precipitaciones son escasas, inferiores a 700 mm anuales y, al estar concentradas en el período estival, provocan inundaciones importantes de alta permanencia, o bien extensos períodos de sequía. Los suelos son mayoritariamente arcillosos, lo que sumado a la escasa pendiente, dificulta el escurrimiento de las aguas, formando bañados, esteros y lagunas (“madrejones” que perduran aún entrada la época seca) que sirven de fuente de agua de bebida para todo tipo de habitantes del monte.

Como región fitogeográfica predominan las formaciones forestales, ya sea en forma de bosque, selva o parque; sin embargo, el desmonte ocurrido en los últimos años con el propósito de expandir la frontera agropecuaria ha influido en el ecosistema, ocasionando la pérdida de un importante número de individuos de flora y fauna, y la disminución de la capacidad de retención de las precipitaciones, aumentando consecuentemente el riesgo de inundaciones en frecuencia y magnitud.

Los depósitos sedimentarios del Chaco salteño se formaron a través de aportes eólicos, aluviales y fluviales de materiales provenientes del sector montañoso andino. Así, factores tales como la importante exposición al vulcanismo Cuaternario, la presencia de ambientes áridos o semiáridos, con estaciones secas prolongadas y la sedimentación de origen acuático con componentes mayoritariamente volcánicos, determinan una alta disponibilidad del As debido a procesos de disolución y transporte, favoreciendo el enriquecimiento natural de aguas y suelos (Galindo *et al.* 2005).

La escasa población local (6.500 habitantes) se concentra en poblados urbanos, mayoritariamente integrados por criollos (habitantes nativos descendientes de los antiguos colonizadores españoles), donde se ubican el gobierno municipal, el comercio y las facilidades sanitarias, o bien en grupos dispersos de familias compuestos por integrantes de diferentes etnias originales, mayoritariamente Wichí, asentados en torno a escuelas o puestos sanitarios, formando pequeñas comunidades de autosubsistencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Elección de sitios de muestreo

Los sitios de muestreo fueron seleccionados en base a relevamientos previos concernientes al contenido de As en aguas subterráneas, densidad poblacional, presencia de escuelas con núcleos poblacionales periféricos, accesibilidad y disponibilidad de soporte sanitario local.

Se estudiaron 16 pozos del Departamento Rivadavia Banda Sur (provincia de Salta, Argentina) con ubicación georreferenciada, en un área que comprende 8900 km². Los datos de ubicación y tipo de muestra se detallan en la Tabla 3. Las campañas de muestreo se llevaron a cabo en la estación seca, de Abril a Noviembre de 2006, cuando los sitios de muestreo resultan más accesibles. Lamentablemente la información referente a la profundidad y tipo de pozo no siempre está disponible.

2. Tratamiento de las muestras y mediciones de campo

Los procedimientos (basados en *APHA-AWA-WPCF*) seguidos para la toma de muestras de agua y su preservación fueron los recomendados para componentes mayoritarios y traza (Clesceri, 1992). Las muestras de orina fueron donadas en forma voluntaria por empleados municipales y personal docente (de maestranza y alumnado de las escuelas visitadas). Por cuestiones culturales los integrantes de las comunidades indígenas son reticentes a la extracción de muestras biológicas. Todas las muestras (agua, alimento y orina) se mantuvieron refrigeradas desde el momento de la toma de muestra hasta su arribo al laboratorio. Las muestras de orina se conservaron sin agregado de preservantes a -20 °C, lo mismo que las de alimentos (Feldmann 1999). Las mediciones de pH, temperatura, conductividad, sólidos disueltos totales, turbidez y oxígeno disuelto se realizaron simultáneamente con la toma de muestra de agua, utilizando equipos portátiles previamente calibrados.

3. Procedimientos y técnicas de análisis

3.1. Agua, alimentos y orina

Los componentes mayoritarios en aguas se determinaron siguiendo métodos de la *APHA*, *AWA*, *WPCF* normalizados o variaciones probadas (Clesceri, 1992): Cloruro y alcalinidad total se determinaron por volumetría (4500-Cl- B.), sulfato por turbidimetría (4500-SO₄²⁻ E.); y Ca, Mg, Na y K por espectrometría de absorción atómica en llama (F-AAS; 3111 B.). Los metales traza se analizaron por F-AAS o atomización electrotérmica en horno de grafito (GF-AAS; 3113 B.) y As, Sb y Se por absorción atómica previa generación de sus hidruros (HG-AAS; 3114 C.). Si, fosfato, nitrato y fluoruro se determinaron por espectrometría de absorción molecular UV-Visible (4500-Si D.; 4500-P C.; 4500-NO₃⁻ B. y 4500-F D. modificado).

Las muestras de alimentos consistieron en productos naturales o alimentos compuestos constituidos por distintos ingredientes según una receta de preparación, generalmente cocidos. Una masa apropiada de muestra se disgregó por calcinación seca con MgO/Mg(NO₃)₂, empleando

Muestra	Nombre	Categoría	Tipo	Latitud S.	Longitud O.	Altura (m snm)	Profundidad (m)
P1	Rivadavia	Municipalidad	pozo	24° 11' 5,4"	62° 53' 14,0"	205	240
P2	La Fortuna	Escuela	surgente	24° 16' 27,2"	62° 35' 17,7"	195	220
P3	Siervo Cansado	Escuela	pozo	24° 23' 49,7"	62° 21' 40,4"	201	<200
P4	El Algarrobal	Particular	surgente	24° 21' 4,9"	62° 22' 53,6"	203	no disponible
P5	El Mirador	Escuela	pozo	24° 20' 32,0"	62° 25' 33,5"	198	206
P6	Tres Horcones	Escuela	surgente	24° 16' 38,9"	62° 29' 27,3"	192	216
P7	El Breal	Escuela	pozo	24° 10' 1,1"	62° 51' 0,4"	209	190
P8	Santa Rosa	Escuela	pozo	24° 0,1' 39,2"	63° 0,4' 55,8"	220	200
P9	La Unión	Población	pozo	23° 57' 49,5"	63° 12' 1,9"	247	no disponible
P10	El Ocultar	Escuela	pozo	23° 50' 41,0"	63° 24' 14,1"	246	12
P11	San Felipe	Escuela	pozo	24° 7' 53"	62° 41' 54,5"	194	<20
P12	La Esperanza	Escuela	pozo	24° 8' 0,9"	62° 36' 18,1"	199	8-10
P13	San Tadeo	Puesto	pozo	24° 25' 26"	63° 02' 30"	231	10
P14	Flia. Martinez	Particular	pozo	24° 12' 43"	63° 11' 29"	231	72
P15	Pelicano Quemado	Puesto - Escuela	pozo	24° 11' 39"	63° 13' 53"	no disponible	72
P16	La Media Luna	Escuela	pozo	24° 14' 28"	62° 21' 45,6"	205	120

Tabla 3. Ubicación georreferenciada de los sitios de muestreo.

F-AAS para la determinación de Zn y HG-AAS para As y Se. Los resultados están referidos a la masa de muestra en base seca.

Las muestras de orina corresponden a micciones únicas al tiempo del muestreo, por lo que los valores informados están referidos al contenido de creatinina urinaria (CU), valor que fue determinado utilizando el *kit Wiener Lab* para análisis bioquímico. De las 33 muestras analizadas tres debieron desecharse debido a valores anormalmente bajos de creatinina que distorsionaban las concentraciones de los analitos. Para la cuantificación de AsT y SbT se procedió a la calcinación de las muestras con una mezcla de $MgO/Mg(NO_3)_2/HNO_3$, disolución con HCl diluido y determinación por HG-AAS. En el caso de SeT las muestras se disgregaron vía húmeda con HNO_3/H_2O_2 calentando a reflujo cerrado en bloque calefactor, utilizándose como técnica analítica GF-AAS con $Cu(NO_3)_2/Mg(NO_3)_2$ como modificador.

3.2. Calidad de los resultados

Para asegurar la calidad de los resultados analíticos se realizaron ensayos de fortificación para AsT y SeT. Los porcentajes de recuperación obtenidos figuran en la Tabla 4, expresados como rango.

Se vienen efectuando ensayos interlaboratorios de forma sistemática desde 1998 para el análisis de elementos traza en aguas naturales y residuales organizados por el Instituto Nacional de Tecnología Industrial, Comisión Nacional de Energía Atómica y SEGEMAR (Argentina).

Tabla 4. Porcentaje de recuperación en muestras fortificadas.

Matriz	Recuperación %	
	AsT	SeT
Agua	99 - 114	N.d.
Alimento	104 - 125	84 - 95
Orina	85 - 89	81 - 123

RESULTADOS

En la Tabla 5 se detallan los valores obtenidos para los elementos minoritarios y traza de interés, así como la caracterización de las aguas analizadas; no se incluyen los valores hallados para Zn (ya que éstos son todos inferiores a 0,10 mg Zn L⁻¹, muy por debajo del límite máximo tolerado por CAA: 5,0 mg Zn L⁻¹).

La concentración media para AsT es 0,18 mg As L⁻¹; sólo 5 muestras contienen una cantidad de As inferior a la admisible por el Código Alimentario Argentino (10 µg As L⁻¹). En el caso de SeT todas las aguas mostraron menor señal que el límite de detección de la técnica utilizada y, al igual que para SbT, los valores encontrados son inferiores a los permitidos para aguas potables. La mayoría de las aguas presentan altas concentraciones de fluoruro y sílice, y valores bajos de Fe y Mn (cercaos al límite de detección de F-AAS).

Para la asignación de riesgo toxicológico en alimentos es prácticamente mandatorio determinar el AsI; sin embargo, ese análisis requiere mayor pericia y costo, por lo que todavía es usual determinar AsT. Lamentablemente no existe un factor aceptable que pueda ser utilizado en los distintos tipos de alimento para convertir AsT en AsI; por este motivo, y a fin de permitir comparaciones con los límites tolerables expresados como AsI, se puede suponer que todo el As detectado se encuentra en la forma inorgánica (más tóxica), lo que de hecho constituye una sobreestimación (FSANZ 2003).

Tabla 5. Contenido de As y concomitantes de interés en aguas subterráneas.

Muestra	As total (mg/L)	Se (µg/L)	Sb (µg/L)	Mn (mg/L)	Fe (mg/L)	Mo (mg/L)	Fluoruro (mg/L)	Sílice (mg/L)	Caracterización geoquímica
P1	0,26	< 1	7	< 0,03	< 0,1	< 0,2	3,7	25,8	sulfatada sódica
P2	0,06	< 1	3	< 0,03	< 0,1	< 0,2	8,4	15,4	sulfatada sódica cálcica
P3	0,27	< 1	6	< 0,03	< 0,1	< 0,2	5,2	19,0	sulfatada sódica
P4	0,17	< 1	3	< 0,03	< 0,1	< 0,2	9,7	17,0	sulfatada sódica
P5	0,19	< 1	5	< 0,03	< 0,1	< 0,2	8,9	17,4	sulfatada sódica
P6	0,17	< 1	4	< 0,03	< 0,1	< 0,2	9,6	15,5	sulfatada sódica
P7	0,13	< 1	3	< 0,03	< 0,1	< 0,2	5,9	17,0	sulfatada sódica
P8	0,24	< 1	3	< 0,03	0,11	< 0,2	3,4	16,4	sulfatada sódica
P9	0,007	< 1	< 3	0,03	< 0,1	< 0,2	3,9	15,3	sulfatada sódica cálcica
P10	0,002	< 1	< 3	0,23	0,55	< 0,2	0,4	10,3	bicarbonatada cálcica
P11	0,006	< 1	< 3	0,03	< 0,10	0,21	5,7	12,8	clorada sulfatada sódica cálcica
P12	0,002	< 1	< 3	0,14	< 0,10	0,23	0,6	26,7	bicarbonatada cálcica
P13	0,67	< 1	8	< 0,03	0,65	< 0,2	2,5	28,5	clorada bicarbonatada sódica
P14	1,22	< 1	5	< 0,03	0,28	< 0,2	3,3	29,9	bicarbonatada sódica
P15	0,74	< 1	4	< 0,03	< 0,10	0,21	2,3	28,9	bicarbonatada sódica
P16	0,006	< 1	< 3	0,07	< 0,10	0,29	7,0	14,4	sulfatada sódica cálcica

Las Tablas 6 a 9 presentan una estimación de la ingesta diaria (diferenciada por edad y género) de As y sus modificadores de toxicidad en alimentos (el sitio de procedencia se explicita entre paréntesis). Los valores de contenidos porcentuales ($\mu\text{g X}/100\text{ g}$) que figuran para agua son los valores medios de las 16 aguas analizadas; si la concentración de los analitos es menor al límite de detección de la técnica (LD) el valor indicado es 1/2 LD.

Tabla 6. Ingesta diaria de AsT por edad y género en población residente del Chaco salteño.

Tipo de alimento	gramos/ porción diaria	mg As/100g media	Ingesta diaria		
			Adultos masc. µg/kg pc/día	Adultos fem. µg/kg pc/día	Menores µg/kg pc/día
Agua	2000	36,3(*)	9,7	12,1	18,2
Cebolla	50	61,3	0,41	0,51	0,77
Remolacha (1)	50	16,8	0,11	0,14	0,21
Remolacha (2)	50	98,8	0,66	0,82	1,24
Hoja de remolacha (2)	100	306	4,1	5,1	7,7
Papa (3)	200	16,1	0,43	0,54	0,81
Papa hervida (4)	200	56,8	1,5	1,9	2,8
Cabrito crudo c/grasa	200	15,8	0,42	0,53	0,79
Cabrito cocido	200	23,6	0,63	0,79	1,18
Empanada pollo	300	1,0	0,04	0,05	0,08
Empanada carne	300	37,8	1,5	1,9	2,8
Kuppe (3)	300	24,9	0,99	1,2	1,9
Kuppe (4)	300	30,8	1,2	1,5	2,3
Pan casero	200	9,3	0,25	0,31	0,47
Bollo con grasa	200	28,0	0,75	0,93	1,4

(*) El valor considerado es la media de las muestras con contenidos de As superiores a 10 µg/L.

Debido a que el As y los demás elementos incorporados al organismo por medio de alimentos se excretan, principalmente, por vía urinaria en general a los pocos días subsiguientes a la exposición, el contenido en orina es un indicador confiable de exposición reciente, y por ende, de exposición crónica (TDH/ATSD 2003).

En la Tabla 10 se indican las medianas y rangos de concentración de AsT, SeT y SbT encontrados en las 30 muestras de orina analizadas (11 niños menores a 16 años y 19 adultos) referidos a creatinina urinaria, los valores considerados normales y las entidades que los establecieron. De la población estudiada el 80 % de los individuos presentan concentraciones de AsT urinario superiores a 50 µg As g⁻¹ CU, en tanto que para SeT y SbT urinario el porcentaje con excreción superior a la normal alcanza el 97 %.

Tabla 7. Ingesta diaria de SeT por edad y género, en población residente del Chaco salteño.

Tipo de alimento	gramos/ porción diaria	$\mu\text{g Se}/100\text{g}$ media	Ingesta diaria		
			Adultos masc. $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{día}$	Adultos fem. $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{día}$	Menores $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{día}$
Agua	2000	0,05	0,013	0,017	0,025
Cebolla (P7)	50	18,3	0,12	0,15	0,23
Remolacha (P3)	50	1,0	0,007	0,0083	0,013
Remolacha (P7)	50	7,4	0,049	0,061	0,092
Hoja de remolacha (P7)	100	9,1	0,12	0,15	0,23
Papa (P3)	200	3,4	0,090	0,11	0,17
Papa hervida (P1)	200	1,0	0,027	0,033	0,050
Cabrito crudo c/grasa (P1)	200	28,9	0,77	0,96	1,4
Cabrito cocido (P1)	200	21,2	0,57	0,71	1,1
Empanada pollo (P9)	300	7,4	0,29	0,37	0,55
Empanada carne (P6)	300	16,5	0,66	0,82	1,2
Kippe (P9)	300	42,6	1,7	2,1	3,2
Kippe (P8)	300	10,3	0,41	0,52	0,77
Pan casero (P1)	200	2,3	0,062	0,077	0,12
Bollo con grasa (P3)	200	12,3	0,33	0,41	0,61

5. DISCUSIÓN

Teniendo en cuenta la caracterización geoquímica de las aguas analizadas (Tabla 5) se observan altas concentraciones de As en aguas alcalinas bicarbonatadas sódicas o cloruradas sulfatadas sódicas y contenidos menores a $0,06 \mu\text{g L}^{-1}$ en el caso de aguas sulfatadas o bicarbonatadas cálcicas. Las bajas concentraciones de Fe y Mn en solución se corresponden con los valores de pHs altamente alcalinos encontrados (pHs $>8,0$; Farfán Torres 2006). El SiO_2 está presente con tenores cercanos al límite superior indicado como normal ($30 \text{ mg SiO}_2 \text{ L}^{-1}$) por lo que se debería considerar su presencia en el caso de implementar técnicas de remoción por coagulación o intercambio iónico.

Las concentraciones de Se y Sb son inferiores a las toleradas en aguas potables a nivel local. F y Mo suelen acompañar al As; el Mo está en muy baja concentración, no así el F, que aparece en cantidades comparables a las informadas anteriormente para otras localidades de la llanura chacosalteña (Rodríguez Rey 1992).

Tabla 8. Ingesta diaria de SbT por edad y género, en población residente del Chaco salteño.

Tipo de alimento	gramos/ porción diaria	µg Se/100g media	Ingesta diaria		
			Adultos masc. µg/kg pc/día	Adultos fem. µg/kg pc/día	Menores µg/kg pc/día
Agua	2000	0,4	0,11	0,13	0,20
Cebolla (P7)	50	1,0	0,0067	0,0083	0,013
Remolacha (P3)	100	1,0	0,013	0,017	0,025
Remolacha (P7)	50	9,0	0,060	0,075	0,11
Hoja de remolacha (P7)	100	13,3	0,18	0,22	0,33
Papa (P3)	200	2,4	0,065	0,082	0,12
Papa hervida (P1)	200	3,0	0,079	0,10	0,15
Cabrito crudo c/grasa (P1)	200	1,0	0,027	0,033	0,050
Cabrito cocido (P1)	200	1,0	0,027	0,033	0,050
Empanada pollo (P9)	300	1,0	0,040	0,050	0,075
Empanada carne (P6)	300	1,7	0,068	0,085	0,13
Kippe (P9)	300	2,9	0,12	0,14	0,22
Kippe (P8)	300	1,0	0,040	0,050	0,075
Pan casero (P1)	200	1,0	0,027	0,033	0,050
Bollo con grasa (P3)	200	4,9	0,13	0,16	0,25

Tabla 9. Ingesta diaria de ZnT por edad y género en población residente del Chaco salteño.

Tipo de alimento	gramos/ porción diaria	µg Zn/100g media	Ingesta diaria		
			Adultos masc. µg/kg pc/día	Adultos fem. µg/kg pc/día	Menores µg/kg pc/día
Agua	2000	0,5	133	167	250
Cebolla (P7)	50	3,7	25	31	47
Remolacha (P3)	100	2,9	38	48	71
Remolacha (P7)	50	4,8	32	40	60
Hoja de remolacha (P7)	100	5,3	71	88	132
Papa (P3)	200	1,4	36	45	68
Papa hervida (P1)	200	1,4	38	47	71
Cabrito crudo c/grasa (P1)	200	7,4	196	245	368
Cabrito cocido (P1)	200	5,4	145	181	271
Empanada pollo (P9)	300	1,5	59	74	112
Empanada carne (P6)	300	2,6	105	132	198
Kippe (P9)	300	4,8	192	241	361
Kippe (P8)	300	7,8	313	391	586
Pan casero (P1)	200	1,4	37	46	68
Bollo con grasa (P3)	200	3,7	97	122	183

Tabla 10. Tabla comparativa de medianas (y rangos) de contenidos urinarios hallados y valores normales, en población residente del Chaco salteño.

Grupo	Analito Mediana (rango) [µg/g CU]		
	AsT	SeT	SbT
Adultos masculinos	77 (17 - 948)	144 (36 - 345)	28 (0,1 - 77)
Adultos femeninos	219 (44 - 2392)	182 (20 - 556)	36 (4,0 - 80)
Niños (< 16 años)	279 (76 - 1179)	214 (48 - 667)	31 (4,0 - 120)
Valor normal [µg/g CU]	50	25	1
Bibliografía	(Amster 2007)	(Lauwerys 2001)	(Lauwerys 2001)

Considerando los valores de ingestas diarias (Tabla 6) de AsT el agua de bebida es la fuente principal de ingreso de As al organismo y, junto con la hoja de remolacha, superan el límite tolerable (Tabla 1); la papa hervida tiene un valor próximo al LT y el pan podría aportar mayor cantidad de As a la ingesta, pues el tamaño de la porción puede estar subestimado. Los valores de AsT obtenidos para alimentos son comparables con los obtenidos en carne de camélidos (Ponce 2006) y alimentos compuestos de la Puna (Vahter 1995).

En el caso del SeT (Tabla 6) se observa una deficiencia en la ingesta diaria: sólo algunas carnes rojas y alimentos compuestos que las contienen alcanzan la IDA (Tabla 2). En todos los casos el contenido de SbT está por debajo del LT establecido por la USEPA. La magnitud del efecto sobre la toxicidad del As sería difícil de evaluar, pues para todos los individuos su ingesta diaria está comprendida en los rangos de exposición normal informados en 19th ATDS (ANZFA Table A1, 2000). Según la Tabla 9 de los alimentos analizados sólo las carnes rojas y sus alimentos compuestos cubren la IDA para Zn; los alimentos vegetales y panes analizados son deficitarios en este elemento. Los altos contenidos de Se y Zn en los *kippe* (y las diferencias entre ellos) pueden deberse al trigo burgol utilizado en cada preparación.

Los valores de AsT urinario son comparables a los obtenidos en publicaciones previas en habitantes de la Puna y Chaco salteño (Concha 1998). Hasta el momento no se ha encontrado bibliografía referente a determinación de Se y Sb urinario en muestras procedentes de la zona expuesta a HACRE que nos ocupa. La Fig. 1 ilustra las distribuciones de frecuencias absolutas de datos para AsT, SeT y SbT urinario para toda la población estudiada (N = 30). En cada caso el número de clases se obtuvo utilizando la fórmula de Sturges, determinándose la amplitud de las clases como la relación entre el rango de los datos totales y el número de clases. Sin embargo,

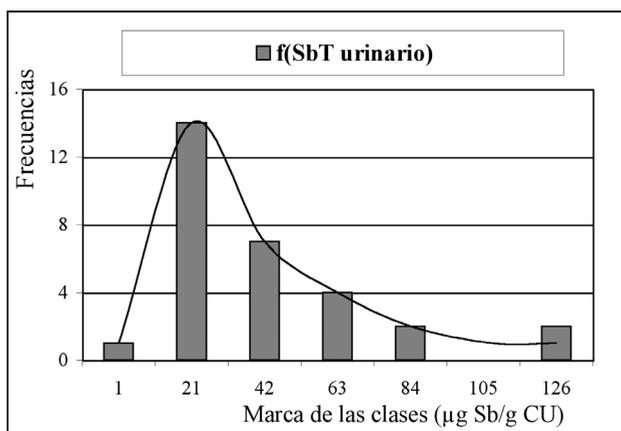
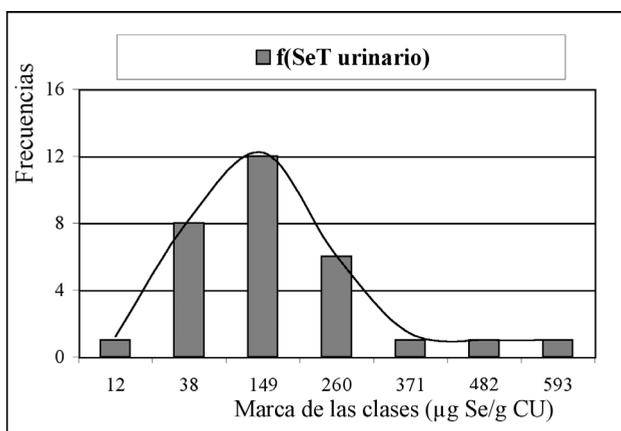
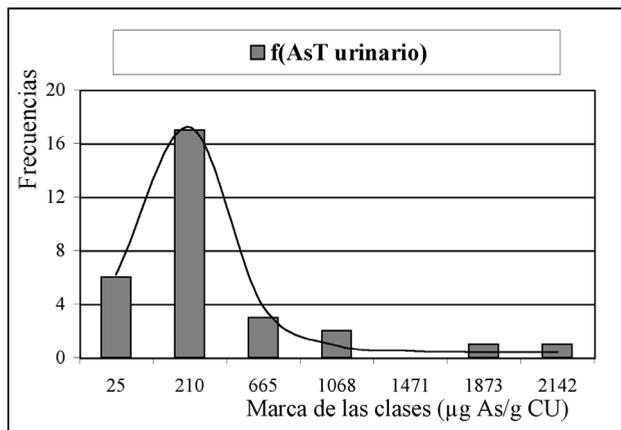


Figura 1. Distribución de frecuencias absolutas de contenidos de AsT, SeT y SbT en orina, referidos a creatinina urinaria (N = 30).

y con el fin de señalar la población con contenidos normales de los analitos en orina, en todos los casos se tomó el valor normal del analito como límite superior de la primera clase, y a partir de este valor se delimitaron las clases superiores sumando sucesivamente la amplitud de las clases (Tabla 10). Las gráficas de frecuencias muestran distribuciones asimétricas, comparables a la distribución lognormal obtenida en estudios de asignación de valores poblacionales para AsT urinario (TDH/ASTR 2003). En nuestro caso, la frecuencia máxima se encuentra desplazada hacia contenidos mucho mayores (262 vs 10 $\mu\text{g AsT/g}^{-1}$ CU en TDH/ASTR).

6. CONCLUSIONES

El alto grado de exposición a hidroarsenicismo y la baja ingesta de oligoelementos (Se y Zn) generan grupos de riesgo sanitario en la población bajo estudio. La excreción vía urinaria de cantidades de AsT muy superiores a los valores normales confirma la exposición; para una mejor asignación de riesgo correspondería determinar al menos la relación AsI/AsT. Los valores elevados de SeT y SbT encontrados en orina no pueden atribuirse a la alimentación, por lo que se debería investigar algún otro tipo de fuente. En el caso del Se, por ejemplo, existen factores ambientales (aportes provenientes de arcillas aluvionales) o culturales, como el hábito del mascado de hoja de coca, con valores informados de 0,63 $\mu\text{g Se g}^{-1}$, que podrían explicar los niveles excretados.

Por la característica de la población afectada debería incentivarse la aplicación de métodos de remediación de bajo costo y mantenimiento que requieran un mínimo de capacitación y sean adaptables a los asentamientos dispersos de grupos de familias.

Además, y en forma simultánea, es deseable la implementación de técnicas de potabilización de agua a escala urbana que aseguren rendimientos de agua potable suficientes para cubrir la ingesta diaria.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amster E., Tiwary A. y Schenker M.B. 2007. Case Report: Potential Arsenic Toxicosis to Herbal Kelp Supplement. *Env. Health Perspectives*, 115: 606-608.
- ANZFA (Australia New Zealand Food Authority) 2000. *The 19th Australian Total Diet Survey*. Consulta en: <www.anzfa.gov.au>.
- ATSDR (Agency of Toxic Substances and Disease Registry Toxicological Profiles). 1999. US Department for Health and Human Service. CRC Press, Boca Ratón (USA).
- Canadian Soil Quality Guidelines 2007. Selenium: Environmental and Human Health Effects. Consulta: <<http://cerqg-rcqe.ccme.ca/download/en/279>>.

- Chiou H.Y., Hsueh Y.M., Hsieh L.I. *et al.* 1997. Arsenic methylation capacity, body retention, and null genotypes of glutathione S-transferase M1 y T1 among current arsenic-exposed residents in Taiwan. *Mutat. Res.*, 386: 197-207.
- CAA (Código Alimentario Argentino) 2007. Resolución Conjunta 68/2007 y 196/2007. Consulta: <www.anmat.gov.ar/codigoa/capituloXII_agua_2007-05.pdf>.
- Clesceri L. 1992. *Métodos Normalizados para el análisis de aguas potables y residuales*. Díaz de Santos, Madrid.
- Concha Quesada G., Nermell B. y Vahter M. 1998. Metabolismo of Arsenic in Children with Chronic High Arsenic Exposure in Northern Argentina. *Environmental Health Perspectives*, 106: 355-359.
- Concha Quesada G. 2001. Metabolism of Inorganic Arsenic and Biomarkers of Exposure. En: Doctoral Thesis. Institute of Environmental Medicine, Karolinska Institutet, Estocolmo.
- Engel R.R., Hopenhayn-Rich, *et al.* 1994. Vascular effects of chronic arsenic exposure: a review. *Epidemiol. Rev.*, 16: 184-209.
- Farfán Torres E.M., Naranjo P.M., Boemo A., Lomniczi I.M y Lorenzo L.E. 2006. Distribución de arsénico en aguas subterráneas del Chaco Salteño, Argentina. En: M.I. Litter (edt.). *Taller de distribución del As en Iberoamérica*. Universidad General San Martín, Buenos Aires. Pp.: 57-58.
- Feldmann J., Lai V.W.M., Cullen W.R. *et al.* 1999. Sample preparation and storage can change arsenic speciation in human urine. *Clinical Chemistry*, 45: 1988-1997.
- Ferpozzi L.H. 2006. Fuentes geogénicas de contaminación con arsénico de aguas naturales en Argentina: aspectos geoambientales e hidrogeoquímicos. En: M.I. Litter (edt.). *Taller de distribución del As en Iberoamérica*. Universidad General San Martín, Buenos Aires. Pp.: 41-42.
- FSANZ (Food Standard Australia New Zealand) 2002. *The 19th Australian Total Diet Survey*. Consulta: <www.foodstandards.gov.au/srcfiles/final_20th_total_diet_survey.pdf>.
- Food Standards Australia New Zealand. 2003. *The 20th Australian Total Diet Survey*. Consulta: <www.foodstandards.gov.au/svcfiles/final_20th_total_diet_suvercy_pdf>.
- Galindo G., Fenández-Turiel J.L., Parada M.A. y Gimeno D. (eds). 2005. Estado actual del conocimiento sobre el arsénico en el agua de Argentina y Chile: origen, movilidad y tratamiento. Consulta: <<http://hdl.handle.net/10261/4019>>.
- Gebel T. 2000. Confounding variables in the environmental toxicology of arsenic. *Toxicology*, 144:155-162.
- Lauwerys R.R. y Hoet P. 2001. Exposure to inorganic and organometallic substances. En: *Industrial Chemical Exposure: Guidelines for Biological Monitoring*, 3rd edn.; CRC Press, Boca Ratón. Pp.: 33, 169.
- National Academy of Sciences. 1989. Recommended dietary allowances. En: National Academy Press, 10th ed. Washington D.C.
- NRC-US (National Research Council) 1999. Cancer Effects of Arsenic. En: *Arsenic in Drinking Water*. National Academies Press, Washington. Pp.: 83-149.

- Nicolli H.B., Suriano J.M., Gómez Peral M.A., Ferpozzi L.H. y Balean O.A. 1989. Groundwater Contamination with arsenic and other trace metals in an area of the Pampa, Province of Córdoba, Argentina. *Environ. Geol. Water Sci.*, 14: 3-16.
- Ponce R., Fariás S., Bovi Mitre G., Vélez D. y Montoro R. 2006. Determinación de arsénico total e inorgánico en carne y vísceras de camélidos (*Lama glama*) autóctonos de la provincia de Jujuy, Argentina. *Rev. Fac. de Agronomía de la UBA*, Buenos Aires: 26: 105-109.
- Rodríguez Rey de Sastre M.S., Varillas, A.E., Kirschbaum, P., Boemo, A. *et al.* 1992. Chronic Endemic Regional Hydroarsenicism. En: International Seminar Proceedings, *Arsenic in the Environment and its Incidence on Health*. Universidad de Santiago de Chile, Santiago. Pp.: 123-130.
- Rodríguez Rey M.S., Varillas A.E., Boemo A. y Figueroa M.E. 1999. Informe Final CIUNSa N° 483 Determinación de elementos concomitantes del arsénico en zonas de riesgo de HACRE. Universidad Nacional de Salta, Salta (Argentina).
- TDH/ATSDR (Texas Department of Health/ Agency for Toxic Substances and Disease Registry)* 2003. Laboratory Corporation of America® Holdings and Lexi-Comp. Consulta: <www.atsdr.cdc.gov>.
- US Environmental Protection Agency*. 1988. Special Report on ingested inorganic arsenic, skin cancer and nutritional essentiality, *Risk Assessment Forum*. Consulta: <www.epa.gov/ivis/subst/0278.htm>.
- Vahter M. y Concha G. 2001. Role of Metabolism in Arsenic Toxicity. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 89: 1-5.
- Vahter M., Concha G., Nermell B. *et al.* 1995. A unique metabolism of inorganic arsenic in native Andean women. *Eur. J. Pharmacol.*, 293: 455-462.
- World Health Organization*: 1993. *Guidelines for drinking water quality*. 2nd Edn. *WHO*, Ginebra. Pp.: 306-308.

FITOEEXTRACCIÓN DE CINC POR *Ricinus communis*

E. Fass¹, D. Wassner², M. J. Barros¹, A. F. de Iorio¹ y A. Rendina¹

¹Cátedra de Química Analítica. Depto de Recursos Naturales y Ambiente. ²Cátedra de Cultivos Industriales. Dpto. de Producción Vegetal. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires (Argentina). E-mail: <arendina@agro.uba.ar>, <efass@agro.uba.ar>

Resumen: Los suelos y sedimentos de ríos en áreas urbanas, contienen frecuentemente altas concentraciones de metales pesados. Entre las numerosas técnicas de remediación de suelos los métodos de estabilización química y de fitorremediación son considerados de menor costo y ambientalmente más favorables que la remoción superficial de los suelos o la extracción de los metales con agentes químicos agresivos. En este trabajo se evaluó el efecto del agregado de EDTA, ácido cítrico y materia orgánica soluble lixiviada de *compost* sobre la capacidad de fitoextracción de Zn por ricino (*Ricinus communis* L.) y las formas de Zn en un suelo derivado de sedimentos dragados del río Reconquista (Provincia de Buenos Aires, Argentina). El agregado de EDTA y ácido cítrico no afectó la producción de biomasa de la planta. La concentración de Zn en hojas aumentó el 482 % con agregado de EDTA, con respecto al agregado de ácido cítrico y materia orgánica soluble. El agregado de EDTA movilizó Zn del suelo, incrementando su concentración en forma soluble e intercambiable y favoreció el transporte del metal desde la raíz a tallos y hojas. La alta eficiencia de fitoextracción del ricino y su adaptación a crecer en ambientes altamente contaminados posibilitaría su cultivo para la fitoextracción de Zn asistida con EDTA en suelos contaminados.

Palabras clave: *Ricinus communis*, zinc, ligandos orgánicos, fitoextracción

Phytoextraction of Zinc by «*Ricinus communis*»

Abstract: In urban areas, soils and river sediments frequently contain high concentrations of heavy metals. Among the many technologies for soil remediation, chemical stabilization and phytoremediation can be alternatives of lower cost and more friendly to the environment, to the superficial removal of soils or to extraction using strong chemical agents. The aim of this study was the evaluation of the effect of the addition of EDTA, citric aci, and soluble organic matter lixiviated from *compost*, on Zn phytoextraction capacity by castor plant (*Ricinus communis* L.), and the forms of Zn in a polluted soil derived from dredged sediments of the Reconquista river (Buenos Aires province, Argentina). The EDTA and citric acid addition did not affect the biomass production. The addition of EDTA led to a 482 % increment of Zn in

leaves as compared to citric acid and soluble organic matter. The EDTA addition mobilized Zn from soil, increasing the soluble and exchangeable forms, and aided metal transport from roots to shoot and leaves. The high phytoextraction efficiency of castor plant and its adaptation to growth in highly contaminated environments would make possible its use for Zn phytoextraction assisted by EDTA.

Key words: Ricinus communis, zinc, organic ligands, phytoextraction.

INTRODUCCIÓN

La fitoextracción es una biotecnología que elimina contaminantes del suelo al ser absorbidos y trasladados a las partes cosechables de las plantas (Chaney, 1983). Esta tecnología empleada para la reutilización de suelos y sedimentos contaminados tiene menor costo de implementación comparada con la remoción de porciones de suelo o la lixiviación química de los contaminantes (Salt *et al.*, 1995; Raskin *et al.*, 1997). Debido a que el proceso de descontaminación suele ser lento, existen dos estrategias para acortar los tiempos de la fitorremediación. La primera es la utilización de especies vegetales que son hiperacumuladoras, capaces de acumular más de 100 mg kg⁻¹ de Cd, 1.000 mg Cd kg⁻¹ de Co, Cu, Pb o Ni, o más de 10.000 mg kg⁻¹ de Mn o Zn (Meers *et al.*, 2005). Sin embargo, en general, estas plantas poseen muy poca producción de biomasa (Li *et al.*, 2003). La segunda estrategia consiste en utilizar plantas productoras de gran biomasa y aumentar la eficiencia de remoción del contaminante mediante el agregado de enmiendas al suelo para incrementar la disponibilidad de los metales y así facilitar la fitoextracción.

Aunque la habilidad de las plantas para absorber metales contaminantes depende de cada especie vegetal la movilidad del metal del suelo hacia las raíces constituye la etapa limitante para su absorción (Chaney, 1988) principalmente en suelos neutros y alcalinos (Salt *et al.*, 1995; Kayser *et al.*, 2000). Varios agentes quelantes orgánicos naturales y sintéticos (p. e., ácido cítrico, EDTA, CDTA, DTPA, EGTA, EDDHA y NTA) pueden desorber metales de la matriz del suelo por formación de complejos metálicos solubles (Blaylock *et al.*, 1997; Schmidt, 2003; Quartacci *et al.*, 2006), facilitando así los procesos de absorción y traslocación de metales por las plantas (Al Chami *et al.*, 2007). Yang *et al.* (2005) informaron que la adición de EDTA y compost modificó la fitoextracción en especies tolerantes al Cu (*E. splendens*), mientras que la adición de materia orgánica compostada no afectó la disponibilidad de cobre en los suelos y disminuyó levemente la absorción por *E. splendens*. Zhen-Guo Shen *et al.* (2002) encontraron una mayor acumulación de Pb por *Brassica rapa* L. subsp. *chinensis* (L.) con aplicación de EDTA a suelos con respecto a otros agentes quelantes. Sin embargo, el EDTA posee bajo grado de biodegradabilidad y su uso debe ser controlado para no producir contaminación del agua subterránea por lixiviación (Wu *et al.*, 2004) o fitotoxicidad (Schmidt, 2003). Quelantes biodegradables,

como el ácido cítrico, NTA y EDDS fueron propuestos como alternativas al empleo de EDTA (Römken *et al.*, 2002). Turgut *et al.* (2004) mostraron que el agregado de ácido cítrico incrementó la absorción de Ni en Indian Mustard (*Brassica juncea*); en cambio Meers *et al.* (2005), usando girasol (*H. annuus*), mostraron que la adición de ácido cítrico no incrementó la absorción de Zn, Cr, Ni ni Pb con respecto al control. Estos trabajos muestran que los efectos de la adición de citrato sobre la absorción de metales pesados varían significativamente entre las especies vegetales.

El ricino (*Ricinus communis* L.) es un arbusto que crece en zonas marginales húmedas, subhúmedas y semiáridas. El aceite que se extrae de sus semillas se utiliza para la obtención de biodiesel y numerosos productos industriales. En la provincia de Buenos Aires (Argentina) crece abundantemente en las márgenes de ríos altamente contaminados como el río Matanza-Riachuelo y el Reconquista (Falasca y Ulberich, 2008). En 2001 se han dragado y depositado sobre tierras sedimentos del fondo del río Reconquista para la profundización de su cauce, como parte de las obras del proyecto de Saneamiento Ambiental y Control de las Inundaciones de la Cuenca del Río Reconquista.

El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de la incorporación de dos complejantes orgánicos naturales (ácido cítrico y materia orgánica soluble extraída de *compost*) y uno sintético (EDTA) sobre la disponibilidad de Zn en un suelo derivado de sedimentos dragados del Río Reconquista y su acumulación en ricino.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó sobre un sustrato (0-20 cm de profundidad) derivado de sedimentos dragados del Río Reconquista (S); sus principales características se muestran en la Tabla 1. La concentración de Zn del suelo sobrepasó el límite máximo (600 mg Zn kg⁻¹) permitido para uso agrícola (Ley nacional 24051, Residuos peligrosos). El pH edáfico levemente alcalino y el elevado contenido de materia orgánica, no favorecen la solubilización del metal estudiado.

El suelo fue secado al aire y tamizado por malla plástica de 2 mm. Se colocó en macetas plásticas (10 litros), donde fueron transplantados plántines de *R. communis* de 20 días, obtenidos a partir semillas correspondientes a la variedad IA Guaraní 2002. El ensayo se llevó a cabo en invernáculo y las plantas fueron regadas periódicamente con agua destilada (para mantener la humedad al 80 % de capacidad de campo) y fertilizadas semanalmente con una solución conteniendo 3,76 g NH₄NO₃ y 1,76 g KH₂PO₄ en 4 L de agua para evitar deficiencias nutricionales. Dos semanas antes de la cosecha se adicionaron tres tipos de enmiendas: Materia orgánica disuelta (MOD; 16mmol C kg⁻¹ suelo), ácido cítrico (10 mmol kg⁻¹ suelo) y ácido *etilen diamin tetracético* (EDTA; 10 mmol kg⁻¹ suelo). Se utilizaron tres repeticiones por tratamiento y control (suelo sin agregado de enmiendas). La MOD se obtuvo

Tabla 1. Características del sustrato utilizado.

pH	7,41	C/N	9
Arcilla (%)	28,0	Ca (mg kg ⁻¹)	8577
Limo (%)	48,2	Mg (mg kg ⁻¹)	194
Arena (%)	23,8	Fe (g kg ⁻¹)	3225
CE (dS m ⁻¹)	2,20	Cd (mg kg ⁻¹)	3,75
CIC (cmolc kg ⁻¹)	11,9	Cu (mg kg ⁻¹)	197,5
MO (%)	12,9	Pb (mg kg ⁻¹)	158
COT (%)	6,45	Zn (mg kg ⁻¹)	966

CE: conductividad eléctrica, CIC: capacidad de intercambio catiónico, MO: material orgánica, COT: carbono orgánico total.

de un extracto acuoso de *compost*, preparado por agitación de 1 kg de *compost* en 10 L de agua destilada durante 2 h. La suspensión fue centrifugada y el sobrenadante se filtró a través una membrana de 0,45 µm.

La cosecha de las plantas fue total; en la biomasa se separó en raíces, tallos y hojas. El material vegetal se secó en estufa a 70 °C durante 48 h y se determinó el peso seco (PS). La materia seca (MS) de las plantas fue digerida con HNO₃ y HClO₄ (5:1 v/v; Miller, 1998).

La distribución de Zn en las principales fases del suelo para cada tratamiento se determinó mediante el procedimiento de extracción secuencial de Tessier *et al.* (1979). Se obtuvieron cinco fracciones de Zn: 1) Soluble e intercambiable; 2) nido a carbonato; 3) unido a óxidos amorfos de Fe y Mn; 4) asociada a materia orgánica; y 5) residual. Las concentraciones de Zn en todos los extractos se midieron por Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA) con llama aire-acetileno.

La acumulación de Zn en planta se determinó por el factor de bioacumulación (FBA), según:

$$FBA = [\text{Zn planta (mg/kg)}] / [\text{Zn total en el suelo (mg/kg)}]$$

La habilidad para traslocar Zn desde la raíz a la parte cosechable de la planta se evaluó mediante el factor de traslocación (FT) calculado como:

$$FT = [\text{Zn parte aérea (mg/kg)}] / [\text{Zn raíz (mg/kg)}].$$

El análisis de los datos de producción de biomasa, concentración de Zn en el suelo y planta en los distintos tratamientos fueron realizados utilizando el paquete estadístico *Statistix 8.0* y *MS Excel*. Se aplicó análisis de varianza a una vía (ANOVA) y las medias fueron comparadas mediante el *test* de Tukey ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Fraccionamiento de Zn

La distribución del Zn entre las fracciones del suelo se muestra en la Tabla 2.

La proporción de las formas de Zn en el suelo control siguió el orden: Zn residual > óxidos > carbonatos > materia orgánica > soluble+intercambiable. La principal fase no residual de retención de Zn fueron los óxidos de Fe y Mn (27,2 % del Zn total). El alto contenido de óxidos de Fe/Mn y la alta concentración de Zn en los sedimentos dragados (Rendina *et al.*, 2001) determinarían que el principal mecanismo involucrado en la retención del Zn sea la adsorción o coprecipitación con óxidos de Fe y Mn. La adición de EDTA aumentó (222 % con respecto al control) la proporción de Zn en la fracción soluble e intercambiable a expensas de la fracción carbonatos, óxidos de Fe/Mn y de materia orgánica.

Producción de biomasa

El agregado de EDTA produjo clorosis en hojas de ricino a los 5 días posteriores al agregado del quelante; sin embargo, probablemente por el corto tiempo del tratamiento (15 días), no hubo disminución significativa en el PS de hojas (Tabla 3) con respecto al control. La biomasa de las plantas tratadas con MOD fue menor ($p < 0,05$) que para el resto de los tratamientos y el control.

Acumulación de Zn en ricino

La distribución de Zn en cada parte de las plantas se muestra en la Fig. 1.

La concentración de Zn en las raíces de ricino fue similar entre los tratamientos con agregado de enmiendas (409, 351 y 339 mg Zn kg⁻¹ para EDTA, ácido cítrico y MOD respectivamente. Comparado con el control 270 mg Zn kg⁻¹) sólo el tratamiento con EDTA aumentó significativamente la concentración del metal en raíz. La concentración de Zn en hojas después del tratamiento con EDTA (873 mg Zn kg⁻¹) mostró un aumento del 482 % con respecto al agregado de ácido cítrico (168 mg Zn kg⁻¹) y MOD (194 mg Zn kg⁻¹), los cuales no difirieron del control (232 mg Zn kg⁻¹). El Zn en tallo mostró el mismo comportamiento que en hojas, pero con menor acumulación.

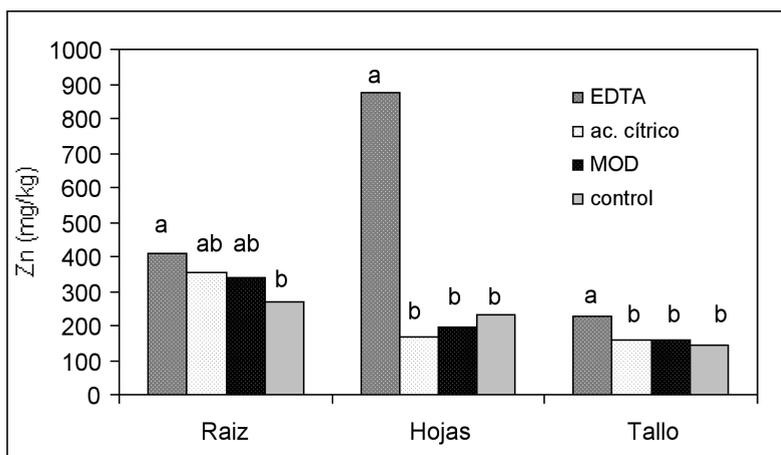
Al comparar la concentración de Zn entre raíz y biomasa aérea total (Fig. 2) el tratamiento con EDTA produjo mayor concentración del elemento en parte aérea (61 % del Zn total), mientras que en los tratamientos con ácido cítrico y MOD no difirieron del control, representando en promedio el 50 % del Zn total.

Tabla 2. Fraccionamiento de Zn en el suelo.

Fracción	Control	EDTA	Á. cítrico	MOD
	Zn (%)			
Soluble/intercambiable	4,6 ± 0,5	10,2 ± 0,8	3,3 ± 0,7	3,6 ± 0,8
Carbonatos	11,5 ± 1,2	9,8 ± 1,1	11,1 ± 0,9	11,0 ± 0,5
Óxidos Fe/Mn	27,2 ± 2,6	25,4 ± 1,4	27,1 ± 1,7	26,9 ± 3,0
Materia orgánica	7,3 ± 1,2	5,0 ± 2,2	7,4 ± 0,6	6,8 ± 0,9
Residual	51,3 ± 2,6	52,5 ± 2,1	50,9 ± 3,3	52,1 ± 2,3

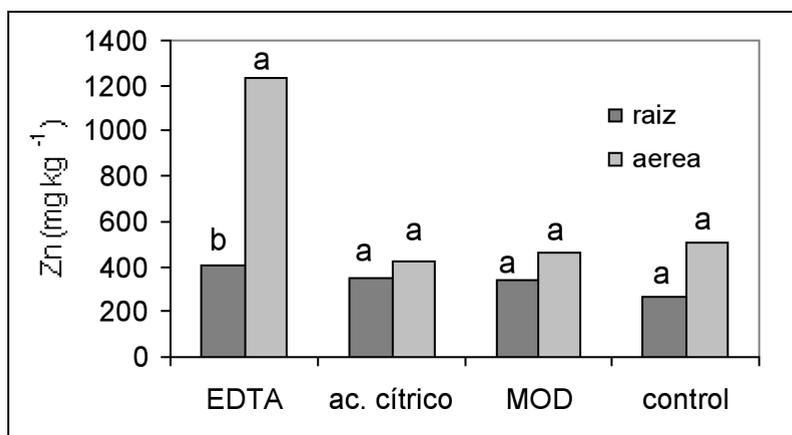
Los factores de bioacumulación (FBA) y de traslocación (FT) son parámetros importantes al evaluar la absorción de metales por las plantas. El FBA fue mayor que la unidad sólo cuando se aplicó EDTA (Tabla 4), indicando que el ricino se comportó como acumulador de Zn; en cambio en el suelo control y con agregado de ácido cítrico y MOD esta especie (en las condiciones experimentales del estudio) no sería efectiva para la fitoextracción de Zn. El FT indica la habilidad de las plantas para traslocar metales desde las raíces a la parte cosechable; el FT en el tratamiento con EDTA aumentó significativamente con respecto al control indicando que el EDTA favoreció además la transferencia del Zn desde la raíz a la parte aérea de la planta.

Figura 1. Acumulación de Zn en raíz, tallo y hojas de plantas de ricino.



Letras diferentes para cada parte de las plantas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0.05$).

Figura 2. Acumulación de Zn en parte aérea y raíz de plantas de ricino.



Letras diferentes entre parte aérea y raíz indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0.05$).

DISCUSIÓN

El EDTA desorbió Zn del suelo unido a carbonatos, óxidos amorfos de Fe y Mn y materia orgánica (Tabla 2). Kos *et al.* (2003) informaron que el agregado de EDTA a un suelo contaminado con Zn incrementó su concentración en forma soluble e intercambiable y se movilizó principalmente desde la fracción carbonatos. El ácido cítrico y MOD no tuvieron efecto sobre las formas de Zn edáfico. La disminución del Zn en la fracción materia orgánica (Tabla 2) sugiere que los complejos formados entre este metal y las sustancias húmicas son menos estables que los formados con el EDTA.

La eficacia de un quelante en la extracción de metales se relaciona con la constante de estabilidad del complejo metal-quelante (Domen *et al.*, 2008). El incremento de la concentración de Zn en forma soluble-intercambiable puede explicarse por la alta constante de estabilidad del complejo Zn-EDTA ($\log K = 16,5$) con respecto a la del complejo Zn-cítrico ($\log K = 4,5$) y probablemente a los formados con la MOD del compost. Por otro lado, la menor acumulación de Zn con agregado de MOD y ácido cítrico puede también deberse a una rápida degradación de estas enmiendas, producida por los microorganismos del suelo, lo cual disminuiría su efectividad como ligandos. Römken *et al.* (2002) mostraron que el ácido cítrico es fácilmente biodegradado en suspensiones de suelo, teniendo un tiempo de vida media de pocos días. Contrariamente, el EDTA es mucho más persistente en el suelo debido a que, no sólo es menos degradado biológicamente, sino que los complejos metal-EDTA de alta estabilidad tendrían que disociarse antes de ser utilizados por las bacterias (Satroudinov *et al.*, 2000).

Diversos autores han mostrado que la adición de MOD favorece la movilización de metales en el suelo. Antoniadis y Alloway (2002) encontraron que la adición de C orgánico disuelto (COD) incrementó la disponibilidad de metales para las plantas particularmente en suelos arenosos; sin embargo, en suelos de texturas más finas (como las de nuestro estudio; Tabla 1) la MOD agregada puede haberse fijado sobre superficies de sorción, lo cual podría impedir la formación de complejos metálicos solubles. Hay otros factores que podrían inhibir la formación de complejos solubles de Zn con la MOD; así el elevado contenido de Ca del suelo (Tabla 1) podría producir por efecto másico la saturación de los sitios de unión con iones Ca^{2+} (Walker *et al.*, 2003).

El consumo de ácidos orgánicos por microorganismos reduce su efectividad para complejar metales, resultando en una baja efectividad para la fitoextracción. Meers *et al.* (2004) informaron una rápida mineralización de ácidos orgánicos naturales a dosis bajas, mientras que, a dosis altas pueden ser tóxicos para las plantas (Turgut *et al.*, 2004). La baja producción de biomasa obtenida con agregado de MOD con respecto al control no es clara, aunque no se relacionaría con la concentración de Zn, ya que no se observaron diferencias significativas en el contenido de Zn en planta entre el tratamiento con MOD y el control.

La fitotoxicidad observada en el tratamiento con EDTA puede deberse a la elevada concentración de Zn en las hojas (Fig. 1) o por efecto del quelante en sí mismo. Vassil *et al.* (1998) atribuyeron efectos fitotóxicos al EDTA libre en hojas de mostaza de India (*Brassica juncea*); el EDTA no coordinado podría complejarse con elementos esenciales como Fe, Cu y Zn y causar la muerte celular de las hojas. Aunque el agregado de EDTA produjo necrosis en hojas, durante el tiempo que duró el tratamiento (15 días) no disminuyó significativamente la producción de biomasa aérea. Varios trabajos han informado reducción en la producción de materia seca por agregado de quelantes. Quartacci *et al.* (2006) encontraron que la adición de NTA (ácido nitrilo acético a dosis de 10 mmol kg^{-1}) redujo el 33 % del peso seco de los tallos de *B. juncea*; en cambio la adición de ácido cítrico no afectó la producción de biomasa, ni la concentración de Zn en tallos.

La Tabla 4 muestra que para el suelo sin enmiendas y con agregado de ácido cítrico y MOD los FBA son bajos (<1), lo cual es consistente con la baja concentración del Zn en las formas más disponibles del suelo (soluble e intercambiable; Tabla 2). En cambio la movilización del Zn en el suelo producida por adición de EDTA determinaría el incremento en el FBA (1,9).

La eficiencia de fitoextracción depende de la cantidad del metal acumulado en las partes cosechables de las plantas. El proceso de fitoextracción asistida por agentes quelantes descrito por Ensley *et al.* (1999) plantea una primera etapa en la cual los metales se acumulan en las raíces y una segunda en la cual, por aplicación del agente quelante, se favorece la transferencia hacia los tallos debido a un cambio en el metabolismo que regula el transporte del metal. Según Ensley *et al.* (1999) los agentes quelantes aumentan la solubilidad de los metales en el suelo y la transferencia desde la raíz al tallo.

Sin embargo los resultados de Lombi *et al.* (2001) indicaron que la adición de EDTA aumentó la movilidad de Zn en el suelo y su acumulación en raíces de maíz, pero no incrementó la transferencia del metal a tallos. Nuestros resultados mostraron que el EDTA favoreció el transporte del Zn desde las raíces a la parte aérea, significando una traslocación en el xilema y almacenaje en las vacuolas de las hojas (Yang *et al.*, 1997). El elevado FT (3,0) obtenido con EDTA es comparable a los obtenidos por do Nascimento *et al.* (2006) en la planta hiperacumuladora mostaza de India (*B. juncea*) en un suelo multi-contaminado tratado con EDTA (10 mmol kg⁻¹; FT= 2,73). En cambio, en las condiciones de este estudio el agregado de ácido cítrico y MOD no modificaron la capacidad de fitoextracción de Zn por ricino.

Tabla 3. Peso seco (g) de los distintos componentes de la biomasa para cada tratamiento.

Partes	Control	EDTA	Á. cítrico	MOD
Raíz	10,23 a	5,80 a	9,63 a	3,87 b
Tallo	7,60 a	6,33 a	9,30 a	4,03 b
Hojas	19,20 a	10,43 a	18,70 a	5,63 b

Letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$).

Tabla 4. Factores de bioacumulación (FBA) y de traslocación (FT).

Tratamiento	FBA (Zn-planta/Zn-suelo)	FT (Zn-aérea/Zn-raíz)
EDTA	1,9 a	3,0 a
Á. cítrico	0,7 b	1,2 b
MOD	0,7 b	1,4 b
Control	0,7 b	1,9 b

Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$).

CONCLUSIONES

La concentración de Zn en forma soluble e intercambiable del suelo tratado con EDTA fue mayor que para los tratados con ácido cítrico y materia orgánica soluble. En las condiciones experimentales del estudio la adición de ácido cítrico y materia orgánica soluble al suelo no modificaron la eficiencia de fitoextracción por ricino. El agregado de EDTA solubilizó Zn del suelo, aumentó su acumulación en planta y favoreció el transporte del metal desde la raíz a tallos y hojas, sin disminución de la biomasa producida. La tolerancia del ricino a crecer en ambientes contaminados, su rápido crecimiento y la elevada producción de biomasa cosechable posibilitan su uso para la fitoextracción del metal asistida por EDTA en suelos contaminados. Sin embargo, deberían llevarse a cabo estudios de lixiviación en el suelo tras de la aplicación del quelante con el fin de evitar riesgos de movilización de contaminantes hacia las aguas subterráneas.

Agradecimiento: Este trabajo ha sido financiado por los proyectos UBACyT G083 (2004-2007) y G011 (2008-2011).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Al Chami Z., Terzano R., Mondelli D., Vekemans B., Janssens K., Miano T. y Ruggiero P. 2007. Effect of compost amendment on zinc speciation in soil and edible plants (*Eruca vesicaria Cavalieri*): Evaluation with conventional and advanced techniques. *Geophysical Research Abstracts*, 9: 1607-7962.
- Antoniadis V. y B.J. Alloway. 2002. The role of dissolved organic carbon in the mobility of Cd, Ni and Zn in sewage sludge-amended soils. *Environ. Pollut.*, 117: 515-521.
- Blaylock M.J., D.E. Salt, S. Dushenkov, O. Zakharova, C. Gussman, Y. Kapulnik, B.D. Ensley y I. Raskin, I. 1997. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil applied chelating agents. *Environ. Sci. Technol.*, 31: 860-865.
- Chaney R.L. 1983. Plant uptake of inorganic waste constituents. En: Parr, J.F., P.B. Marsch y J.S. Kla (eds.), *Land Treatment of Inorganic Wastes*. Noyes Data, Park Ridge, USA. Pp.: 50-76.
- Chaney R.L. 1988. Metal speciation and interaction among elements affect trace element transfer in agricultural and environmental food-chains. En: Kramer, J.R., y Allen, H.E. (eds.), *Metal Speciation: Theory, Analysis and Application*, Lewis Publications, Boca Raton, USA. Pp.: 219-259.
- Domen L., Chun-ling Luo y Xiang-dong Li. 2008. The use of chelating agents in the remediation of metal-contaminated soils: A review. *Environ. Pollution*, 153: 3-13.
- Do Nascimento C.W.A., D. Amarasiriwardena y B. Xing. 2006. Comparison of natural organic acids and synthetic chelates at enhancing phytoextraction of metals from a multi-metal contaminated soil. *Environ. Pollution*, 140: 114-123.

- Ensley B.D., M.J. Blaylock, S. Dushenkov, N.P.B.A. Kumar y Y. Kapulnik. 1999. *Inducing hyperaccumulation of metals in plant shoots*. U.S. Patent 5917117. Date issued: 29 June, 1999. Washington D. C.
- Falasca S. y A. Ulberich. 2008. Potencial de la Argentina para la producción de Tártaro (*Ricinus communis* var. *communis*). <<http://www.biodiesel.com.ar>>
- Kayser A., K. Wenger, A. Keller, W. Attinger, H. Felix, S.K. Gupta y R. Schulin. 2000. Enhancement of phytoextraction of Zn, Cd, and Cu from calcareous soil: the use of NTA and sulfur amendments. *Environ. Sci. Technol.*, 34: 1778–1783.
- Kos B., H. Grèman and D. Leštan. 2003. Phytoextraction of lead, zinc and cadmium from soil by selected plants. *Plant Soil Environ.*, 49: 548–553.
- Ley Nacional 24051 *Residuos Peligrosos* (1991). Decreto Reglamentario 831 (1993). Boletín Oficial 03/05/1993. Buenos Aires (Argentina).
- Li Y.M., R. Chaney, E. Brewer, R. Roseberg, J.S. Angle, A.J.M. Baker, R. Reeves y J. Nelkin. 2003. Development of a technology for commercial phytoextraction of nickel: economic and technical considerations. *Plant Soil*, 249: 107–115.
- Lombi E., F.J. Zhao, S.J. Dunham y S.P. McGrath. 2001. Phytoremediation of heavy metal-contaminated soils: Natural Hyperaccumulation versus Chemically Enhanced Phytoextraction. *J. Environ. Qual.*, 30: 1919–1926.
- Meers E., M. Hopgood, E. Lesage, F.M.G. Tack y M.G. Verloo. 2004. Enhanced phytoextraction: in search for EDTA alternatives. *Intern. J. Phytoremediation*, 6: 95–109.
- Meers E., A. Ruttens, M.J. Hopgood, D. Samson y F.M.G. Tack. 2005. Comparison of EDTA and EDDS as potential soil amendments for enhanced phytoextraction of heavy metals. *Chemosphere*, 58: 1011–1022.
- Miller R.O. 1998. Nitric-perchloric acid wet digestion in an open vessel. En: Kalra Y.P (ed.) *Handbook of Reference Methods for Plant Analysis*. CRC Press, Boca Raton. Pp.: 57–61.
- Quartacci M.F., A. Argilla, A.J.M. Baker y F. Navari-Izzo. 2006. Phytoextraction of metals from a multiply contaminated soil by Indian mustard. *Chemosphere*, 63: 918–925.
- Römkens P., L. Bouwman, J. Japenga y C., Draaisma. 2002. Potentials and drawbacks of chelate-enhanced phytoremediation of soils. *Environ. Pollution*, 116: 109–121.
- Schmidt U. 2003. Enhancing phytoextraction: the effect of chemical soil manipulation on mobility, plant accumulation, and leaching of heavy metals. *J. Environ. Qual.*, 32: 1939–1954.
- Raskin I, P.B.A. Kumar, S. Dushenkov y D.E. Salt. 1997. Phytoremediation of metals: Using plants to remove pollutants from the environment. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 8: 221–226.
- Rendina A., S. Arrheguini, L. de Cabo, M. Bargiela y A. F. de Iorio. 2001. Geochemical distribution and mobility factors of Zn and Cu in sediments of the Reconquista river, Argentina. *International Journal of Environ. Pollution*, 4: 187–192.

- Salt D.E., M. Blaylock y P.B.A. Kumar. 1995. Phytoremediation: A novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Biol. Technol.*, 13: 468-474.
- Satroutdinov A.D., E.G. Dedyukhina, T.I. Chistyakova, M. Witschel, I.G. Minkevich, V.K. Eroshin y T. Egli. 2000. Degradation of metal-EDTA complexes by resting cells of the bacterial strain DSM 9103. *Environ. Sci. Technology*, 34: 1715-1720.
- Statistix 8*. Analytical Software, Tallahassee, Florida (USA).
- Tessier A., P.G.C. Campbell y M. Bisson. 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Anal. Chem.*, 51: 844-851.
- Turgut C., M.K. Pepe y T.K. Cutright. 2004. The effect of EDTA and citric acid on phytoremediation of Cd, Cr, and Ni from soil using *Helianthus annuus*. *Environ. Pollution*, 131: 147-154.
- Vassil A.D., Y. Kapulnik, I. Raskin I. y D.E. Salt. 1998. The Role of EDTA in Lead Transport and Accumulation by Indian Mustard. *Plant Physiol.*, 117: 447-453.
- Walker D., R. Clemente, A. Roig y M. P. Bernal. 2003. The Effects of Soil Amendments on Heavy Metal Bioavailability in Two Contaminated Mediterranean Soils. *Environ. Pollution*, 122: 1459-1471.
- Wu L.H., Y.M. Luo, X.R. Xing y P.Christie. 2004. EDTA enhanced phytoremediation of heavy metal contaminated soil with Indian mustard and associated potential leaching risk. *Agr. Ecosyst. Environ.*, 102: 307-318.
- Yang X. E., Peng, Hong-Yun Jiang, Li-Ying; He, Zhen-Li. 2005. Phytoextraction of copper from contaminated soil by *elsholtzia splendens* as affected by EDTA, citric acid, and compost. *Intern. J. Phytoremediation*, 7: 69-83.
- Yang X.E., V.C. Baligar, J.C. Foster y D.C. Martens. 1997. Accumulation and transport of nickel in relation with organic acids in ryegrass and maize grown with different nickel levels. *Pl. Soil*, 196: 271-276.
- Zhen-Guo Shen, Xiang-Dong Li, Chun-Chun Wang, Huai-Man Chen y Hong Chua. 2002. Lead Phytoextraction from Contaminated Soil with High-Biomass Plant Species. *J. Environ. Qual.*, 31:1893-1900.

DINÁMICA DE CINCO Y COBRE EN UN SUELO AFECTADO POR CORRALES DE ENGORDE (*feedlot*)

A. García, V. Rodríguez Salemi, I. Ciapparelli, C. Weigandt y A. F. de Iorio

Cátedra de Química Analítica de la Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. Avda. San Martín 4453. Ciudad Autónoma de Buenos Aires 1417 (Argentina).
E-mail: <agarcia@agro.uba.ar>

Resumen: La ganadería intensiva es un sistema de producción con un alto impacto sobre el ambiente. No se han evaluados aún los cambios en las propiedades de los suelos (que afectan el comportamiento y la biodisponibilidad de los metales pesados) en sistemas de ganadería intensiva. El objetivo fue estudiar la acumulación y distribución de cinc y cobre en el perfil de un suelo (clasificado como *Hapludol éntico*) afectado por corrales de engorde y su relación con la variación de pH y carbono orgánico del sistema. Las variables analizadas fueron: pH, C orgánico, Zn y Cu, determinadas por métodos normalizados. Para las cuatro variables medidas se establecieron cambios significativos con respecto al suelo testigo. El enriquecimiento de Zn en el suelo alcanzó el horizonte AC_2 y el de Cu llegó al horizonte AC_1 . Las variaciones de las concentraciones de Zn y Cu presentaron una relación lineal ajustada en más del 80 % con el pH y a más del 90 % con el C orgánico. El Cu mostró menor movilidad en el sistema, presentando menor variación en profundidad con respecto a la variación de Zn. Las concentraciones máximas encontradas en el sistema edáfico bajo los corrales se encuentran por debajo de los niveles guías que establece la legislación nacional argentina.

Palabras clave: *Feedlot*, metales, contaminación, suelo, ganadería estabulada.

Dynamic of zinc and copper in soil affected by feedlot

Abstract: *The cattle feedlot is a production system with a high impact on the environment. Possible changes in soil properties, provoked by intensive systems of beef cattle that affect the behavior and bioavailability of heavy metals, have not been yet evaluated. The aim was to study the accumulation and distribution of Zn and Cu originated by a feedlot in a soil classified as Entic Hapludult, and their relationships with the change in soil pH and organic C. The variables analyzed were: pH, organic C (SOC), Zn and Cu along the soil profile, affected by the activity of fattening. These characteristics of the soils were determined by standard methods. For the four variables measured significant changes were observed in relation to the control soil. The enrichment of Zn in the soil*

reached the horizon AC2 and Cu this of the horizon AC1. Variations in the concentrations of Zn and Cu showed a linear relationship, adjusted to more than 80 % for soil pH and with over 90 % for SOC. Cu showed less mobility in the system, introducing minor variations in depth in relation to Zn. Maximum concentrations found in the soil under feedlot are below the levels stated by the Argentinian law.

Key words: feedlot, metals, Cu, Zn, soil.

INTRODUCCIÓN

La ganadería intensiva (también llamada de engorde en corral, estabulada o *feedlot*) es un sistema de producción con alto impacto sobre el ambiente. Los efectos generados se relacionan, en primer lugar, con cambios en el uso del suelo y sus consecuencias más inmediatas a nivel de predio: Eliminación del tapiz vegetal, desprotección y, consecuente, erosión del suelo, pérdidas de biodiversidad vegetal y animal, pérdidas de hábitats. En segundo lugar, existen externalidades que se generan a escalas de paisaje o región, debidas principalmente a la emisión de metabolitos contaminantes como son cantidades excesivas de No_3 , P, K, NH_4^+ , sales y metales pesados. Estos contaminantes que se introducen a nivel predio tienen la capacidad de fluir y difundirse a través de aguas superficiales y subterráneas, generando problemas de toxicidad y eutroficación en corrientes de agua, lagos, lagunas, etc. (Viglizzo, 1997; García e Iorio, 2003, 2005). Los efluentes que resultan de esta actividad contienen elevada carga de sales, nutrientes, patógenos y otras sustancias que generan elevados valores de DBO (Demanda Bioquímica de Oxígeno) y de DQO (Demanda Química de Oxígeno; Sweeten, 1989, 2000; García et al., 2001, 2007). Por consiguiente, estos sistemas de producción son considerados por la USEPA (1999) potenciales fuentes de contaminación de cursos de agua superficiales y sub-superficiales.

Según estudios realizados por ASAE (2003) la cantidad de estiércol que un bovino de 453 kg elimina son unos 26,3 kg por día, de los cuales 3,85 kg d^{-1} serían sólidos. El estiércol de un corral de engorde se compone principalmente (expresados en base a peso seco) por N (3,1 – 4,8 %), P (0,7 – 1,4 %), K (1,7 – 3,1 %), y por trazas de metales pesados, que se incorporan al animal a través del núcleo alimenticio (ASAE, 2003; Eghball y Power, 1994). Con respecto al Zn se hallaron valores entre 0,008 y 0,018 %, y de Cu entre 0,002 y 0,005 % expresados en base al peso seco (ASAE, 2003).

Los residuos del ganado estabulado que se acumulan sobre la superficie del suelo del corral (y se compactan por efecto del pisoteo animal), pueden aportar contaminantes al sistema edáfico. Dichos contaminantes pueden ser neutralizados, complejados, precipitados, volatilizados, bioasimilados, degradados, adsorbidos y/o transportados por disolución o erosión (Calvo de Anta, 1997), según la capacidad que tenga el suelo para interactuar con ellos.

Los metales pesados presentes en el estiércol pueden representar una amenaza para la calidad del agua superficial y subsuperficial. La absorción de estos metales por el sistema digestivo de los rumiantes es del 20 % aproximadamente, formando el 80 % restante parte de los desechos excretados (NRC, 1980). El interés ambiental que presenta esta temática es debido a su potencialidad tóxica para los diversos organismos y seres humanos. Los metales se diferencian de los compuestos orgánicos en que no se eliminan completamente, acumulándose en los sistemas y pudiendo causar intoxicaciones en los animales cuando exceden su dosis letal (White, 1982).

El suelo es un sistema dinámico y, como tal, está sujeto a fluctuaciones de corto y largo plazo. A corto plazo se manifiestan cambios en el contenido de humedad, en los valores de pH, en las condiciones rédox, entre otros; a largo plazo es posible observar fluctuaciones en las propiedades físicas y químicas, en respuesta a cambios en los patrones de uso y a las condiciones ambientales. Los cambios en las propiedades edáficas que afectan el comportamiento y la biodisponibilidad de los metales pesados no han sido suficientemente evaluados aún en sistemas de ganadería intensiva. Se hace necesario entonces, incidir en el estudio de la dinámica de Zn y Cu en estos sistemas de producción, intensivas, con el fin de establecer pautas de manejo que minimicen el impacto negativo de esta actividad en el ambiente. Por tal motivo, el objetivo propuesto para este trabajo fue estudiar la acumulación y distribución de Zn y de Cu, en un suelo afectado por corrales de engorde y su relación con la variación del pH y del porcentaje de carbono orgánico edáfico (COS).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

La investigación se centró en los corrales de engorde del establecimiento agrícola ganadero “La Invernada”, localizado en el meridiano 61° 07' de longitud Oeste y el paralelo 34° 33' de latitud Sur del partido de Junín (Argentina). Pertenece a la región del Noroeste de la provincia de Buenos Aires, conocida como Pampa Interior o Arenosa y, dentro de ella, a la subunidad Pampa Plana o central (Ghersa y León *et al.*, 1999; Fig. 1).

La Pampa Interior Plana se caracteriza por un relieve ligeramente ondulado, con predominio de un paisaje rítmico de convexidades (lomas arenosas estabilizadas) y cubetas, constituidas por sedimentos sueltos de textura livianas (areno francos a franco arenosos) de origen eólico (Postplatense).

El clima dominante es templado subhúmedo, con temperatura media anual (promedio últimos 30 años) de 16,9 °C. La precipitación media anual está representada por 1012 mm a⁻¹ y la evapotranspiración potencial (establecida por el método de Penma-Monteith) es de 989 mm a⁻¹, establecidas como el valor medio anual de los últimos 30 años (Fig. 2; SMN, 2008).

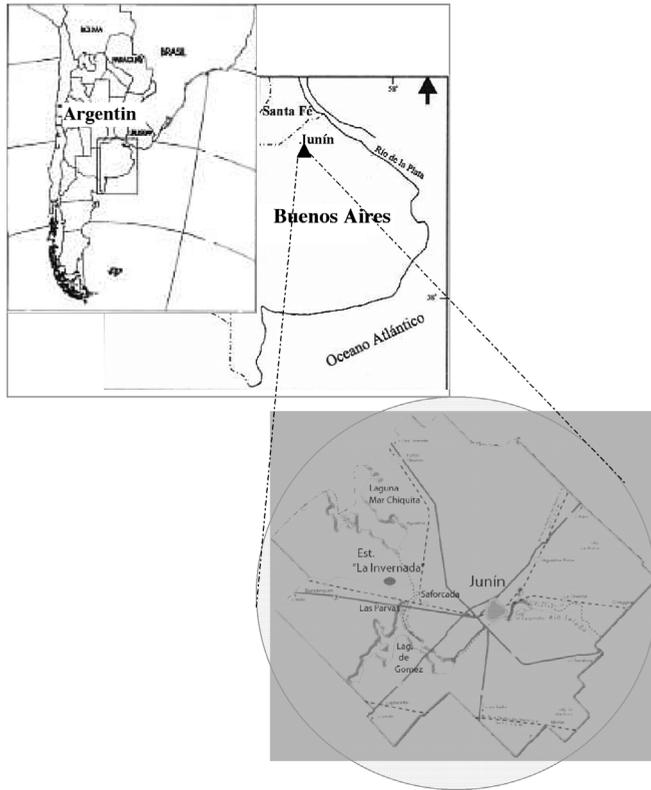


Figura 1. Localización del establecimiento de producción (área de estudio).

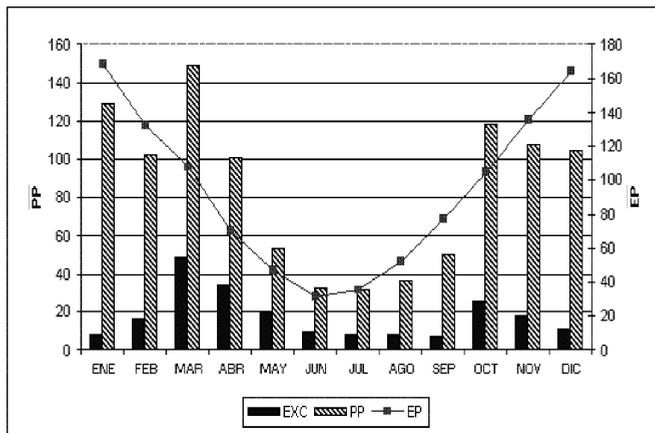


Figura 2. Precipitaciones (PP), evapotranspiración potencial (EP) y superávit (EXC); medias mensuales (periodo 1960/2007).

En cuanto al ascenso freático los datos históricos registrados por el SMN (2008) establecen que la variación del nivel freático oscila entre los -4,0 y -1,5 m de profundidad, medido desde la superficie del suelo (Fig. 3), exceptuando las grandes inundaciones, registradas en los años 1993 y 2001 (com. pers. L. Spescha, Cátedra de Climatología y Fenología Agrícolas de la FAUBA), donde la capa freática pudo haber ascendido hasta casi la superficie de los suelos en determinadas áreas de la región.

Es importante destacar que durante los años de actividad de este establecimiento los corrales ubicados en las zonas alta y media del paisaje no fueron afectados por las grandes inundaciones registradas en los últimos 15 años, y se consideró como el máximo ascenso freático la profundidad de -1,5 m, medido desde la superficie edáfica.

Los suelos de la Pampa Interior son *Molisoles*, desarrollados a partir de depósitos eólicos de materiales arenosos recientes de espesor variable, bajo regímenes de humedad normalmente údico (Moscatelli *et al.*, 1980). En sitios con relieve ondulado y espesor del manto arenoso profundo (Pampa Interior Plana) se han desarrollado suelos con las siguientes características: Textura franco arenosa, reacción ácida a neutra, bien drenados, con contenidos moderados a bajos de materia orgánica edáfica (MOS) y con baja retención de humedad (Díaz Zorita y Grosso, 2000; Taboada y Damiano, 2000). Los suelos han sido clasificados como *Hapludoles típicos*, *Hapludoles énticos* y *Haplustoles típicos* (INTA, 1980).

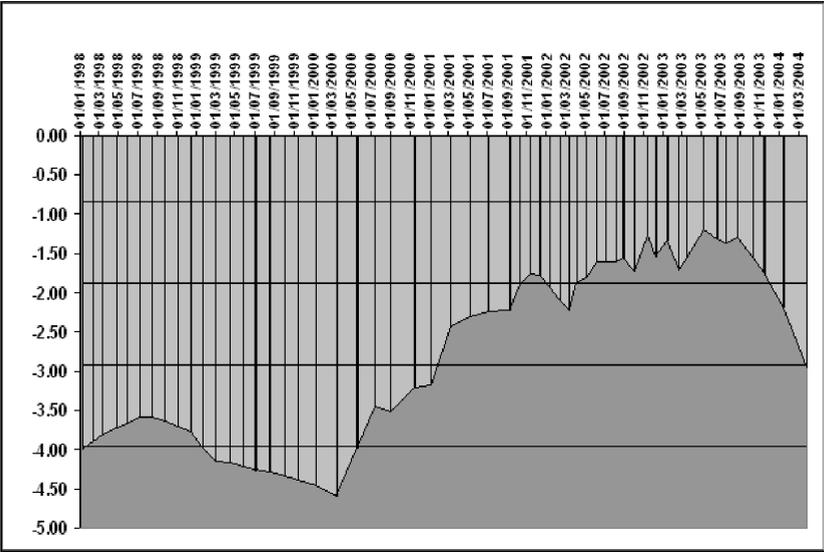


Figura 3. Evolución de la capa freática, período (1998-2004; en vertical profundidad (m) y en horizontal tiempo).

Descripción del establecimiento y del sistema de producción

El establecimiento donde se llevó a cabo la investigación lleva 15 años de producción constante e ininterrumpida. Presenta 18 corrales de engorde, la mayoría de ellos situados en las posiciones topográficas más altas, presentando una superficie que varía entre 6000 y 8000 m². El paisaje generado por los corrales se haya interrumpido por calles y caminos a través de los cuales se realiza el movimiento de animales e insumos. La carga histórica del establecimiento por corral es de 40 m² cabeza⁻¹, con una producción media anual de 6000 cabezas. El tipo de servicio que brinda este establecimiento es producción propia (cría) y servicio de hotelería para finalizar el engorde. Los animales entran con un peso promedio de 150 kg y salen con 250 kg las vaquillonas y 350 kg los novillos. El tiempo de residencia en los corrales varía entre 110 y 160 días. Los tipos de animales que se crían o engordan son en su mayoría *Aberdeen Angus* (negro y colorado) y *Criollo Argentino*.

En este establecimiento el agua de lluvia moja y escurre atravesando los corrales (según la topografía natural del sistema) hacia las zonas de mínima energía potencial (pendiente aproximada 1 %), acumulándose en alguna cubeta de deflación próxima. Asimismo no se realizaron a lo largo de los 15 años tareas de limpieza de los corrales. No hay recolección de residuos y, por consiguiente, tampoco hay un destino final para los mismos. Los residuos orgánicos se acumulan año tras año sobre el suelo de los corrales de engorde, interactuando con él. Por consiguiente, dentro de los corrales el impacto sobre el suelo subyacente estuvo dado fundamentalmente por la interacción del ganado con ese ambiente.

Diseño de muestreo

Para caracterizar el suelo representativo del área donde se hallan los corrales (es importante destacar que no está caracterizado en el mapa de suelo correspondiente a esta región) se trabajó en tres unidades experimentales seleccionadas, es decir, en lotes testigo; estableciéndose como número de muestras o réplicas, el número de lotes (3). En cada lote se realizó una calicata que permitió analizar morfológicamente el perfil y extraer muestras edáficas a partir de las cuales se efectuaron las determinaciones analíticas. Para cada horizonte se extrajo una muestra compuesta conformada por la combinación de 10 submuestras simples. Asimismo, se extrajeron muestras sin perturbar con el fin de medir densidad aparente (Da).

Siguiendo el mismo procedimiento se realizó una calicata en cada lote de corral para analizar morfológicamente el perfil en los corrales de engorde. De cada estrato u horizonte se extrajo una muestra sin perturbar donde también se midió la densidad aparente (Da).

Para el análisis de la acumulación y distribución de Zn y Cu en las tres unidades experimental de cada área de estudio (lote testigo o lote corral), y para cada profundidad, se recolectaron 10 submuestras compuestas. Las submuestras fueron recogidas (en áreas de 250 m² cada una) aleatoriamente en una grilla que abarcó casi la totalidad del corral (se dejaron de lado las áreas circundantes a los comederos y bebederos).

Las submuestras compuestas consistieron en una combinación de submuestras simples de material perturbado, realizada mediante la técnica de cuarteo. Cada submuestra simple fue extraída con un barreno hidráulico de acero inoxidable, de 2,5 cm diámetro, que luego fueron seccionadas de acuerdo a los horizontes o estratos presentes. Todas las muestras se acondicionaron en bolsas plásticas, selladas herméticamente y mantenidas a 4 °C.

En el laboratorio, después de establecer los valores de humedad gravimétrica de las distintas muestras compuestas, se secaron al aire, se tamizaron utilizando una malla de 2 mm de diámetro y, finalmente, se conservaron en bolsas plásticas para posteriores análisis.

Técnicas de análisis empleados

Para realizar la descripción morfológica del suelo en las dos áreas de estudio (lote testigo y lote corral) se caracterizó la estratificación del perfil a partir de las siguientes variables: Espesor del horizonte, clase de límites, color, determinación de textura y estructura (forma, tamaño y coherencia de los agregados), determinadas en campo.

La caracterización y clasificación del suelo nativo fueron realizadas basándose en los procedimientos recomendados por *USDA* (2006). Para ello, en las muestras perturbadas, se realizaron los análisis necesarios, aplicando los métodos químicos estandarizados.

A continuación se describen los métodos de análisis empleados en la determinación cuantitativa de las variables estudiadas en este trabajo:

– Densidad aparente

Método de cilindro de volumen conocido (Dewis y Freitas, 1970). Después de recoger las muestras con cilindros de acero se establece la relación entre la cantidad de masa seca por unidad de volumen de la muestra en su estado natural sin alterar (volumen del cilindro), obteniendo así la densidad aparente (D_a , en Mg m⁻³).

– pH edáfico en agua

Método potenciométrico (Dewis y Freitas, 1970). Se trabajó con un pHmetro; se pesaron 10 g de suelo y se añadió 25 mL de agua destilada. Se agitó 15 min y se dejó reposar 10 min. Se agitó la suspensión inmediatamente antes de entrar en contacto con electrodos (pero no durante la

medida) se introducen los electrodos en el líquido sobrenadante, evitando la formación de burbujas y se mide el pH.

– *Carbono orgánico edáfico (COS)*

Método de pérdida por ignición (LOI; TMECC 05.07-A). Después de someter a secado la muestra a peso constante (105 °C durante 24 h) la MOS se sometió a una combustión a 500-550 °C, provocando la formación de CO₂ y cenizas. El LOI se calcula entonces mediante las siguientes ecuaciones:

$$\text{LOI550} = \frac{(\text{PM105} - \text{PM550})}{\text{PM105}} \times 100$$

donde: LOI550 representa el LOI a 550 °C (como porcentaje), PM105 representa el peso seco de la muestra antes de la combustión y el PM550 el peso seco de la muestra después de la combustión a 550 °C (ambos en g).

La pérdida de peso debe ser, proporcional a la cantidad de COS presente en la muestra. El contenido de MOS (obtenido mediante el LOI) y el contenido en MOS (obtenido mediante técnicas químicas), se relacionan a partir de un factor de conversión igual a 0,4. Este factor surge de considerar a la expresión química que define la MOS como (CH₂O)_n, siendo su peso molecular de 30. El COS indica únicamente la cantidad de C, siendo su peso molecular de 12. Por lo tanto, el factor de conversión más probable entre el COS y el LOI se obtiene mediante el cociente C_n/(CH₂O)_n; este factor de conversión es 12/30 = 0,4.

– *Determinación del contenido total de Zn y Cu*

Por mineralización húmeda y espectrometría de emisión atómica. Se incorpora 1 g de suelo seco al aire en una cápsula de teflón; se realiza una pre-digestión con 5 mL de ácido nítrico y, seguidamente, una digestión ácida: (2 mL HClO₄ y 10 mL HF) y, posteriormente, el residuo se disuelve en HCl. Se trasvasa a un matraz de 50 mL y se cuantifica por espectrometría de emisión atómica con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-AES). Los valores se expresan como µg Zn g⁻¹ y µg Cu g⁻¹.

Análisis estadísticas de datos

Para establecer el efecto tratamiento (suelo impactado por la actividad *feedlot* y suelo no impactado) la estructura de los datos respondió a un diseño de efectos aleatorios, jerárquico o anidado, con los niveles del factor B anidado bajo los niveles del factor A, siendo el factor B las unidades de muestreo dentro de cada lote o unidad experimental y el factor A el lote (testigo o corral). Para su análisis se aplicó el modelo de ANOVA anidado, bajo los

supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza. Se compararon las medias de los diferentes tratamientos (testigo y corral), por cada horizonte, con la prueba de *t* de Student.

Para predecir comportamientos se realizaron relaciones funcionales entre no se pueden tratar variables; no se pueden tratar estadísticamente porque los datos de las variables medidas no son independientes, ya que pertenecen a los diferentes horizontes del perfil edáfico.

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa *GENSTAT 7.1* (Payne, 2003).

RESULTADOS

Caracterización del suelo nativo (testigo)

En las Tablas 1 y 2 se señalan los rasgos distintivos y las propiedades que identifican a al suelo nativo (testigo). Según los datos establecidos este suelo se caracterizó por tener un perfil poco diferenciado (AC); presentó un epipedón *mólico* sobre el material no consolidado (limo y arena); el horizonte *mólico* mostró tener un 2 % de MOS, con una relación C/N que indicó un importante grado de humificación para suelos templados húmedos (<17) y una elevada saturación de bases. El horizonte *mólico* pasa gradualmente, mediante un horizonte transicional (AC) al sustrato más arenoso (C), que se estableció por debajo de los -70 cm de profundidad.

Tabla 1. Descripción morfológica del perfil del suelo nativo (testigo).

Horizontes	Descripción morfológica
A	0-25 cm, pardo muy oscuro (10YR2/2) en húmedo y pardo oscuro en seco (10YR3/3), franco arenoso, bloques subangulares medios, límite claro, suave.
AC1	25-50 cm, pardo grisáceo muy oscuro (10YR3/2) en húmedo y pardo oscuro a pardo amarillento oscuro (10YR3,5/4) en seco, franco arenoso, bloques subangulares medios muy débiles, límite difuso.
AC2	50-70 cm, pardo oscuro (10YR4/3) en húmedo y pardo amarillento oscuro (10YR4/4) en seco, franco arenoso, estructura en bloques subangulares medios débiles, límite claro, suave.
C	70a +120, pardo amarillento oscuro (10YR4/4) en húmedo y pardo amarillento (10YR 5/4) en seco, areno franco, estructura en bloques subangulares medios, débiles y masivos, que rompe a grano simple, suelto.

Si bien la tendencia a adsorber cationes fue baja, el complejo de cambio se mantuvo saturado y, por consiguiente, el pH edáfico osciló entre valores cercanos a la neutralidad. Se observó un predominio de cationes divalentes, fundamentalmente C^{2+} , con ausencia de CaCO_3 . Es posible inferir que el Ca proviene de la movilización biológica de los residuos orgánicos, ya que es un suelo desprovisto de caliza y la hidrólisis de los feldespatos podría ser despreciable por ser minerales poco intemperizables (Buol *et al.*, 1986).

De acuerdo con los valores de conductividad eléctrica (CE) registrados en el perfil estudiado no se observó acumulación de sales solubles en la solución del suelo (muy inferiores a $4,0 \text{ dS m}^{-1}$). Tampoco se observaron altas concentraciones de nutrientes, respondiendo a una intensa mineralización (característica de climas templado-húmedos) y pérdidas de biodelementos favorecida permeabilidad del suelo; esta última propiedad se vio reflejada en los bajos valores de Da encontrados en todo el perfil, pues fueron semejantes al valor medio representativo para los suelos de la región, $1,2 \text{ Mg m}^{-3}$ (INTA, 1980).

Tabla 2. Datos analíticos del perfil típico del suelo nativo (testigo).

HORIZONTES	A	AC1	AC2	C
Profundidad (cm)	0 - 25	+25 - 50	+50 - 70	+70 - 120
PROPIEDADES				
Materia Orgánica, %	1,97	0,83	0,63	0,32
C. orgánico, %	1,16	0,49	0,37	0,19
N total, %	0,11	0,05	0,04	0,02
Relación C/N	10,5	9,6	9,3	9,5
P total, mg g^{-1}	387	362	320	273
Arcilla (< 2 mm), %	9,0	9,0	9,0	7,0
Limo (2 a 50 mm), %	25,5	23,0	18,5	15,5
Arena (50 a 250mm), %	65,5	68,0	72,5	77,5
Clasificación textural	Fr-Ar	Fr-Ar	Fr-Ar	Ar-Fr
CaCO_3	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>
Da, g. cm^{-3}	1,18	1,38	1,38	1,39
Humedad grav., %	9,2	11,2	11,1	10,4
pH en agua 1:2,5	6,5	6,7	7,0	7,1
CE, dS. m^{-1}	0,30	0,25	0,31	0,42
Ca^{2+} int., $\text{cmol}_q \text{ kg}^{-1}$	8,4	5,9	5,3	4,9
Mg^{2+} int., $\text{cmol}_q \text{ kg}^{-1}$	2,9	3,6	4,0	4,2
Na^+ int., $\text{cmol}_q \text{ kg}^{-1}$	0,8	0,6	1,0	1,1
K^+ int., $\text{cmol}_q \text{ kg}^{-1}$	2,4	1,7	1,7	1,7
CIC, $\text{Cmol}_q \text{ kg}^{-1}$	16,8	13,4	12,5	12,2
Bases, $\text{Cmol}_q \text{ kg}^{-1}$	14,6	11,7	12,1	11,9
Sat. de bases, %	88,9	90,1	98,0	98,4
Sat. sílica, %	5,2	4,9	8,1	9,4

x = Media para n = 3. Los desvíos estándar oscilaron entre el 5 y 16 % para las diferentes variables. *nd* = no detectado. Fr.: franco; Ar.: arenoso.

Caracterización física del suelo afectado por los corrales de engorde

A partir de las observaciones realizadas en campo fue posible establecer la descripción morfológica del suelo afectado por los corrales de engorde. La Fig. 4 constituye la representación gráfica del perfil observado, donde se observó la formación de una capa de estiércol (de color negro en húmedo; 10YR21) ubicada sobre el suelo. El espesor de la misma varió entre 18 y 22 cm y, fue resultado de la presencia ininterrumpida, durante 15 años, de ganado vacuno en corrales de engorde (incluye la adición de heces y orina), y la acción mecánica realizada por el peso y las pezuñas del animal.

Al separar la capa de estiércol quedó al descubierto una superficie lisa, muy fina, de sólo 2 mm de espesor, de color oscuro, expuesta sobre la superficie del suelo, en forma masiva. La misma constituye una lámina o interfase estiércol-suelo, debajo de la cual fue posible evidenciar el suelo nativo.

La Fig. 5 permite describir y comparar la D_a edáfica en cada área de estudio (testigo y corral). En los corrales de engorde fue posible observar para los diferentes horizontes edáficos, subyacentes a la capa orgánica, valores medios y desviaciones de la D_a semejantes; es decir, que la D_a se mantuvo prácticamente constante con la profundidad, con un valor medio de $1,39 \text{ g cm}^{-3}$.

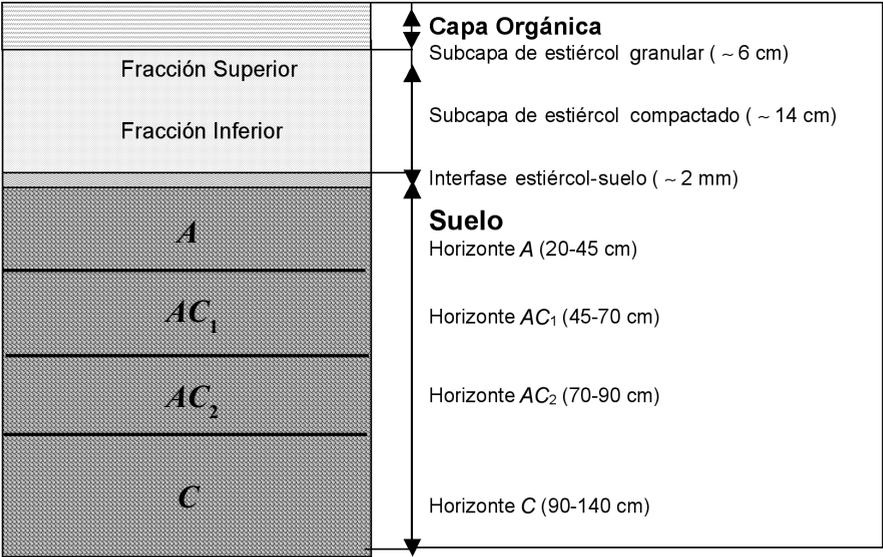


Figura 4. Diagrama de estratificación física del suelo afectado por los corrales de engorde. Las profundidades de las diferentes subcapas constituyen valores medios ($n = 3$).

En tanto que en el suelo testigo, el valor medio de la Da en el horizonte A mantuvo una diferencia significativa ($p < 0,05$) con respecto al resto del perfil, y una diferencia con respecto al horizonte A del suelo en los corrales de engorde, siendo más pronunciada en los primeros -5 cm.

En el suelo testigo la diferencia establecida entre el horizonte A y el resto del perfil (Fig. 5) estuvo relacionada con el mayor contenido de MOS registrado en el horizonte A. El COS favorece la actividad biológica y, como consecuencia, el desarrollo de la porosidad del suelo, reduciendo la Da e incrementando la estabilidad de los agregados (Osterheld y León, 1993).

En los corrales de engorde la Da del horizonte A alcanzó un valor semejante a los establecidos en los horizontes más profundos. Debajo de la capa orgánica las limitadas condiciones de aireación alterarían la actividad biológica y, por consiguiente, la formación de agregados.

Variación de pH y COS en el perfil edáfico

La Fig. 6 representa la variación del porcentaje de COS en el perfil edáfico testigo y del suelo afectado por los corrales de engorde. En términos generales se observa que el porcentaje de COS disminuyó gradualmente con el aumento de la profundidad, en ambos sistemas.

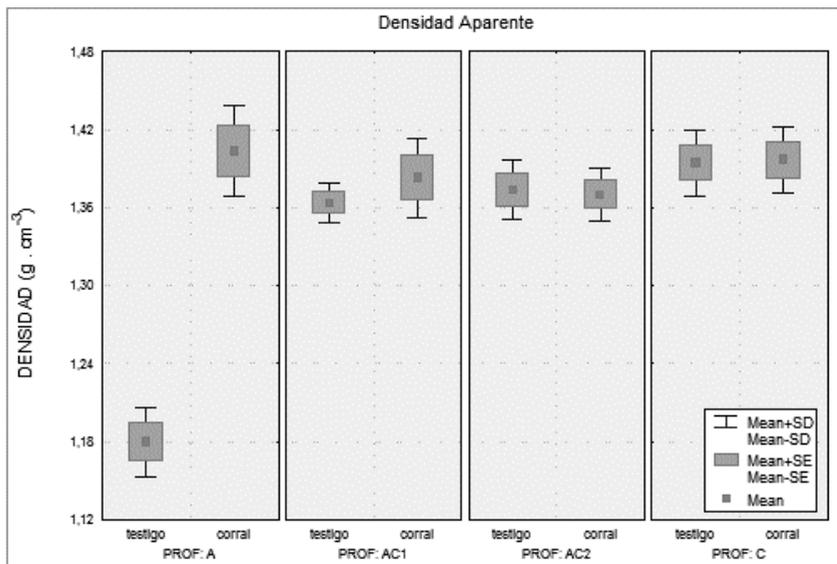


Figura 5. Diagrama de caja de densidad aparente correspondientes al suelo testigo y al suelo subyacente a la capa orgánica en corrales de engorde ($n = 3$).

Es posible diferenciar tres estratos bien definidos. En el primero de ellos se estableció el mayor porcentaje de COS y conforma la capa de residuos orgánicos dispuestos sobre la superficie del suelo nativo; el valor medio de COS de esta capa resultó ser de 4,9 %. El segundo estrato estuvo formado por los horizontes A (a los -5 y -25 cm de profundidad) y AC₁, donde los porcentajes de COS fueron respectivamente superior en 1,7, 1,8 y 1,1 veces con respecto al testigo; y el tercer estrato lo conformaron los horizontes AC₂ y C, que no difirieron significativamente ($p < 0,05$) con el testigo. Estos resultados manifestaron que la actividad intensiva de engorde en corral produjo un aumento del COS en el horizonte subyacente a la capa de estiércol compactado, que alcanzó los -70 cm de profundidad (horizontes A y AC₁).

En la Fig. 7 se observa la variación de pH en el perfil edáfico en las dos áreas de estudio (testigo y corral). En el suelo nativo se presentó un aumento en profundidad de 6,5 a 7,0 desde la superficie hasta los -50 cm y luego se mantuvo prácticamente constante hasta la profundidad analizada.

A diferencia del testigo el suelo afectado por los corrales presentó una disminución estratificada de pH en función de la profundidad. En el estrato superior el pH máximo fue de 8,6, y disminuyó linealmente hasta los 25 cm (capa orgánica y primeros -5 cm del suelo subyacente); en el siguiente el pH se mantuvo constante frente a una gran variación de profundidad hasta los -70 cm. A mayor profundidad esta variable disminuyó alcanzando un valor que no difirió significativamente ($p > 0,05$) con el testigo (pH = 7,0),

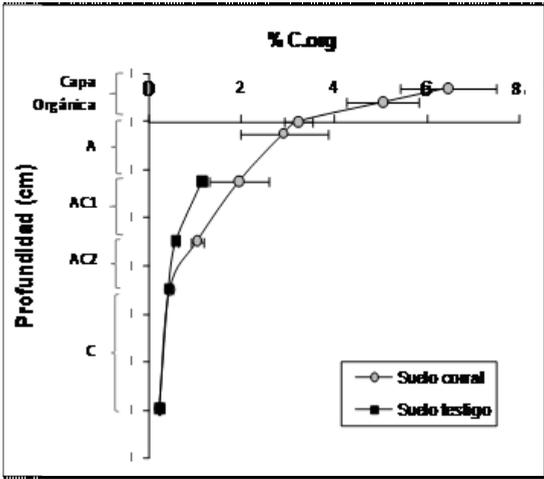


Figura 6. Valor medio de los porcentajes de COS encontrados a diferentes profundidades del suelo afectado por los corrales de engorde y del suelo testigo; se indican los desvíos estándar.

constituyendo el tercer estrato. Al igual que lo sucedido con el porcentaje de COS, la actividad de engorde intensivo en corral afectó los valores de pH hasta los -70 cm de profundidad (horizontes A y AC₁).

Acumulación y distribución de Zn y Cu en el perfil edáfico

La Fig. 8 indica la variación de Zn total a través del perfil edáfico en las dos áreas de estudio (testigo y corral). La distribución de Zn total en profundidad en el suelo afectado por los corrales presentó un comportamiento similar al observado para COS y pH, diferenciándose tres estratos. La máxima concentración se encontró en la capa orgánica superficial. El segundo estrato, que corresponde a los horizontes A, AC₁ y AC₂, presentó variaciones de la concentración de Zn con la profundidad bastantes más pronunciadas que en la capa orgánica superficial. Los datos obtenidos indicaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en la concentración de este metal con respecto al suelo testigo hasta los -90 cm de profundidad, quedando excluido el horizonte C, que constituyó el tercer estrato.

Para establecer el de Zn acumulado en el horizonte subyacente a la capa orgánica se realizó un cálculo teniendo en cuenta la masa volumétrica de suelo presente en cada horizonte (sólo se consideraron aquellos horizontes donde la concentración de Zn manifestó diferencias significativas con el testigo); posteriormente se calculó la masa real existente por m³ de suelo. Para cada estrato se tuvo en cuenta las siguientes variables: Profundidad, Da y variación de la concentración de Zn (mg Zn kg⁻¹) (mg kg⁻¹) con respecto a la concentración base dada por el suelo testigo. De acuerdo a estos valores

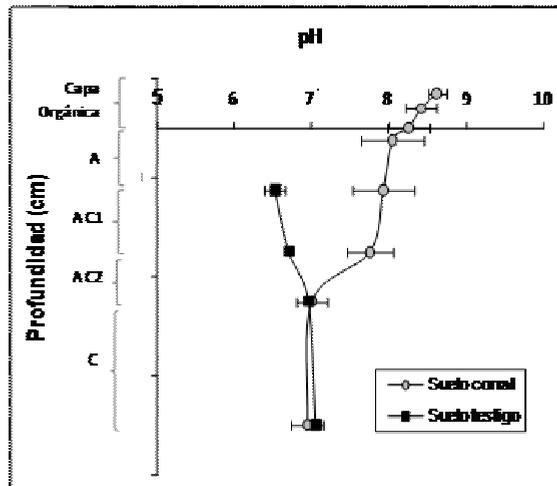


Figura 7. Valores medios de pH encontrados a diferentes profundidades del suelo afectado por los corrales y del suelo testigo; se indican los desvíos estándar.

se obtuvo una acumulación de Zn a -70 cm de suelo (subyacente a la capa orgánica) de 43,1 g Zn m⁻³ en 15 años de producción. Esta acumulación correspondió únicamente a la cantidad incorporada por la actividad ganadera sin tener en cuenta el Zn existente al inicio de las mismas (nivel base). La mayor acumulación se registró en el horizonte A, alcanzando un valor por m³ de el suelo 2,26 veces más alto que al suelo testigo, en tanto que en los horizonte AC₁ y AC₂ los valores registrados fueron 1,58 y 1,20 veces mayor que el testigo.

En la Fig. 9 se puede observar que la distribución de la concentración de Cu total en perfil edáfico bajo los corrales presentó un comportamiento similar a la distribución de Zn, aunque el transporte en profundidad fue menor.

Así, la concentración de Cu total en el suelo testigo fue aproximadamente el 79 % de la concentración en el suelo del corral en el horizonte A (0 - 25 cm). A los -90 cm, ambos suelos no difirieron significativamente (p < 0,05), alcanzando una concentración media de Cu igual a ~15 µg g⁻¹.

Al igual que para el Zn se cuantificó el Cu acumulado en el suelo subyacente a la capa orgánica, teniendo en cuenta únicamente los horizontes donde se registraron diferencias significativas con el testigo. Se obtuvo una acumulación de Cu a los -50 cm de suelo (horizontes A y AC₁) de 7,54 g Cu m⁻³ en 15 años de producción. Esta acumulación correspondió únicamente a la cantidad incorporada por la actividad, sin tener en cuenta el Cu existente al inicio de las mismas (nivel base). La mayor acumulación se registró en el horizonte A, alcanzando un valor por m³ que el de suelo 1,56 veces mayor al suelo testigo, en tanto que en el horizonte AC₁ el valor registrado fue 1,22 veces mayor que el testigo.

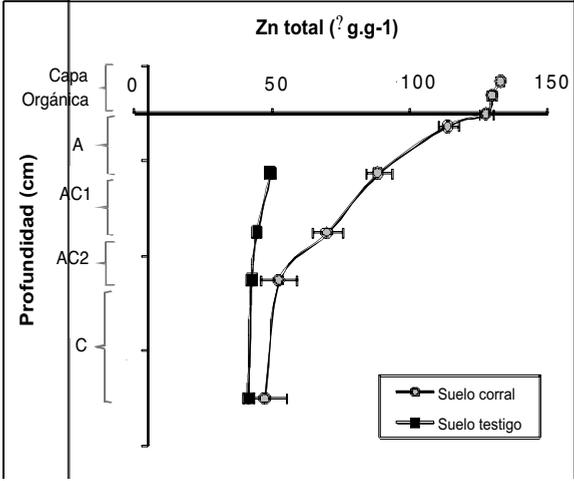


Figura 8. Valores medios de Zn total (µg Zn g⁻¹) encontrado a diferentes profundidades del suelo afectado por los corrales y del suelo testigo; se indican desvíos estándar.

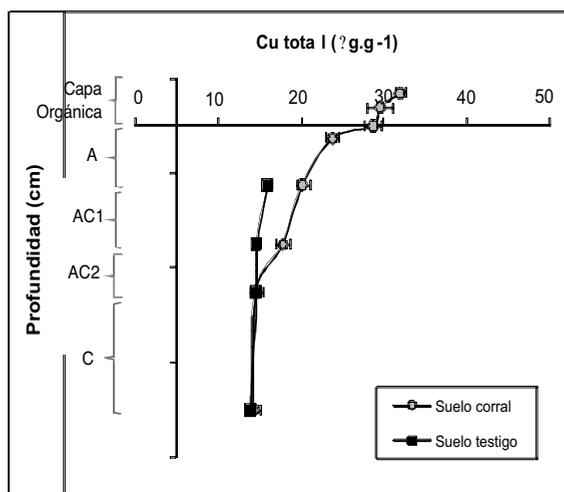


Figura 9. Valores medios de Cu total ($\mu\text{g Cu g}^{-1}$) encontrado a diferentes profundidades de los suelos afectado por los corrales y del suelo testigo; se indican los desvíos estándar.

DISCUSIÓN

Acumulación de Zn y Cu

Conociendo la acumulación de Zn y Cu en el suelo subyacente a la capa orgánica en los corrales de engorde y suponiendo que la misma fue el resultado de 15 años de actividad constante e ininterrumpida, es inferir las tasas de ingreso de estos metales al suelo subyacente a la capa orgánica. Las mismas alcanzaron valores de $20,11 \text{ kg Zn ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$ para el Zn y $2,51 \text{ kg Cu ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$ para el Cu. Estas cantidades resultan no comparables frente a los aportes de nutrientes que brinda la agricultura. Así, un rastrojo de maíz aporta una cantidad de Zn y Cu de $0,20$ y $0,08 \text{ kg ha}^{-1}$ respectivamente (Casas, 2003), debiendo tener presente que el cultivo requiere un promedio de 180 días para acumular esa cantidad de Zn y Cu en parte aérea y raíces y, que a su vez, esto depende del rendimiento en grano. Para un mismo período de tiempo estas últimas cantidades son 50 y 16 veces menores a la cantidad que ingresa al suelo a partir del estiércol acumulado sobre la superficie en los corrales de engorde. Asimismo la cantidad Zn y Cu que ingresa anualmente al suelo a partir del estiércol supera ampliamente los requerimientos de un cultivo de grano de la zona (Casas, 2003). Los resultados confirman que la cantidad que ingresó al suelo puede ser significativa en una valoración de los recursos. A nivel productivo el suelo subyacente a la capa orgánica acumuló más Zn y Cu que el suelo nativo, resultando un balance positivo.

Relación de Zn y Cu con el pH edáfico

En la Fig. 10 se establece una relación lineal entre las concentraciones de Zn y Cu con el pH en el perfil edáfico afectado por los corrales de engorde (se excluye la capa orgánica). Dicha relación puso de manifiesto que la variación de la concentración de Zn en profundidad se podría explicar en un 84 % ($r^2 = 0,84$) por las variaciones de pH a lo largo del perfil. El Cu presentó un comportamiento similar al Zn, estableciéndose una relación positiva, con $r^2 = 0,87$. Sin embargo, al comparar las pendientes (47,8 para la línea de tendencia de Zn y 7,0 para la del Cu) se puede decir que la variación de la concentración de Zn conforme a los cambios en el pH fue superior respecto a la variación de Cu.

Si bien los puntos ajustan a una función lineal, es importante destacar que para ambos metales se observan dos agrupaciones de puntos: Uno de ellos cercano al pH 7,0; y el otro por encima de pH 7,7, que corresponden al cambio abrupto de pH entre los horizontes AC_1 y AC_2 del suelo de los corrales de engorde.

La variación de las concentraciones de Zn por encima de $70 \mu\text{g Zn g}^{-1}$, podría responder a la formación de ZnOH^+ favorecida por los elevados pH registrados (7,7 a 9,1); esta forma de Zn tiende a formar complejos con la materia orgánica, justificándose la acumulación en los horizontes A y AC_1 del suelo.

Si el pH se encuentra cercano a 7,0 (lo cual se observa para los valores de concentración de Zn por debajo de los $70 \mu\text{g Zn g}^{-1}$, horizontes AC_2) la especie que predomina es Zn^{2+} , la forma más soluble (Alloway, 1995) y que

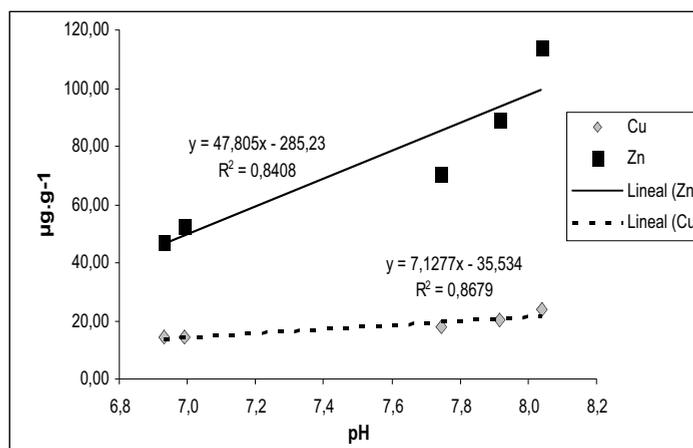


Figura 10. Correlación entre las concentraciones de Zn y Cu totales ($\mu\text{g g}^{-1}$) de los suelos bajo los corrales en función de las variaciones de pH en profundidad. No se consideran las concentraciones de ambos metales en la capa orgánica.

podría estar sorbida en la matriz del suelo. Es bien sabido que el intercambio iónico es uno de los principales mecanismos de retención de Zn. La sorción de Zn en los suelos depende principalmente del pH; a valores relativamente neutros la fracción sorbida de Zn es mucho mayor que la fracción soluble, situación que no se presenta a pH bajos ($\leq 5,0$), donde el proceso de desorción ocupa un lugar relevante (Alloway, 1995). Por consiguiente, a valores de pH cercanos a la neutralidad la forma química Zn^{2+} presente podría estar retenida por el complejo de cambio del suelo.

A diferencia del Zn la variación de la concentración de Cu en el perfil analizado estuvo poco relacionada con la variación de pH; este resultado se manifestó al analizar pendiente de la recta (Fig. 10).

Teniendo en cuenta las variaciones de pH en el perfil se estima que el $Cu(OH)_2$ es la principal forma química presente en la solución de este suelo (Alloway, 1995). Es importante destacar que para este metal las especies hidroxiladas comienzan a formarse a partir del pH = 5,0, a diferencia del Zn donde la formación de hidróxidos se establece a partir del pH = 7,0 (Iwata *et al.*, 1995).

Relación de Zn y Cu con el COS

En la Fig. 11 se expone la relación de las concentraciones de Zn y de Cu con el COS (%) en el perfil edáfico de los corrales (se excluye la capa orgánica). La Fig. 11 indica que las variaciones de las concentraciones de Zn y Cu en profundidad se explican prácticamente del mismo modo en un 99 % ($r^2 = 0,9971$ y $r^2 = 0,9888$ respectivamente) por la variación del porcentaje del COS en el perfil. Sin embargo, no se observan agrupaciones de puntos como los encontrados en la Fig. 10. Este comportamiento podría estar relacionado, por un lado, con la distribución de COS, no observándose una estratificación tan marcada en el perfil del suelo como con el pH y por otro con la mayoría de las concentraciones de los metales en estudio, que provienen casi exclusivamente del estiércol, el cual, a su vez, aporta al suelo de los corrales más del doble de COS desde el horizonte A hasta el AC_2 , llegando a incrementar dicho porcentaje en más del 300% a los -45 cm de suelo. Wallace (1998) reportó que la actividad de los metales pesados está controlada por la MOS derivada de los desechos orgánicos.

De manera semejante a las relaciones lineales de estos metales con el pH, y comparando sus pendientes, la variación de la concentración de Zn con respecto a la variación del COS fue mayor que los cambios en las concentraciones de Cu. Este comportamiento puso de manifiesto el grado de retención diferencial del COS por estos metales.

En los suelos el Cu es retenido principalmente en el componente orgánico, luego por los óxidos de Fe y Mn y, en menor medida, por las arcillas (Griffin *et al.*, 1989; Iorio, 1999; Rendina *et al.*, 2001). Estudios de sorción preferencial

(Rashid, 1985) mostraron al Cu como el metal de transición que compite más fuertemente por los sitios de unión del material húmico. La capacidad de Cu para formar complejos solubles con la MOS juega un importante rol en la movilidad de dicho metal, tanto para suelos ácidos como para alcalinos (Barna *et al.*, 2007). Asimismo, los minerales edáficos también intervienen en la retención de Cu. Como consecuencia se dice que el Cu, al ser específicamente sorbido en el suelo, es uno de los metales traza de menor movilidad (Alloway, 1995).

La variación en profundidad de la relación entre los cationes Zn/Cu, comparando el comportamiento en ambos sitios de estudio (testigo y corral), se muestra en la Fig. 12, donde es posible apreciar que la concentración de Zn respecto a Cu es 4,8 veces mayor a los -25 cm y que dicha relación disminuye linealmente en profundidad, encontrándose que a los -140 cm la concentración de Zn es 3,3 veces superior a la de Cu. Sin embargo, la relación Zn/Cu en el suelo testigo no presentó variaciones, dando un valor promedio de 3,02, inferior al valor medio (4,1) para el suelo en estudio en todo el perfil.

La disminución de la relación Zn/Cu se debe a que el movimiento de estos metales dentro del perfil del suelo depende de sus características intrínsecas y de su interacción con las distintas fracciones del suelo. Por ello el Cu, al ser un elemento traza de baja movilidad en el sistema (Alloway, 1995), no presentó grandes variaciones en profundidad como ocurrió con el Zn. El comportamiento de este último elemento podría responder a un efecto másico, dada la elevada concentración de Zn proveniente del estiércol, a una mayor solubilidad de los compuestos de Zn (Bhon *et al.*, 1993) y a una menor estabilidad de los complejos. Como consecuencia de estos procesos, se establece una mayor movilidad de este metal en el perfil.

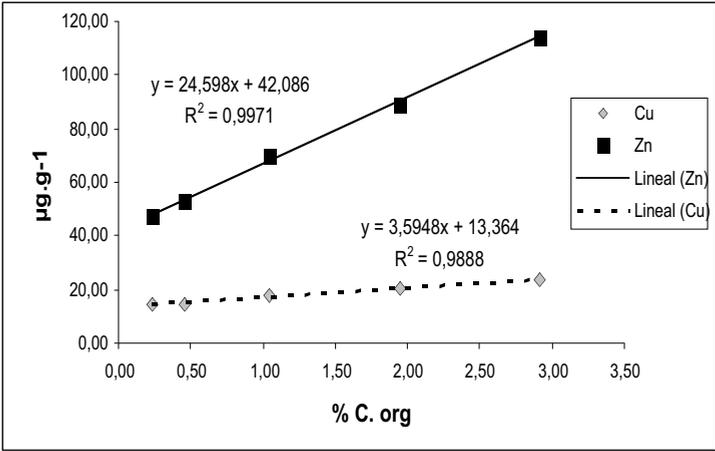


Figura 11. Correlación entre las concentraciones de Zn y Cu totales ($\mu\text{g g}^{-1}$) de los suelos bajo los corrales en función de las variaciones del porcentaje de COS en profundidad. No se consideran las concentraciones de ambos metales en la capa orgánica.

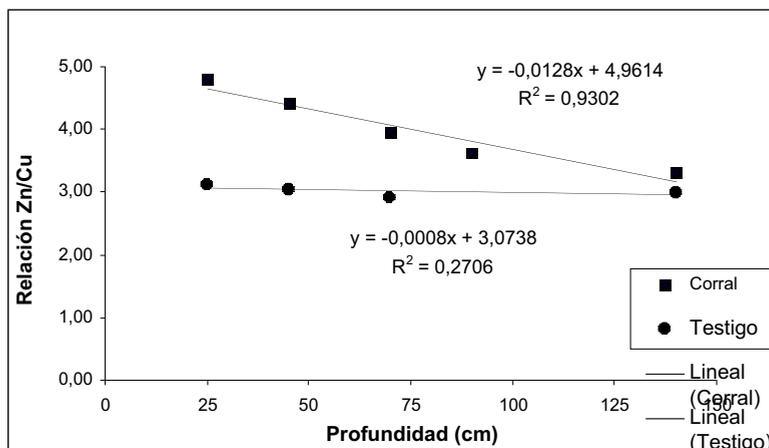


Figura 12. Relación de la concentración de Zn total respecto a la concentración del Cu total (Zn/Cu) en el perfil del suelo bajo corrales de engorde y en el testigo en función de la profundidad.

Implicaciones ambientales

Con respecto a las consecuencias de esta producción en el ambiente, y considerando las normativas vigentes a nivel nacional argentino, se infiere que este establecimiento ganadero se comporta como fuente de Zn y Cu al sistema, pero con concentraciones que se encuentran dentro de los límites aceptables. Si bien las concentraciones medias de Zn y Cu aumentaron en el suelo afectado por corrales de engorde, los valores de las mismas están por debajo de los niveles guías establecidos por la ley de Residuos Peligrosos (Ley 24.051) del Derecho Ambiental Argentino. Dicha reglamentación establece como niveles guías para suelos con actividad agrícola los valores: 600 $\mu\text{g Zn g}^{-1}$ para Zn y 150 $\mu\text{g Cu g}^{-1}$ para Cu (sobre la base de peso seco). Estos valores son superiores a los encontrados en los suelos bajo estudio.

No obstante los altos valores umbrales de Zn y Cu establecidos por la Ley nacional (24051), la elevada y constante tasa de ingreso de estos metales al suelo manifiesta un enorme potencial para el movimiento de los mismos en los poros de los horizontes subsuperficiales, aunque a la altura de influencia de la capa freática (-1,5 m), no implique en los tiempos de muestreo un elevado riesgo de pérdida por lixiviación.

CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio permitieron establecer la acumulación y distribución de Zn y Cu en el suelo afectado por corrales de engorde y su relación con la variación de pH edáfico y del COS. Esta actividad intensiva

de engorde produjo un aumento significativo del porcentaje de COS en los horizontes A y AC₁ del suelo subyacente a la capa orgánica.

El pH edáfico fue afectado, siendo significativamente superior a los del suelo testigo hasta los -70 cm de profundidad (horizontes A y AC₁).

Las máximas concentraciones de Zn y de Cu se encontraron en la capa orgánica superficial, evidenciando un aporte de estos elementos por la actividad ganadera. Asimismo, se produce una acumulación de estos metales en el suelo subyacente a la capa orgánica superficial con respecto al suelo nativo. El enriquecimiento de Zn en el suelo alcanzó el horizonte AC₂ (-90 cm de profundidad) y el de Cu llegó al horizonte AC₁ (-70 cm de profundidad). Las variaciones de las concentraciones de Zn y Cu en profundidad fueron explicadas en un 85 % (aproximadamente) por las variaciones del pH a lo largo del perfil. La variación de la concentración de Zn según cambios de pH fue superior respecto a la variación de Cu.

Por otra parte, las variaciones de las concentraciones de Zn y Cu en profundidad fueron explicadas en un 99 % por la variación del porcentaje de COS en el perfil, siendo la variación de Zn mayor que la variación de Cu. El Cu mostró menor movilidad en el sistema, por lo que evidenció menor variación en profundidad que la del Zn.

Desde el punto de vista ambiental fue posible establecer que las concentraciones máximas encontradas en el sistema edáfico bajo los corrales se encuentran por debajo de los niveles guías que establece la legislación argentina y, además, que la distribución de estos metales en el suelo afectado no alcanzó la zona de influencia de la capa freática. Estos resultados manifiestan que al tiempo de las experiencias no se produjeron aun externalidades en este sistema. No obstante, las elevadas tasas de ingreso de Cu y Zn al suelo (comparadas con lo que deja un rastrojo) contribuyen al enriquecimiento edáfico y, por ende, se convierte en potencial contaminante del agua subsuperficial.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alloway B.J. 1995. Heavy metals in soils, Blackie Academic & Professional ed, 2nd edn., 368 pp.
- ASAE. *Manure production and characteristics*, ASAE Standard D384.1 FEB03. 2003. ASAE. The Society for engineering in agricultural, food, and biological systems, St. Joseph (USA). Pp.: 682-685.
- Barna R., Fernández A. y Hlavackova P. 2007. Assessment methodologies for copper and zinc mobility in a neutral synthetic soil: The influence of pH. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 306: 56-67.
- Bhon H., McNeal B.L. y O'Connor G. 1993. *Química del Suelo*. Limusa, México. 370 pp.

- Calvo de Anta R. 1997. *El conocimiento del suelo como principio básico de la gestión de suelos contaminados*. Aniversario de la Sociedad Española de la Ciencia del suelo. Tomo Ponencias: S.E.C.S., Madrid. 211-240.
- Casas R. 2003. Sustentabilidad de la agricultura en la región pampeana. INTA. [Doc. en línea]. <www.inta.gov.ar/balcarce/info/documentos/recnat/suelos/casa> [Consulta: Enero, 2008].
- Dewis J. y Freitas F. 1970. *Métodos físicos y químicos de análisis de suelos y aguas*. Boletín sobre suelos, nº 10. FAO, Roma. Pp.: 36-57.
- Diaz-Zorita M. y Grosso G.A. 2000. Effect of soil texture, organic carbon and water retention on the compactability of soils from the Argentinean pampas. *Soil and Tillage Research*, 54: 121-126.
- Eghball B. y Power J.F. 1994. Beef cattle feedlot manure management. *J. of Soil and Water Cons.*, 49: 113-122.
- García A.R, Massobrio M. y de Iorio A.F. 2007. Efficiency of deflation hollows in storage of nutrients and salt of the wastewater and feedlot runoff in Sandy Pampa-Argentina. En: *Environmental change and rational water use*. O. E. Scarpati y J. A. A. Jones (eds.). Orientación Gráfica Editora. Buenos Aires (Argentina).
- García AR y de Iorio A.F. 2005. Incidencia de la descarga de efluentes de un *feedlot* en la calidad de agua del Arroyo Morales en Pampa Ondulada-Argentina. *Rev. Facultad de Agronomía, UBA*, 25: 167-176.
- García AR y de Iorio A.F. 2003. Phosphorus distribution in sediments of Morales Stream tributary of the Matanza-Riachuelo River, Argentina. The influence of organic point source contamination. *Hydrobiologia*, 492: 129-138.
- García A.R., de Iorio A.F., Bado F. y Bargiela M. 2001. Riesgo potencial de contaminación del Arroyo Morales, provincia de Buenos Aires-Argentina, por influencia de una producción ganadera intensiva. *Rev Inter Información Tecnológica*, 2: 37-42.
- Ghersa C.M. y León R.J.C. 1999. Successional changes in agroecosystems of the rolling pampa. En: L.R. Walker (ed.). *Ecosystem of disturbed ground*. Elsevier, Amsterdam. Pp.: 487-502
- Griffin T.M., Rabenhorst M.C. y Fanning D.S. 1989. Iron and trace metals in some tidal marsh soil of the Chesapeake Bay. *Soil Sci. Society of America J.*, 53: 1010-1019.
- INTA. 1980. Instituto de Suelo. *Carta de suelo de la República Argentina*. Hoja 3560-7 y 8 L. N. Alem-Junín. INTA-CIRN, Buenos Aires (Argentina).
- Iorio A.F. de. 1999. *Distribución y dinámica de las formas químicas de cobre, en relación con el hierro y el manganeso en un Natracuol de la Pampa Deprimida*. Tesis de Maestría. Área Ciencias del Suelo. Escuela para Graduados de la Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. 156 pp.
- Iwata Sh., Tabuchi T. y Warkentin B.P. 1995. *Soil-water interactions: mechanisms and applications*. 2° ed. Marcel Dekker, New York. 440 pp.
- Moscattelli G., Salazar Lea Plaza J.C., Godagnogne R., Grimberg H., Sánchez J., Ferrao R. y Cuenca M. 1980. Mapa de suelo de la provincia de Buenos Aires,

- 1:500000. *Actas de la IX de la Reunión Argentina de la Ciencias del Suelo*. Asociación Argentina de la Ciencia del Suelo, Buenos Aires. Pp.: 1079-1089.
- NRC. *National Research Council*. 1980. Mineral tolerances of domestic animals. *National Academies of Sciences*, Washington D.C.
- Osterheld M. y RJC León. 1993. Cambios en la composición del suelo durante el envejecimiento de pasturas implantadas. *Revista Argentina de Producción Animal*, 13: 149-153.
- Payne R., Murray D., Harding S., Baird D., Soutar D. y Lane P. 2003. *GenStat® 7.1 for Windows™*. 7th ed. Lawes Agricultural Trust, Rothamsted (UK). 336 pp.
- Rashid M.A. 1985. *Geochemistry of marine humic compounds*. Springer Verlag, Berlín. 300 pp.
- Rendina A., de Cabo L., Arreghini S., Bargiela M. y de Iorio A.F. 2001. Geochemical distribution and mobility factors of Zn and Cu in sediments of the Reconquista river, Argentina. *International Journal of Environmental Pollution*, 17: 187-192.
- SMN, Servicio Meteorológico Nacional. 2008. Base de datos de la Estación Junín. S.M.N., Buenos Aires.
- Sweeten J.M. 1989. *Groundwater quality protection for livestock feeding operations*. L-2348, Texas Agricultural Extension Service, Texas A&M University, College Station, Texas. 8 pp.
- Sweeten J.M. 2000. Manure and wastewater management for cattle feedlots. *Review of Environmental Contamination and Toxicology*, 167: 121-153.
- Taboada M. A. y F. Damiano. 2006. Informe final CIMA/CONICET HIDROESTRUCTURAS SA B-2 *Vulnerabilidad de la pampa bonaerense*. [Documento en línea]. Disponible: <http://aplicaciones.medioambiente.gov.ar/archivos/web/UCC/File/vulnerabilidad_zona_pampa_bonaerense.pdf>. [Consulta: Septiembre, 2007]
- USEPA, *United States Environmental Protection Agency*. 1999. Unified national strategy for animal feeding operations. USEPA, Washington, D.C.
- USDA, *United States Department of Agriculture*. 2006. *Claves para la taxonomía de suelos*. (10° edn). United States Government Printing Office. Washinton. [Documento en línea]. Disponible: <http://soils.usda.gov/technical/classification/tax_keys>. [Consulta: Septiembre, 2006].
- Viglizzo E. y Roberto Z. 1997. El componente ambiental en la intensificación ganadera. *Rev. Arg. Prod. Anim.*, 17: 271-292.
- White C.L. 1982. *The mineral Nutrition of Livestock Minerals appearance*. [Documento en línea]. Disponible: <www.dpi.qld.gov.au>. [Consulta: Mayo 2007].
- Wallace A. 1998. Some living plants and some additional products use full as soil conditioners and in various. En: A. Wallace y R. E. Terri (eds.), *Handbook of soil conditioners*, Marcel Dekker, New York (USA). 6 pp.

MODELO PARA EL ESTUDIO DE LA DISPERSIÓN DE METALES PESADOS EN EL MAR DE ALBORÁN: TIEMPOS CARACTERÍSTICOS

C. Miró¹ y R. Perriáñez²

¹Departamento de Física Aplicada, Universidad de Extremadura, Badajoz 06080 (España). ²Departamento de Física Aplicada 1, Universidad de Sevilla (España), E-mail: <cmiro@unex.es>; <rperrianez@us.es>.

Resumen: El mar de Alborán es la única comunicación entre el océano Atlántico y el mar Mediterráneo, por lo que es una zona potencialmente expuesta a un vertido accidental de contaminantes. Se ha aplicado un modelo numérico a la simulación de la dispersión de un vertido de metales pesados que tenga lugar en el estrecho de Gibraltar. Como ejemplo de aplicación numérica el modelo se ha particularizado para el estudio de la dispersión del Pb. El modelo consiste en un módulo hidrodinámico (que proporciona la circulación del agua), un módulo de transporte de sedimentos (que calcula las concentraciones de materia en suspensión y razones de sedimentación) y el módulo de dispersión de metales (que incluye, de forma dinámica, las reacciones de adsorción/disolución de los metales entre las fases líquida y sólida). Este modelo proporciona datos de concentraciones de los metales pesados en agua y sedimentos en toda la zona marítima estudiada. Estas concentraciones se han utilizado para la determinación de algunos tiempos característicos en diversos puntos de interés, entre los que se encuentran tiempos de tránsito y tiempos de residencia de los metales pesados. También se han calculado velocidades de transporte características, así como factores de dispersión; para ello se han utilizados técnicas estadísticas de series temporales.

Palabras clave: Plomo, agua, sedimento, simulación numérica, series temporales.

Modelling the dispersion of heavy metals in the Alboran Sea: characteristic times

Abstract: The Alboran Sea is the only connection between the Atlantic Ocean and the Mediterranean Sea and, because of this, is an area potentially exposed to an accidental contamination spill. A numerical model has been applied to simulate the dispersion of heavy metals after an accidental release occurring in the Strait of Gibraltar. As an example, it has been applied to study the dispersion of lead. The model consists of a hydrodynamic module, that provides water currents; a sediment transport module, that calculates suspended matter concentrations and sedimentation rates; and the metal dispersion module, that includes adsorption/release reactions

between the liquid and solid phases in a dynamic way. The model provides metal concentrations in water and sediments over the domain. At some locations of interest, these concentrations have been used to determine characteristic times of the system, like transit and residence times. Transport velocities and dispersion factors have been calculated as well. Time-series analysis techniques have been applied for this purpose.

Key words: lead, water, sediment, numerical modelling, time-series.

INTRODUCCIÓN

Situación de la zona del estudio y objetivo

El mar de Alborán constituye la parte más occidental del mar Mediterráneo, siendo la única conexión de éste con el océano Atlántico, la cuál se establece a través del estrecho de Gibraltar (Fig. 1). El Estrecho es un canal de unos 40 km de longitud y una anchura mínima de unos 14 km. Toda la zona tiene un alto valor tanto ecológico como económico, pues es un área esencial en procesos migratorios de mamíferos y tortugas marinas, además de albergar diversas especies endémicas. Por otra parte, muchos kilómetros de playas atraen miles de turistas cada año y existen importantes núcleos de población en las costas del Estrecho y del mar de Alborán. En consecuencia, una descarga de contaminación en la zona puede provocar un elevado impacto ecológico y económico.

El tráfico marítimo en el Estrecho es muy intenso, dado que es el único paso entre el océano Atlántico y el mar Mediterráneo. De hecho, unos

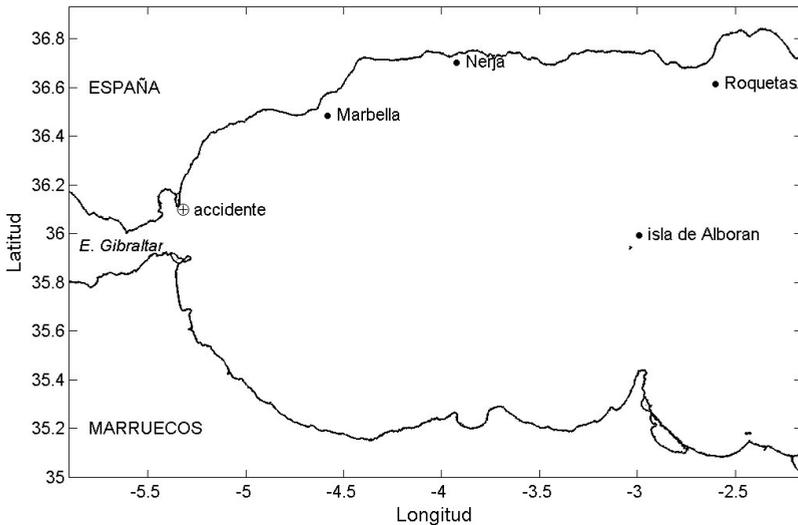


Figura 1. Dominio espacial del modelo mostrando puntos de interés.

70.000 buques navegan a lo largo de él cada año, el 30 % de los cuales declara mercancías peligrosas. Sólo en el Estrecho más de 12.000 barcos lo cruzan entre las costas norte y sur, la mayoría de ellos ferries de pasajeros. Es muy usual encontrar condiciones meteorológicas adversas en el Estrecho, con un 54 % de días con visibilidad reducida y un 13 % de días con nieblas persistentes. Si al intenso tráfico le añadimos las dificultades meteorológicas, el resultado es una navegación difícil en la zona. De hecho, se han producido más de 80 accidentes en los últimos años, con 14 colisiones, y no sería sorprendente, por tanto, que se produjera un episodio de contaminación en el Estrecho. Como se verá, la circulación del agua en la zona transportaría los contaminantes hacia el mar de Alborán.

El objetivo de este trabajo es describir un modelo numérico de dispersión de metales pesados para el mar de Alborán, incluyendo el estrecho de Gibraltar, y aplicarlo a la simulación de hipotéticos accidentes que puedan suceder en el Estrecho. Los resultados del modelo serán analizados mediante técnicas de análisis de series temporales para obtener diversos tiempos característicos del sistema; éstos permiten disponer de una estimación de, por ejemplo, el tiempo que tardaría una mancha de contaminación en llegar a un determinado punto sensible (por ejemplo, una localidad costera), el tiempo durante el cuál es esperable que ese punto se vea afectado por la contaminación, la rapidez con la que se propaga la contaminación y la dilución del contaminante a lo largo del mar, entre otros parámetros. Por tanto, se proporcionará una información útil para la gestión de un episodio de contaminación.

En esencia, el modelo consiste en tres sub-modelos. En primer lugar, un módulo hidrodinámico proporciona las corrientes de agua en todo el dominio, tanto las debidas a las mareas como la circulación residual (media). Seguidamente, un modelo de transporte de sedimentos proporciona las concentraciones de materia en suspensión y las razones de sedimentación. Finalmente, el modelo de dispersión de metales pesados propiamente dicho emplea las corrientes de agua, concentraciones de partículas y razones de sedimentación previamente calculadas para simular la dispersión de los primeros, incluyendo las transferencias entre la fases disuelta y sólida (materia en suspensión y sedimentos del fondo) de una forma dinámica, empleando para ello coeficientes de transferencia cinéticos. Los parámetros numéricos del modelo se refieren al Pb y, por tanto, los resultados numéricos corresponden a este metal. No obstante, el modelo se puede aplicar a cualquier metal pesado, para lo que bastaría modificar los valores de dichos parámetros.

En primer lugar se describirá brevemente las características físicas de la zona estudiada. A continuación se presentarán los modelos empleados y se definirán los tiempos característicos, velocidades y factores de dispersión que se han calculado. Por último se expondrán los resultados más relevantes.

Oceanografía del Estrecho de Gibraltar y el Mar de Alborán

La circulación en el Estrecho se caracteriza por una entrada (hacia el Mediterráneo) de agua atlántica en la superficie y una salida del agua Mediterránea (más densa) por debajo de la primera. Los flujos intercambiados son del orden de $10^6 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, con un exceso de entrada de agua Atlántica de unos $0,05 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ respecto a la salida de agua Mediterránea (Tsimplis y Bryden, 2000). Este influjo neto compensa el exceso de evaporación en el Mediterráneo respecto al aporte fluvial y precipitaciones. Tanto el Estrecho como el mar de Alborán pueden simplificarse a un sistema constituido por dos capas de agua de distinta densidad que fluyen en direcciones opuestas, aproximación que se ha empleado con éxito en varios estudios (por ejemplo, Preller, 1986).

La circulación en el mar de Alborán consiste en lo siguiente: El agua atlántica penetra en el Estrecho y se acelera hasta alcanzar velocidades del orden de $0,6 \text{ m s}^{-1}$. Este flujo forma una corriente de agua que entra en el mar de Alborán en dirección Este-Noreste y que se desplaza a lo largo de la costa española. Aproximadamente a unos $3,5^\circ \text{ E}$ se curva hacia el Sur. Una parte se dirige hacia el Este a lo largo de la costa marroquí, pasando al Sur de la isla de Alborán, mientras que otra gira hacia el Oeste, cerrando un giro anticiclónico (Vélez-Belchí *et al.*, 2005) conocido en la bibliografía como WAG (de *Western Alboran Gyre*). Este giro es una estructura casi permanente, con un diámetro de unos 100 km y una profundidad de unos 200 m. Por otra parte, se ha encontrado que la salida de agua Mediterránea en la capa profunda del mar de Alborán se produce esencialmente a lo largo del talud continental marroquí (Bryden y Stommel, 1982).

La principal característica de las mareas (Tsimplis y Bryden, 2000) es que pueden considerarse como barotrópicas (no hay efectos debidos a diferencias de densidad). Tanto la amplitud de la marea, como las corrientes asociadas, decrece muy rápidamente según entramos desde el Estrecho en el mar de Alborán.

Esencialmente todo el fondo del mar de Alborán se halla cubierto por lodos, con menos de un 7 % de material más grueso ($>63 \mu\text{m}$). Las partículas litogénicas son introducidas principalmente por los ríos, deposición atmosférica y, en mucha menor medida, erosión costera.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para obtener las corrientes inducidas por las mareas se emplea un modelo 2D promediado en la dirección vertical pues, como se ha comentado arriba, las mareas pueden considerarse barotrópicas. Para el cálculo de las corrientes medias se utiliza un modelo bicapa. En ambos casos las ecuaciones se resuelven numéricamente empleando esquemas en diferencias finitas con condiciones de contorno apropiadas. Para el caso de las mareas, hay que especificar la amplitud y fase de la marea a lo largo de las dos fronteras abiertas.

En el modelo bicapa se especifican los flujos de agua intercambiados entre el Atlántico y el Mediterráneo a través del estrecho de Gibraltar.

Las corrientes producidas por estos modelos se guardan en ficheros que después son leídos por los subsiguientes modelos de transporte. A modo de ejemplo, en la Fig. 2 se muestra la circulación media en ambas capas. En la capa superficial se aprecian claramente la corriente de agua Atlántica y el WAG y en la capa profunda se observa el flujo de agua Mediterránea dirigido hacia el Atlántico a lo largo del talud marroquí.

El modelo de transporte de sedimentos esencialmente consiste en una ecuación de advección/difusión a la que se le añaden varios términos: Aporte de partículas desde los principales ríos, deposición, erosión del sedimento y mezcla a través de la interfase que separa ambas capas de agua. Las razones de sedimentación se obtienen a partir del balance entre los términos de deposición y erosión del sedimento.

Se ha desarrollado una descripción de los procesos de transporte de contaminantes que suceden en un sistema bicapa. Además de los procesos de advección/difusión y mezcla a través de la interfase (picnoclina), los metales se fijan a las partículas en suspensión y a los sedimentos del fondo. Estos procesos se describen mediante coeficientes de transferencia cinéticos. Así, un coeficiente k_1 gobierna la transferencia desde la fase líquida a la sólida y un coeficiente k_2 el proceso inverso. Estos coeficientes describen el distinto comportamiento geoquímico de los diferentes metales pesados. Como ejemplo, la ecuación cuya solución proporciona la evolución temporal de la concentración de metales en disolución es:

$$\frac{\partial(HC_d)_k}{\partial t} + \frac{\partial(uHC_d)_k}{\partial x} + \frac{\partial(vHC_d)_k}{\partial y} = \frac{\partial}{\partial x} \left(H_k K_h \frac{\partial C_{d,k}}{\partial x} \right) + \frac{\partial}{\partial y} \left(H_k K_h \frac{\partial C_{d,k}}{\partial y} \right) + \frac{\partial}{\partial z} (K_v C_{d,k}) - \quad (1)$$

$$- k_{1,k}^m H_k C_{d,k} + k_2 (HmC_s)_k - k_1^s H_2 C_{d,2} + \delta_{k,2} k_2 A_s L \rho_s f \phi$$

donde el índice $k = 1, 2$ se refiere a las capas superficial y profunda, H es el espesor de cada capa, C_d , C_s y A_s son las concentraciones de metales en disolución, materia en suspensión y sedimentos respectivamente, u y v

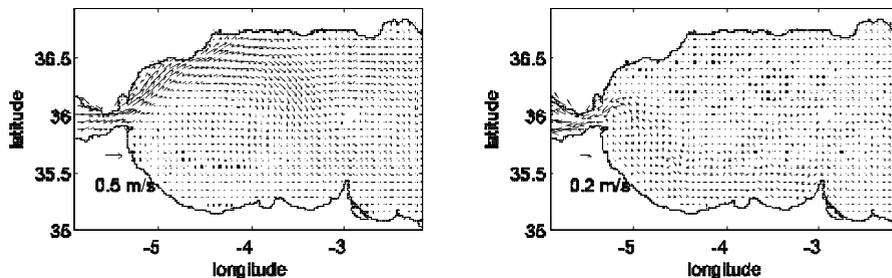


Figura 2. Circulación residual calculada con el modelo bicapa en las capas superior e inferior (izquierda y derecha respectivamente).

son las corrientes en las direcciones de los ejes x e y , K_h y K_v son coeficientes de difusión en las direcciones horizontal y vertical, m es la concentración de partículas en suspensión y aparece una serie de parámetros que caracterizan las transferencias entre las fases líquida y sólida. En particular, el coeficiente cinético de adsorción es distinto para la materia en suspensión, $k^m_{L,k}$, y para el sedimento, k^s_I . Ecuaciones similares proporcionan las evoluciones temporales de las concentraciones de metales en la materia en suspensión y los sedimentos. Aunque no puede hacerse aquí una exposición detallada de las ecuaciones y los parámetros que aparecen, todos los detalles pueden consultarse en Perriñez (2008).

Los tres submodelos se han validado comparando sus resultados con medidas en el mar de Alborán. Así, las mareas se han validado mediante comparaciones de amplitudes y fases en varias localidades, las corrientes residuales se han comparado con algunas mediciones disponibles y lo mismo se ha hecho con las razones de sedimentación. En general, los resultados del modelo muestran un acuerdo razonable con los datos experimentales.

Con respecto al modelo de dispersión de contaminantes, éste se ha aplicado, previamente, al estudio de la dispersión de dos radionúclidos artificiales, ^{137}Cs y $^{239,240}\text{Pu}$, introducidos en el mar de Alborán por el *fallout* global. Se han comparado las predicciones del modelo con medidas de estos radionúclidos en la columna de agua, a varias profundidades y en los sedimentos. De nuevo se obtiene un acuerdo razonable entre los cálculos del modelo y las medidas realizadas. A modo de ejemplo la Fig. 3 muestra la distribución calculada de $^{239,240}\text{Pu}$ en los sedimentos del fondo. En el caso del ^{137}Cs (no mostrado) la distribución es muy diferente debido al diferente comportamiento geoquímico de ambos elementos. Todos los detalles pueden verse en Perriñez (2008), como se ha comentado.

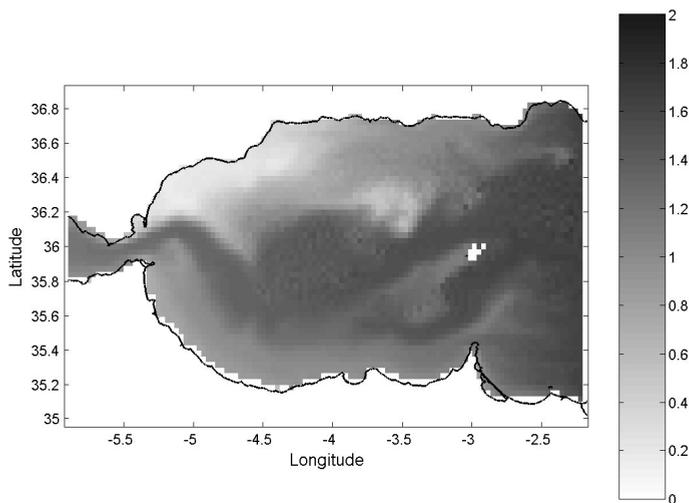


Figura 3. Distribución calculada de $^{239,240}\text{Pu}$ en sedimentos del fondo (Bq kg^{-1}).

Desde la década de los 80 (en la que comenzaron los estudios sobre los tiempos característicos en los océanos y mares) se aplican diversas definiciones, más o menos sofisticadas, para el cálculo de éstos (Takeoda, 1984; Prandle, 1984; Delhez *et al.*, 2004; Deleersnijeder y Delhez, 2007; Hall y Haine, 2004). En este trabajo se definen los principales tiempos característicos de la forma siguiente:

En primer lugar, el intervalo temporal durante el cual un punto dado del mar de Alborán se encuentra afectado por la contaminación viene dado por el tiempo requerido para que la contaminación llegue a dicho punto, T_L , y el que tarda la pluma contaminante en abandonar dicho punto, T_d . Estos dos tiempos se obtienen directamente de la evolución temporal de la concentración de metales pesados en el punto seleccionado. Sus determinaciones según recomendación de la USEPA, utiliza el programa QTRACER2 (USEPA, 2000).

Por otro lado, es interesante determinar el tiempo de tránsito, T_t , de la mancha contaminante en su conjunto (entre el punto donde se produce la evacuación y un punto dado). En este trabajo se define, concretamente, como el intervalo de tiempo para el cual se da la mejor similitud entre las señales (concentración del contaminante *vs* tiempo) entre dos localizaciones. De este modo, dicho tiempo indica la rapidez con la que se desplaza de forma global la mancha contaminante.

Así, en primer lugar, mediante el modelo numérico se obtienen los valores de la serie de tiempo de la concentración del metal en el punto de evacuación A (Bahía de Algeciras), $C_A(t)$ y, seguidamente, el modelo reporta la concentración en el resto de los puntos de interés $C_j(t)$. A continuación el tiempo de tránsito se obtiene a partir del máximo valor de la función de correlación cruzada entre la serie temporal del punto de evacuación y la serie de datos de cada punto (Salomón *et al.*, 1995; Miró y Periañez, 2006). Esta función estima la correlación $R(k)$ entre dos series temporales $C_A(t)$ y $C_j(t+k)$ donde k es el tiempo de desfase entre ambas series. En este caso, los desfases se calculaban en intervalos de 1 día. Así la similitud entre ambas señales se cuantifica por la función de correlación cruzada:

$$R(k) = \frac{\sum_{t=1}^{t=N} C_A(t) \cdot C_j(t+k)}{\sqrt{\left(\sum_{t=1}^{t=N} C_A(t)\right)^2 \left(\sum_{t=1}^{t=N} C_j(t+k)\right)^2}} \quad (2)$$

El máximo de la función de correlación cruzada R_{max} ocurre para un valor dado de $k = k_{max}$, el cual proporciona la evaluación estadística del tiempo de tránsito entre dos puntos:

$$T_t = k_{max} \quad (3)$$

El tiempo que informa sobre el paso del contaminante de la capa superficial de agua a los sedimentos se ha estimado a partir del desfase entre la señal, en un punto dado, en el sedimento con respecto a la señal en el agua, T_{lag} . Cuando aumenta la concentración en los sedimentos simultáneamente disminuye dicha concentración en el agua; por ello este tiempo se ha estimado a partir del máximo de la inversa de la función de correlación cruzada entre ambas series de tiempo.

Otro tiempo característico de interés es el tiempo de residencia del contaminante en una zona, el cual es una medida de la persistencia de la contaminación en dicha zona. Concretamente, el tiempo de residencia en cada uno de los medios analizados se ha estimado como el tiempo en el que la concentración de metales pesados, tras el proceso de contaminación, disminuye hasta la mitad (Periáñez, 2003). Si la disminución de la concentración total de metales pesados en un subsistema se produce a partir de un instante t_s , las series de tiempos que dan la evolución de dicha concentración se ajusta, a partir de t_s , a una curva de decaimiento exponencial

$$C(t) = C(t_s) \exp\left(-\frac{\ln 2}{T_h} t\right) \quad (4)$$

donde T_h , es el tiempo de residencia. T_h y t_s , así como sus incertidumbres, se obtienen mediante ajuste por mínimos cuadrados a la curva exponencial (Zar, 1984).

RESULTADOS

Para realizar el cálculo de los tiempos característicos se ha simulado un accidente que sucede en el Estrecho, en concreto en la entrada de la bahía de Algeciras (éste es uno de los puertos más importantes de Europa en cuanto a volumen de mercancías).

El accidente produce una emisión líquida de metales pesados, los cuales subsecuentemente se fijarán parcialmente a las partículas en suspensión y al sedimento del fondo y serán, además, transportados hacia el interior del mar de Alborán por la corriente de agua del Atlántico. Los coeficientes de transferencia que se han empleado corresponden, a modo de ejemplo, a los del Pb (metal relevante por su elevada toxicidad). Estos coeficientes pueden determinarse a partir de los experimentos de Nyffeler *et al.* (1984), que proporcionan el valor del coeficiente cinético de disolución, $k_2 = 1,16 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ y, a partir del coeficiente de distribución establecido para el Pb en aguas costeras, siendo $k_d = 1 \cdot 10^5$ (IAEA, 2004). Los coeficientes de adsorción para la materia en suspensión y el sedimento se determinan a partir de estos dos parámetros, siguiendo el procedimiento descrito en detalle en Periáñez (2008).

La descarga de contaminación tiene una duración hipotética de 10 días y se realiza una simulación de duración suficiente para que los metales sean transportados a lo largo del mar de Alborán, alcanzando la frontera Este del dominio. Se ha supuesto que durante esos 10 días la descarga (medida en unidades arbitrarias) es constante en el tiempo. Durante la simulación se obtiene la evolución temporal de la concentración de Pb en diversos puntos sensibles, seleccionados por su interés ecológico, económico (como por ejemplo turismo) y/o por albergar núcleos de población. La localización de estos puntos puede verse en la Fig. 1. Las distancias en línea recta desde cada uno de ellos al punto de evacuación se dan en la Tabla 1.

A modo de ejemplo, en la Fig. 4 se muestran las distribuciones de Pb calculadas por el modelo en distintos instantes de tiempo (5, 15, 25 y 35 días) tras el inicio del accidente en la columna de agua, para las capas superior e inferior. La Fig. 5 es análoga, pero para los sedimentos del fondo.

Así mismo, las Fig. 6 y 7 muestran la evolución temporal de la concentración en la capa superficial de agua y en los sedimentos, respectivamente, en los puntos de interés mencionados.

Tal como muestra la Fig. 1, en la capa superficial el Pb es transportado hacia el Este por la corriente del Atlántico, dividiéndose la mancha de contaminación en dos partes hacia la isla de Alborán, si bien la mayor parte del Pb abandona el dominio entre la isla de Alborán y la costa española. Además, parte del Pb de la capa superficial se incorpora a la capa profunda conforme la mancha superficial se desplaza hacia el Este. Esto ocurre en base a dos procesos: Caída por gravedad del Pb incorporado a las partículas en suspensión y difusión a través de la interfase (picnoclina) que separa ambas capas de agua. No obstante, el agua mediterránea se mueve en dirección opuesta (hacia el Oeste), aunque muy lentamente. Por ello el máximo de concentración de Pb en la capa profunda se encuentra desplazado hacia el Oeste respecto del máximo en la capa superficial.

Punto	Ubicación	Distancia (km)
A	Bahía de Algeciras*	0
B	Marbella	74
C	Nerja	137
D	Roquetas	247
E	Isla de Alborán	205

Tabla 1. Puntos donde se han obtenidos resultados del modelo (*Lugar del accidente). Distancias desde cada punto al de Bahía de Algeciras en línea recta.

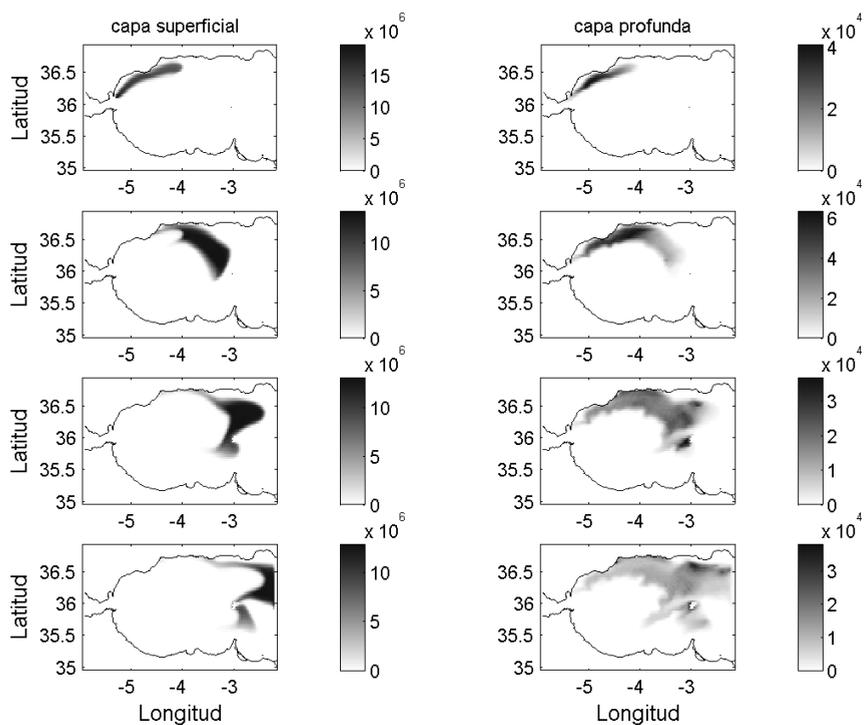


Figura 4. Mapas de concentraciones de Pb (unidades m^{-3}) 5, 15 25 y 35 días tras el inicio de la descarga (de arriba a abajo) en las capas superficial y profunda.

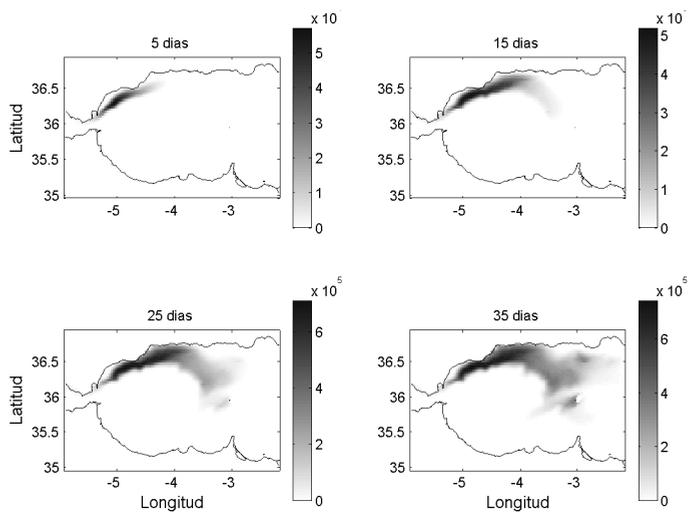


Figura 5. Igual que la Figura 4, pero para concentraciones en el sedimento (unidades kg^{-1}).

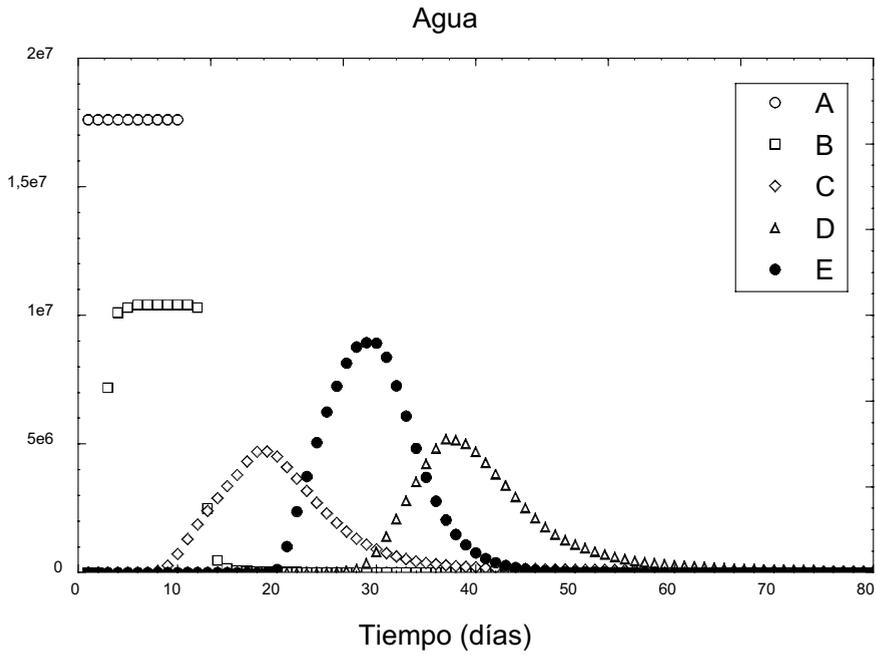


Figura 6. Evolución temporal de la concentración de Pb (unidades m^{-3}) en la capa superficial de agua en los puntos indicados en la Figura 1 y en la Tabla 1.

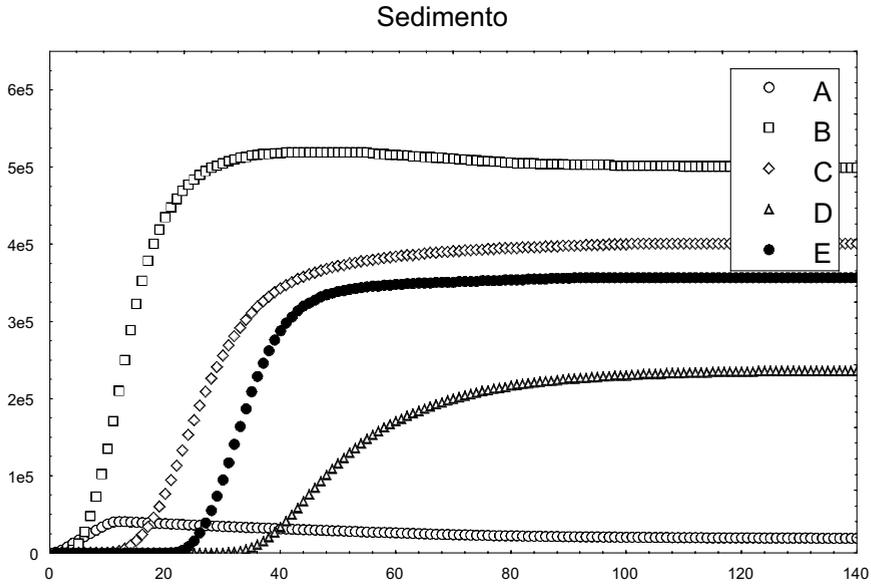


Figura 7. Evolución temporal de la concentración de Pb (unidades kg^{-1}) en el sedimento en los puntos indicados en la Figura 1 y en la Tabla 1.

En cuanto a la contaminación en los sedimentos, tal como muestra la Fig. 5, el pico de concentración esencialmente no se mueve a lo largo de la simulación y aparece desplazado hacia el Este respecto al punto donde sucedió el accidente. Ello se debe a que es necesario un cierto tiempo para que la contaminación introducida en la capa superficial alcance el fondo a través de la picnoclina, tal como se observa de la comparación en un punto dado de las curvas de evolución de la concentración en agua y la de los sedimentos (véanse Fig. 6 y 7 simultáneamente). Dicho tiempo es el estimado por T_{lag} , definido en el apartado anterior.

Conforme la mancha superficial se desplaza hacia el Este, parte del Pb atraviesa la picnoclina y contamina los sedimentos. No obstante, tal como muestra la Fig. 7, una vez que el sedimento es contaminado la concentración de Pb en éste no disminuye de manera significativa con el tiempo como sería esperable, debido a los procesos de redisolución, como se ha observado en otros medios (Periáñez, 2003). Este efecto se debe a que el agua de la capa profunda se desplaza en la zona Norte del dominio tan lentamente (véase Fig. 2) que la partición del metal entre las fases líquida y sólida se encuentra esencialmente en equilibrio, por lo que la concentración se mantiene casi constante en el tiempo.

Una vez que se ha descrito el comportamiento de un metal (particularizando el Pb), en el mar de Alborán (contaminado como consecuencia de un accidente en el estrecho de Gibraltar), se procederá a presentar los tiempos característicos del sistema. Estos se han obtenido a partir de la simulación descrita. Por ejemplo, en la Tabla 2 se muestran los resultados numéricos para los tiempos característicos definidos en la capa superficial de agua T_L , T_d y T_t . Se ha considerado que estos parámetros, al tener un interés desde el punto de vista de la protección de la salud, es en esta capa de agua donde más utilidad reportarán sus resultados. Así mismo, se ha estimado la rapidez con la que se transfiere el contaminante de la capa superficial a los sedimentos, T_{lag} , debido a que posteriormente y debido a su desadsorción, los sedimentos actúan como una fuente secundaria de contaminante.

Punto	$T_L - T_d$ (d)	T_t (d)	T_{lag} (d)	FD
Bahía de Algeciras*	0 - 10	0	4 ± 3	1,0
Marbella	2 - 14	2 ± 1	2 ± 1	1,7
Nerja	7 - 40	14 ± 2	10 ± 3	2,7
Roquetas	28 - 60	33 ± 3	27 ± 8	2,4
Isla de Alborán	20 - 45	24 ± 3	19 ± 5	1,8

Tabla 2. Tiempos característicos (días) para la capa superficial de agua (T_L , T_d y T_t) y para la transferencia desde esta capa a los sedimentos (T_{lag}). FD es el factor de dispersión a lo largo de la capa superficial de agua en los puntos considerados.

Tal como se observa en la Fig. 6 en la capa superficial de agua hay, obviamente, un desfase temporal entre la mancha de contaminante en el punto de descarga y el resto de los puntos, desfase lógicamente más acusado a medida que nos alejamos de la Bahía de Algeciras. Este desfase temporal se cuantifica por los tiempos T_L , T_d y T_t , cuyos valores en los puntos de interés pueden verse en la Tabla 2; se deduce que, para un vertido de duración de 10 días, la mancha permanece en Marbella 11 días, estimado a partir de la diferencia entre T_d y T_L , 33 días en Nerja, 32 en Roquetas y 25 días en la Isla de Alborán. El tiempo que tarda en desplazarse desde que se produjo la evacuación en la Bahía de Algeciras a cada uno de los puntos viene dado por el tiempo de tránsito, T_t , el cual resulta ser de 33 días en la localización más alejada que hemos estudiado (Roquetas). Por otro lado el tiempo de tránsito de la capa superficial de agua a los sedimentos viene dado por T_{lag} que, como se observa en la Tabla 2, es mayor a medida que nos alejamos del punto de evacuación.

A partir de los tiempos característicos pueden calcularse algunas velocidades, siendo:

$$v_L = \frac{D}{T_L} \quad (5)$$

y

$$v_t = \frac{D}{T_t} \quad (6)$$

donde D es la distancia (en km), desde el lugar de evacuación al punto correspondiente (Tabla 1). La primera velocidad es una indicación de la rapidez con la que la mancha contaminante alcanza a cada uno de los puntos. Este parámetro puede ser muy útil para que los responsables públicos de la gestión de la contaminación y protección del medioambiente puedan hacer estimaciones conservativas. La segunda velocidad es una indicación de la rapidez con que la mancha en su conjunto se desplaza. Los resultados promediados a los puntos de interés muestran un valor de $v_L = 19 \pm 13$ (SD) km día⁻¹, oscilando los valores entre 37 km día⁻¹ en el trayecto Bahía de Algeciras a Marbella y 8,8 km día⁻¹ en el de Bahía de Algeciras a Roquetas. Estos valores son consecuentes con lo comentado en apartados anteriores; la corriente de agua se desplaza con más rapidez en las cercanías del Estrecho (Fig. 1), donde como se indicó, la velocidad de entrada al Mediterráneo podía alcanzar los 0,6 m s⁻¹ (52 km día⁻¹), que en puntos más alejados y, por tanto, el desplazamiento de la pluma contaminante sigue estas pautas, aunque a una velocidad ligeramente inferior que la del agua.

En cuanto al movimiento de la mancha en su conjunto se obtiene un valor promediado a todos los puntos de interés de $v_t = 4,3 \pm 0,8$ (SD) km día⁻¹. Es decir, los valores son prácticamente constantes en los distintos puntos. Por otro lado, esta velocidad resulta ser inferior a v_L . Ello se debe a la deformación que

sufre el pulso contaminante a medida que se va dispersando, lo cual hace que, como se ha mencionado, aunque la mancha alcance con relativa rapidez un punto (dando un valor alto de v_L), parte de la mancha seguiría viajando a otros puntos, pero otra parte permanece unos días en dicho punto (dando bajos valores de v_L).

Para la determinación de los tiempos de residencia del Pb en el mar de Alborán se ha efectuado un experimento de simulación por el que se asigna una concentración inicial de 1 unidad m^{-3} en la fase disuelta en ambas capas de agua y se supone que las concentraciones en la materia en suspensión y el sedimento están inicialmente en equilibrio con la disolución. Entonces se deja que el sistema evolucione sin ninguna fuente externa y suponiendo que el agua que entra a través del estrecho en la capa superficial y desde el Mediterráneo en la capa profunda viene limpia.

A partir de los datos obtenidos de la simulación numérica sobre el contenido total de contaminante en función del tiempo (para un tiempo total de 150 días) se determinarán los valores de los tiempos de residencia en ambas capas y en los sedimentos, aplicando la ecuación 4. Los resultados fueron de 43 ± 1 días, 480 ± 10 y 1350 ± 30 días para el agua superficial, profunda y el sedimento, respectivamente. Estos valores muestran claramente tiempos de regeneración muy diferentes, con un gradiente positivo entre capas.

Por último se ha calculado el factor de dispersión en los distintos puntos de interés. El factor de dispersión en un punto j , FD se ha definido como:

$$FD = \frac{A_S}{A_j} \quad (7)$$

donde A_S es la concentración total evacuada en la Bahía de Algeciras y A_j es la concentración total acumulada en j , la cual se determina a partir de la expresión:

$$A_j = \sum_{t_i=t_L}^{\infty} C(t_i) \quad (8)$$

Los valores de FD se muestran en la última columna de la Tabla 2. Como puede observarse, en general, la dispersión es más acusada a medida que nos alejamos del punto de evacuación. Sin embargo, dicha dispersión es menor en Roquetas que en Nerja, a pesar de que este punto está más próximo a la Bahía de Algeciras. Ello se debe al patrón de movimiento de la mancha de contaminante, ya comentado, por el que la corriente de agua, y por tanto la mancha de contaminante, aproximadamente a unos $3,5^\circ W$ gira hacia al Sur debido al WAG, “evitando” el punto de Nerja, pero posteriormente viaja hacia el Este alcanzando con más intensidad el punto de Roquetas, tal como se ve en las secuencias de la Fig. 4.

CONCLUSIONES

Se ha desarrollado un modelo para la dispersión de metales pesados en el mar de Alborán. Aunque dicho modelo es válido para cualquier metal pesado, como ejemplo concreto se han utilizado los parámetros numéricos correspondientes al Pb.

Como ejemplo, se ha simulado el comportamiento de una mancha contaminante procedente de una evacuación accidental, de 10 días de duración, que tenga lugar en la Bahía de Algeciras. El desplazamiento visual de la mancha, tanto en la capa superficial como en los sedimentos, puede apreciarse perfectamente en las secuencias de imágenes que se han reportado.

Los datos de salida del modelo se han procesado utilizando técnicas de series temporales para evaluar los principales tiempos característicos de la capa superficial de agua y de los sedimentos. Además se han estimado las velocidades de transporte medias y los factores de dispersión. Así, por ejemplo, el tiempo que tarda la mancha en alcanzar la localidad de Roquetas, la más distante, es de 28 días, permaneciendo dicha contaminación 32 días en las aguas de esta ciudad. En este caso el tiempo de tránsito de la mancha en su conjunto, desde la Bahía de Algeciras, ha sido de 33 días, llegando diluida en un factor 2,4 respecto a la evacuación total producida en el término fuente. La mancha globalmente viaja a través de la zona estudiada a una velocidad de unos 4,3 km día⁻¹.

La capacidad de regeneración del sistema se ha determinado a partir de los tiempos de residencia del Pb tanto en las dos capas de agua, superficial y profunda, como en el sedimento, resultando ser de 43 días, 480 días y 3,7 años respectivamente.

En conclusión, el modelo aplicado, en combinación con las técnicas de series temporales, resulta una herramienta potente para el estudio de la dispersión de contaminantes y puede aplicarse a otros ambientes marinos, estuarios o ríos así como a otros tipos de contaminantes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bryden H.L. y Stommel H.M., 1982. Origin of the Mediterranean outflow. *Journal of Marine Research*, 40: 55-71.
- Deleersnijder E. y Delhez E.J.M., 2007. Timescale- and tracer-based methods for understanding the results of complex marine models. En: *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 74: 585-776.
- Delhez E.J.M, Heermink A. y Deleersnijder E. (2004) Residence time in a semi-enclosed domain from the solution of an adjoint problem. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 61: 691-702.
- Hall T. y Haine T.W.N. (2004) Tracer age symmetry in advective-diffusive flows. *Journal of Marine Systems*, 48: 51-59.

- IAEA 2004. Sediment distribution coefficients and concentration factors for biota in the marine environment. *Technical Reports Series*, 422, IAEA, Viena.
- Miró C. y Perriñez R., 2006. Estudio de la dispersión de radionúclidos en el Canal de la Mancha mediante modelos numéricos acoplados con técnicas de series temporales. En: J.J. Gallardo-Lancho (ed.) *Medioambiente en Iberoamérica: Visión desde la Física y la Química en los Albores del Siglo XXI*. Diputación de Badajoz, España. Pp.: 359-367.
- Nyffeler U.P., Li Y.H. y Santschi P.H. 1984. A kinetic approach to describe trace element distribution between particles and solution in natural aquatic systems. *Geochimica Cosmochimica Acta*, 48: 1513-1522.
- Perriñez R. 2003. Redissolution and long-term transport of radionuclides released from a contaminated sediment: a numerical model study. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 56: 5-14.
- Perriñez R. 2008. A modelling study on ¹³⁷Cs and ^{239,240}Pu behaviour in the Alborán Sea, western Mediterranean. *Journal of Environmental Radioactivity*, 99: 694-715.
- Prandle D. 1984. A modelling study of the mixing of ¹³⁷Cs in the seas of the European continental shelf. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, London, A310: 407-436.
- Preller R.H. 1986. A numerical model study of the Alboran Sea gyre. *Progress in Oceanography*, 16: 113-146.
- Salomon J.C. Breton M. y Guegueniat, P. 1995. A 2D long term advection dispersion model for the Channel and Southern North Sea. Part B: transit time and transfer function from La Hague. *Journal of Marine Systems*, 6: 515-527.
- USEPA 2002. The QTRACER2 program for tracer-breakthrough curve analysis for tracer tests in karstic aquifers and other hydrologic systems. *United States Environmental Protection Agency, Office of Research and Development*, EPA/600/R-02/001. Washington D.C.
- Takeoka H. 1984. Fundamental concepts of exchange and transport time scales in a coastal sea. *Continental Shelf Research*, 3: 311-326.
- Tsimplis M.N. y Bryden H.L. 2000. Estimations of the transports through the Strait of Gibraltar. *Deep Sea Research*, 47: 2219-2242.
- Vélez-Belchí P., Vargas-Yáñez M. y Tintoré J., 2005. Observation of a western Alboran gyre migration event. *Progress in Oceanography*, 66: 190-210.
- Zar J.H. 1984. *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall International, London.

ESTABILIZACIÓN DE METALES EN SUELOS AFECTADOS POR SEDIMENTOS DRAGADOS MEDIANTE LA APLICACIÓN DE VERMICOMPOSTS

Z. Premuzic, M.J. Barros, A.E. Rendina y A.R.F. de Iorio

Química Analítica. Facultad de Agronomía. Dpto. de Recursos Naturales y Ambiente. UBA. Avda. San Martín 4453. C.A. de Buenos Aires 1417 (Argentina).
E-mail: <premuzic@agro.uba.ar>.

Resumen: La aplicación de vermicomposts (LC) en suelos puede influir en la dinámica de metales pesados como Pb, Cd y Ni. Se han realizado ensayos con especies hortícolas para evaluar el efecto de dos LC (obtenidos por acción de la lombriz *Eisenia foetida* sobre material de contenido ruminal) incorporados a suelos afectados por sedimentos dragados del río Reconquista (provincia de Buenos Aires, R. Argentina) contaminados con metales pesados. El objetivo del estudio fue encontrar una metodología para el tratamiento *in situ* de estos suelos mediante la evaluación del efecto de la aplicación de dos LC (LCF y LCC), procedentes de distintos productores comerciales y con distinta capacidad de adsorción de metales, sobre la biodisponibilidad de Ni, Cd y Pb y su bioacumulación en colza (*Brassica napus* L.) y rúcula (*Eruca sativa* Mill.). Se establecieron tres tratamientos: T0 (testigo, suelo con sedimentos, sin adición de vermicompost), T1 y T2 (suelo mezclado con LCF y LCC respectivamente, 20 % p/p). El cultivo se desarrolló bajo cubierta. Los índices de germinación (IG) indicaron que ninguno de los materiales utilizados produjo efectos fitotóxicos. La adición de LC aumentó el rendimiento (peso fresco y seco) de ambas especies y redujo la acumulación de Pb y Ni en hojas de rúcula y frutos de colza; sin embargo, no se redujo la biodisponibilidad de Cd. La aplicación de LC puede resultar útil para estabilizar Pb(II) o Ni(II) en el tipo de suelo ensayado.

Palabras clave: Plomo, níquel, cadmio, biodisponibilidad, fitoestabilización.

Metal stabilization by addition of vermicomposts to soils affected by dredged sediments

Abstract: The addition of vermicomposts (LC) to soils may have influence on the dynamics of heavy metals as Pb, Cd, and Ni. Trials have been made with horticultural species in order to evaluate the effect of two LC (obtained through the action of the earthworm *Eisenia foetida* on cattle ruminal content) added to soils affected by dredged sediments of the Reconquista River (Buenos Aires province, Argentina) contaminated by heavy metals. The aim of the study was to find a methodology

for in situ treatment of these soils, through the evaluation of the effect of the application of two LC (LCF y LCC) obtained from different commercial producers and with different metal adsorption capacities, on the bioavailability of Ni, Cd, and Pb, and their accumulation in canola (*Brassica napus* L.) and rocket (*Eruca sativa* Mill.) cultivated in a greenhouse. Three treatments were established: T0 (control, soil with sediment, without vermicompost addition), T1 and T2 (soil mixed with LCC and LCF, respectively, 20 % p/p). The germination indexes (IG) indicated that none of the tested materials produced phytotoxic effects. The addition of LC enhanced the yield (fresh and dry weight) of both species and reduced the accumulation of Pb and Ni in leaves of rocket and fruits of canola, but it did not diminish the bioavailability of Cd. The addition of LC may be useful to stabilize Pb(II) or Ni(II) in soils similar to those tested in this study.

Key words: lead, nickel, cadmium, bioavailability, phytostabilization.

INTRODUCCIÓN

La existencia de contaminación suele implicar la presencia de algún constituyente en el suelo acumulado por la actividad del hombre hasta una concentración mayor que la normal (Adriano *et al.*, 1997) y que suponga un riesgo importante para la red trófica (Finney, 1987).

La contaminación del suelo puede manifestarse directamente, a través de la disminución de la biodiversidad y/o pérdida de productividad e, indirectamente, por la contaminación del aire, de las aguas superficiales y subterráneas (Wong, 2003).

Si bien es útil conocer el contenido total de metales como Cd, Ni o Pb en suelos, no menos importante es evaluar la posibilidad de que los mismos sean absorbidos por las plantas, ya que de ese modo pueden entrar en la cadena trófica (Hue *et al.*, 1988). Es necesario entonces establecer si están presentes en el medio en forma biodisponible (Mathur y Levesque, 1988), es decir, en condiciones de interactuar con macro y microorganismos (Peijnenburg *et al.*, 1997). Lindsay y Norvell (1978) resaltaron la utilidad de agentes quelantes como el DTPA (ácido dietilentriaminopentaacético) para evaluar la disponibilidad de elementos traza.

La inmovilidad de la mayoría de las plantas les obliga a desarrollar estrategias precisas para sobrevivir en suelos con altos niveles de metales. La mayor parte de las especies que resisten la presencia de metales en el medio (impiden su absorción por las raíces y/o transporte a los tejidos fotosintéticos) reciben el nombre de excludoras (Raskin *et al.*, 2000). Otras especies acumulan metales en sus tejidos aéreos y los toleran en altas concentraciones de las y algunas plantas (hiperacumuladoras) absorben cantidades extraordinariamente altas (EPA, 1996). La concentración final en las plantas depende de la concentración total y disponible del metal en el suelo,

de las propiedades de este último y de la especie y edad de la planta (Brooks, 1997; Chlopecka y Adriano, 1997).

Cuando la biodisponibilidad es muy alta, tanto los elementos esenciales (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo) como los no esenciales (Cd, Pb, Hg, Cr), pueden ser tóxicos. La amenaza que ello supone para la salud humana y animal, así como para la sanidad vegetal, se agrava por su persistencia en el suelo.

Entre los procedimientos para la remediación de suelos contaminados con metales pesados puede proponerse la estabilización a través de la aplicación de materiales al suelo o sedimento con el objeto de reducir la disponibilidad de los contaminantes en el entorno, al tiempo que se mejoran las propiedades físicas y químicas del medio, para luego (en una segunda etapa) lograr el establecimiento de plantas excluidoras o acumuladoras de metales pesados, según el uso que se planifique para el sitio (que puede ser productivo o paisajístico). El procedimiento que reúne los dos efectos (estabilización y cultivo de plantas tolerantes) puede denominarse entonces fitoestabilización.

Existen antecedentes de uso de sustancias húmicas para reducir la disponibilidad de metales en el suelo (Halim *et al.*, 2003). Los vermicomposts (LC) son materiales húmicos que se producen por la acción de lombrices (*Eisenia foetida*) y de microorganismos en un proceso de descomposición, biooxidación y estabilización de sustratos orgánicos, a partir de los que se obtiene un producto humificado y mineralizado (Martínez, 1996; Bollo, 1999). Actualmente son comercializados como enmiendas orgánicas para suelos agrícolas, como fuente para las plantas de N, P, K y S, así como para mejorar sus propiedades físicas, químicas y biológicas (Purves, 1985). Los LC podrían también ser utilizados para la remediación de suelos contaminados si contribuyen a disminuir la disponibilidad de metales pesados y sus efectos contaminantes (Tordoff *et al.*, 2000), además de favorecer el crecimiento de las plantas.

Dada la heterogeneidad del origen de estos materiales su aplicación podrá hacerse una vez que se haya confirmado la ausencia de componentes fitotóxicos. Un gran número de pequeños productores del cinturón hortícola de La Plata y en el entorno de Escobar y Luján (provincia de Buenos Aires, R. Argentina) se dedica a comercializar *composts* y LC a partir de distintas materias primas como cama de caballo, de gallina o de conejo, así como también de contenido ruminal (residuo de la industria cárnica), en algunos casos mezclados con materiales ricos en lignina (como paja o serrín).

La considerable disponibilidad de LC en el mercado hace atractiva la opción de proponer su utilización como enmienda orgánica y con fines de fitoestabilización en los suelos (como los de las riberas del Río Reconquista, provincia de Buenos Aires) sobre los que se han depositado sedimentos dragados, potencialmente contaminados con metales pesados. Antes de decidir el uso de la enmienda (para el cuidado de la salud humana o animal)

debe verificarse que en el vegetal cosechado los metales se encuentren en concentraciones que no superen los límites aceptados.

Existen estudios que demuestran que distintas especies de la familia de las *Brassicáceas* (a la que pertenecen la rúcula y la colza) toleran suelos contaminados con metales pesados (Salt *et al.*, 1997; Baylock *et al.*, 1997; Raskin *et al.*, 1994; Kabata Pendias y Pendias, 2001) y tienen, además, capacidad de extraerlos del suelo y traslocarlos a órganos aéreos, capacidad inherente a muchas especies silvestres de esta familia (Kumar *et al.*, 1995).

El objetivo del trabajo fue proponer una metodología para el tratamiento *in situ* de suelos afectados por sedimentos dragados del río Reconquista (provincia de Buenos Aires) contaminados con Ni, Cd y Pb. Para ello se evaluó el efecto de la incorporación de dos LC de contenido ruminal (LCF y LCC) sobre la biodisponibilidad de Ni, Cd y Pb, y su acumulación en tejidos de especies de *Brassicáceas* hortícolas.

MATERIALES Y MÉTODOS

a. Caracterización del suelo y de los vermicomposts

Se trabajó con un suelo de la ribera del Río Reconquista (provincia de Buenos Aires, R. Argentina) afectado por sedimentos dragados del cauce y contaminados con Pb (150 mg Pb kg⁻¹), Ni (50 mg Ni kg⁻¹) y Cd (15 mg Cd kg⁻¹).

Como enmiendas se utilizaron dos LC de distinto contenido orgánico (Cuadro 1).

El suelo estudiado se secó al aire y se tamizó por malla plástica de 2 mm. Los LC se utilizaron secos y molidos para facilitar una mezcla homogénea. Se determinaron características físicas y químicas de esos materiales (pH, porcentaje de arena, limo y arcilla; conductividad eléctrica, porcentaje de materia orgánica (MO) a partir de la pérdida de peso por ignición, relación C/N, C en ácidos húmicos y C en ácidos fúlvicos). Se calculó la relación C_{AH}/C_{AF} (Cuadro 1) que informa acerca del tipo de humus (Orlov, 1995). Ese valor fue 1,2 para LCF (indicando predominancia de humatos sobre fulvatos) y de 0,8 para LCC (en el que prevalecerían fulvatos sobre humatos). Se evaluó el índice de humificación (IH) para los dos LC calculado según la relación:

$$IH = \frac{C_{AH} \times 100}{C_o}$$

Donde: IH: Índice de humificación; C_{AH} : C ácidos húmicos (mg C kg⁻¹); y C_o : C orgánico total (mg C kg⁻¹).

Ambos LC eran materiales orgánicos maduros que se diferenciaban porque LCF tenía menor proporción de MO pero más humificada que LCC (Cuadro 1).

Cuadro 1. Características del suelo seleccionado y lombricompuestos.

Arena (%)	Limo (%)	Arcilla (%)	Textura	pH (H ₂ O)	MO (%)
27	53	20	Franco-limosa	7,9	2,5
Caracterización de LCF y LCC (lombricompuestos)					
Características			Unidades	LCF	LCC
Materia orgánica			(%)	42,0	62,0
pH				7,0	6,8
CE (1:10)			(mS cm ⁻¹)	1,9	0,2
CE (en pasta sat.)			(mS cm ⁻¹)	3,6	0,7
C _{AH} / C _{AF}				1,2	0,8
C/N				11,6	16,8
Capacidad de adsorción de Pb(II)			(mg Pb g ⁻¹)	51	35
Capacidad de adsorción de Ni(II)			(mg Ni g ⁻¹)	18	9
Capacidad de adsorción de Cd(II)			(mg Cd g ⁻¹)	9	6
IH (índice de humificación)				23	10,9

b. Ensayos de toxicidad

Se utilizaron semillas de colza y rúcula en cápsulas de Petri con papel de filtro, a las que se añadieron 10 mL de extractos acuosos obtenidos del suelo enmendado con LCF y LCC y del suelo sin enmendar. Los extractos acuosos se prepararon utilizando una mezcla suelo:agua en proporción de 1:5, con filtrado posterior. Se compararon los resultados con un testigo a base de agua desionizada. Las cápsulas se mantuvieron cubiertas durante 5 días a 22 ± 2 °C. Se midió el porcentaje de germinación relativo (% G), el crecimiento de relativo de la radícula (ER) y el índice de germinación (IG; Gariglio *et al.*, 2002).

c. Ensayos bajo cubierta

Se cultivaron plantas de dos *Brasicáceas* en macetas: Rúcula y colza. Se llenaron macetas con 500 g de suelo o mezcla enmienda/suelo (20 % p/p). La humedad de las mezclas se mantuvo al 80 % de la capacidad de campo durante un mes, con el fin de permitir una redistribución de los metales entre las distintas fracciones del suelo. Se inició el ensayo con tres plantas

por especie y maceta, dejándose finalmente una por maceta. En cada ensayo se establecieron tres tratamientos con cinco repeticiones distribuidas al azar: T0, suelo afectado por sedimentos contaminados con Pb, Ni y Cd; T1, mezcla de suelo contaminado y LCF 20 % (p/p); y T2, mezcla de suelo contaminado y LCC 20 % (p/p). Se controlaron las condiciones ambientales hasta la cosecha. Al finalizar el ensayo se extrajeron las plantas de cada tratamiento y se determinó su peso fresco (PF). El material vegetal se secó en estufa a 70 °C durante 48 h para determinar la materia seca (MS). Para su análisis el material vegetal previamente molido se trató con mezcla de HNO₃/HClO₄ (5:1 v/v).

Al comenzar y al finalizar el ensayo se determinaron Pb, Ni y Cd totales (en cada tratamiento) por espectrometría de absorción atómica, previa digestión ácida del sustrato (HNO₃, HClO₄, HF). Se realizaron extracciones con solución de MgCl₂ 1M y con DTPA (agente quelante; Lindsay y Norvell, 1978; Rendina *et al*, 2002) con el fin de evaluar la disponibilidad potencial de Pb, Ni y Cd al iniciar y al terminar el ensayo.

Los datos se procesaron estadísticamente mediante Análisis de la Varianza (ANOVA); cuando se observaron diferencias significativas se empleó el *test* de Tukey ($p < 0,05$) para comparación de medias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Bioensayos de germinación

Considerando la alta proporción de MO que se incorporó al suelo (20 % p/p) y dado que la aplicación de *composts* u otros materiales orgánicos, si son inmaduros, puede aportar al medio de cultivo sustancias fitotóxicas se realizaron ensayos de germinación con las semillas de colza y de rúcula. La germinación es entre los procesos fisiológicos uno de los más sensibles a distintos tipos de estrés (Miceli *et al.*, 2003), por lo que se calculó el Índice de Germinación (IG) de las dos especies para estimar posibles efectos tóxicos del suelo o de los LC sobre la elongación de la radícula y del hipocótilo de las plántulas, teniendo en cuenta que bajas concentraciones de compuestos solubles potencialmente tóxicos en los extractos puede influir en estos procesos aunque no llegue a inhibirse la germinación.

Según Emino y Warman (2004) un IG menor de 50 indica un alta fitotoxicidad del material, y entre 50 y 80 una moderada fitotoxicidad. Estos valores siempre fueron superados en nuestros ensayos (Fig. 1). En todos los casos los IG fueron mayores de 80, por lo que no cabe esperar efectos fitotóxicos derivados de ninguno de los materiales utilizados. Sin embargo, el valor de IG para los extractos del suelo afectado por sedimentos contaminados (T0) fue significativamente menor para las dos especies (Fig. 1). Podría atribuirse este efecto a la presencia de ácidos húmicos extraíbles en los LC, que (se sabe) pueden tener, al menos en parte, un

efecto hormonal responsable del aumento en la germinación (Atiyeh *et al.*, 2002; Arancon *et al.*, 2006).

Crecimiento y acumulación de metales pesados en las plantas

Para analizar el efecto de la aplicación de los LC sobre la disponibilidad de los metales se determinó su contenido total en el medio de cultivo al iniciar y al finalizar el ensayo. No se observaron diferencias significativas en las concentraciones de Pb, Ni y Cd con ninguno de los tratamientos, lo que indicó que las plantas extrajeron del medio cantidades muy bajas de metales, que no incidieron significativamente en su concentración total (Fig. 2).

Por consiguiente, ninguna de las dos especies presenta un potencial de fitoextracción apreciable para los metales considerados, entendido éste como la cantidad total del metal extraída por hectárea (kg ha^{-1}) en un solo ciclo de cultivo y referida a MS (Kos *et al.*, 2003). También podría pensarse que el cultivo de colza y rúcula es igualmente posible sobre suelos contaminados con Pb, Ni o Cd. Para ello es necesario conocer previamente su efecto sobre el crecimiento y acumulación en los tejidos de la planta, así como la efectividad de los tratamientos aplicados para su remediación (materiales húmicos del tipo de los LC). Todo ello definirá el uso que pueda darse a suelos de este tipo.

Las concentraciones de metales extraídos con Cl_2Mg no pudieron determinarse al estar por debajo de su límite de detección por absorción atómica. El DTPA extrajo un 13 % del total de Pb en el tratamiento T0, y un 19 % en los tratamientos T1 y en T2 (Fig. 2 y 3). La extracción de Ni fue algo mayor en T0 (72 %) que en los tratamientos con LC (67 % y 65 %), aunque las diferencias no resultaron significativas. En los tres tratamientos el Cd extraído no difirió significativamente del total (15 mg Cd kg^{-1}).

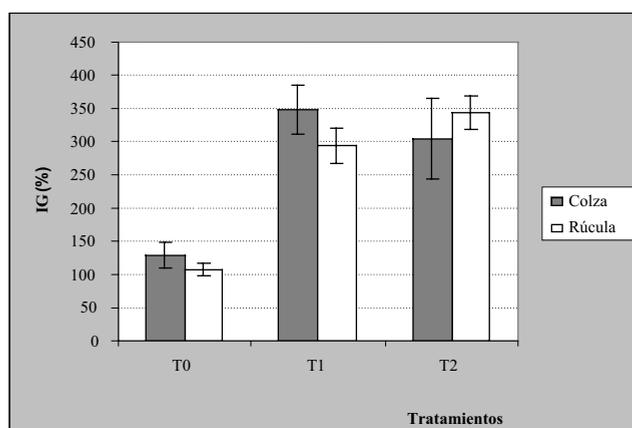


Figura 1. Índice de germinación (IG \pm DS, N = 5) para *Brassica napus* (colza) y *Eruca sativa* (rúcula).

La disponibilidad del Pb en el suelo es baja (McBride, 1994; Raskin *et al.*, 2000). Las extracciones con DTPA pretenden estimar la fracción del total de los metales que podría ser liberada a la solución del suelo, simulando la extracción ácida que realizan las raíces de las plantas; aunque el DTPA es un quelante de mayor fuerza que los ácidos orgánicos de menor peso molecular presentes en la solución del suelo (Meers *et al.*, 2005). Los resultados obtenidos parecen indicar que la adición de enmiendas orgánicas con alta proporción de sustancias húmicas (como

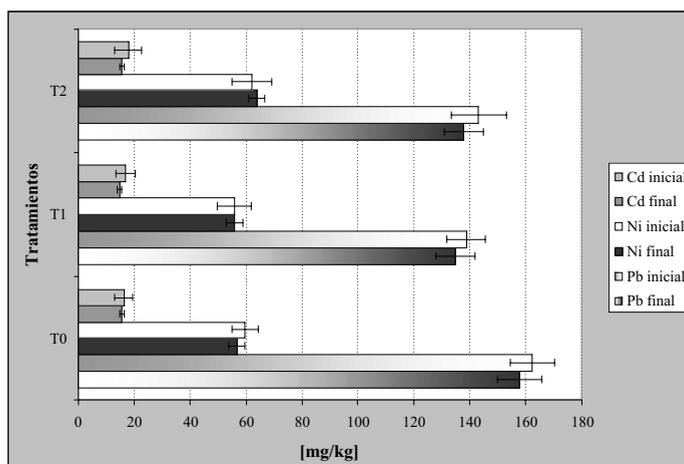


Figura 2. Pb, Ni y Cd totales en el medio de cultivo. Valor medio \pm DS; N =10.

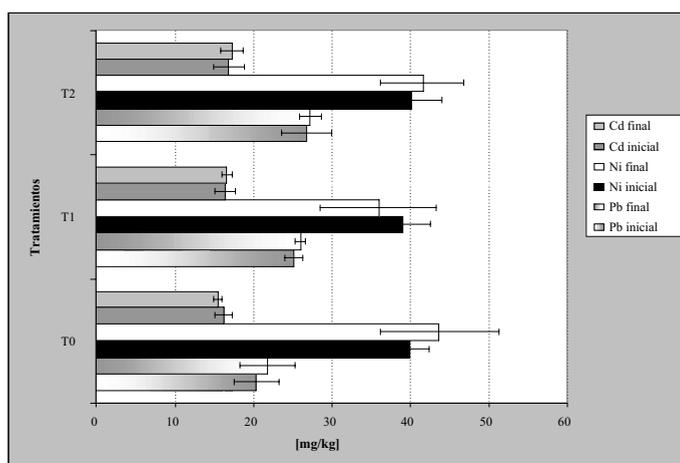


Figura 3. Pb, Ni, y Cd extraídos con DTPA del medio de cultivo. Valor medio \pm DS; N =10.

los LC) produce un aumento en la extractabilidad del Pb con DTPA que no se relaciona con su absorción por la planta y su posterior traslocación a la biomasa aérea, ya que en los tratamientos T1 y T2 la concentración de Pb en las hojas de las dos especies fue significativamente menor que en T0 (Fig. 4 y 5).

En el caso del Ni, con poca tendencia a ser fijado bajo formas no intercambiables (Berrow y Mitchel, 1980; Emmerich *et al.*, 1982), el DTPA extrajo

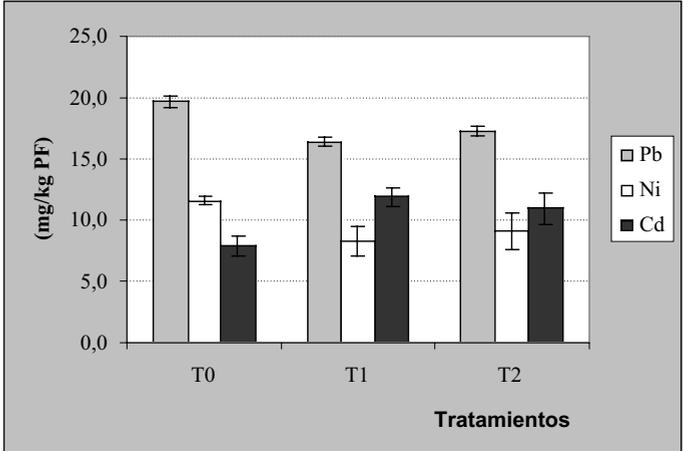


Figura 4. Concentración de metales en hojas de *Eruca sativa* (rúcula) expresada sobre peso fresco. Valor medio \pm DS; N = 5.

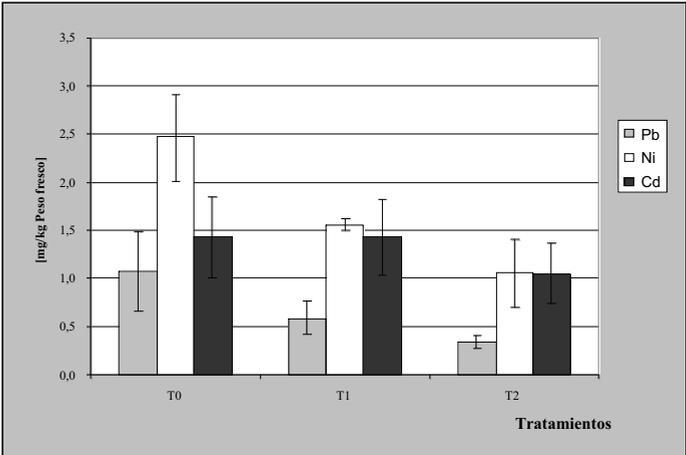


Figura 5. Concentración de metales en hojas de *Brassica napus* (colza) expresada sobre peso fresco. Valor medio \pm DS; N = 5.

una alta proporción del total pero, al igual que con el Pb, la concentración del metal en hojas de los tratamientos con LC fue menor que en T0.

Por consiguiente, la aplicación de enmiendas orgánicas humificadas como los LC parece eficaz para estabilizar Pb(II) y Ni(II) presentes en el suelo como contaminantes, disminuyendo su disponibilidad para la planta (aunque se trate de especies acumuladoras, como suelen ser algunas especies de *Brassicáceas*, entre ellas se vincula la rúcula).

La adición de LC no produjo diferencias significativas en la concentración de Cd de las hojas de colza, pero las aumentó significativamente en el caso de la rúcula. Por consiguiente, es posible que los LC aumenten la biodisponibilidad de este metal en ciertas condiciones, aspecto a tener en cuenta cuando se vayan a aplicar a gran escala.

La producción de biomasa aérea de ambas especies aumentó significativamente en los tratamientos con adición de LC (Fig. 6), como era esperable, debido a las mejoras que introducen estos materiales en las propiedades físicas y biológicas del suelo, siendo fundamental además los nutrientes que aportan, particularmente Ni y P, que contribuyen al aumento del rendimiento (Karmegam y Daniel, 2000).

Los pesos frescos (PF) de las plantas de rúcula oscilaron en un intervalo de 12,5-18,6 g/planta y las diferencias de PF de colza entre tratamientos fueron consecuencia de un marcado aumento del peso de los frutos (Fig. 7) en los tratamientos T1 y T2, hecho a destacar dada la importancia que tiene en la Argentina la producción de aceite de colza.

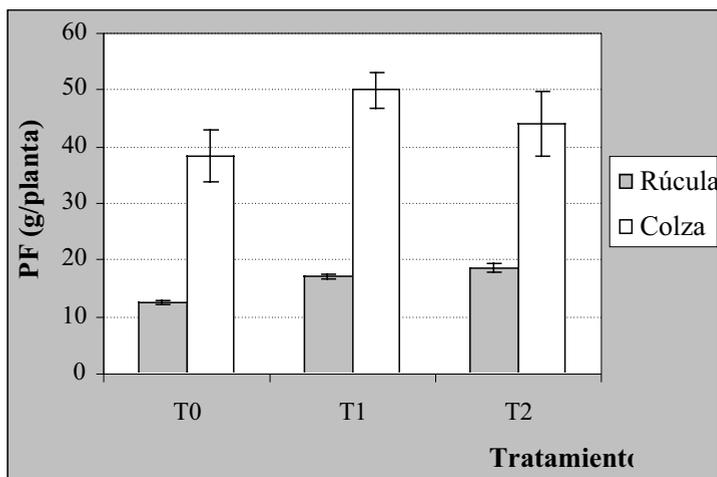


Figura 6. Rendimiento en peso fresco (PF) de *Brassica napus* (colza) y *Eruca sativa* (rúcula). Valor medio \pm DS; N = 5 para cada especie.

La producción de MS en los tratamientos con adición de LC también aumentó (Fig. 8) verificándose una correlación positiva para ambas especies entre el peso fresco y el peso seco. Otros autores como Desai *et al.* (1999), Patil y Sheelavantar (2000), Devi y Agarwal (1998) y Devi *et al.* (1998) también han comprobado el efecto positivo de LC sobre la producción de MS de diversos cultivos.

El crecimiento de la rúcula en suelos afectados por sedimentos contaminados (T0) fue significativamente menor que el obtenido en los tratamientos

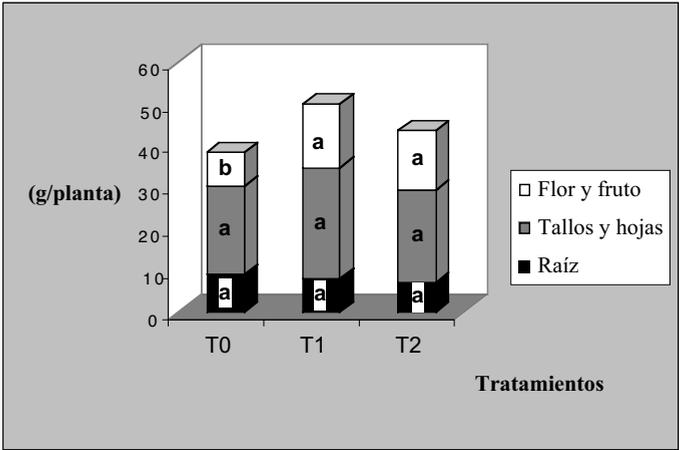


Figura 7. Partición del peso fresco entre (PF) raíz, tallos y hojas, y flor y fruto de *Brassica napus* (colza). Valor medio \pm DS; N = 5.

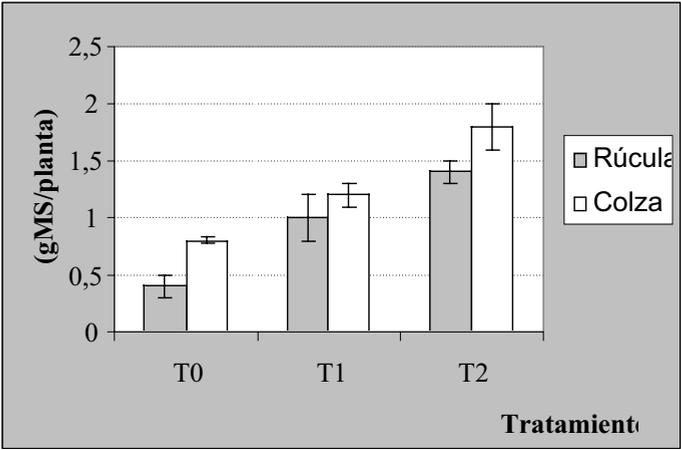


Figura 8. Producción de MS aérea en *Brassica napus* (colza) y *Eruca sativa* (rúcula). Valor medio \pm DS; N = 5 para cada especie.

con LC (T1 y T2). Fueron evidentes los síntomas de toxicidad (disminución del crecimiento y clorosis; Fig. 9) que podrían explicarse de acuerdo con lo observado por Kupper *et al.* (1999), quienes hicieron referencia a una sustitución del Mg por Hg, Cu, Cd, Ni, Zn y Pb en la clorofila, lo que lleva a una disminución de la fotosíntesis.

La concentración de Pb en hojas de rúcula (expresada sobre peso fresco) fue en el orden de 10 veces mayor que en hojas de colza y las correspondientes a Ni y Cd fueron también significativamente mayores (Fig. 4 y 5). Las concentraciones de Pb y Ni tanto en rúcula como en colza fueron significativamente menores en los tratamientos con adición de LC, lo que permite suponer que se produjo una disminución en la disponibilidad de estos metales en el suelo por efecto del material húmico.

A pesar de que la concentración total de Pb en el suelo ($150 \text{ mg Pb kg}^{-1}$), es inferior al nivel guía de calidad de suelos más exigente indicado en la Ley de Residuos peligrosos ($375 \text{ } \mu\text{g Pb g}^{-1}$, para uso agrícola; Ley 24.051; Decreto 831/93) para justificar una intervención para la remediación, la concentración del metal en hojas de rúcula superó el límite en alimentos fijado por el Código Alimentario Argentino (Resolución MSyAS N° 184, 1995) que es de 2 mg Pb kg^{-1} PF.

Es de particular interés el efecto de la adición de LC sobre la concentración de los tres metales en el fruto de colza; se observó una disminución muy importante para Pb y Ni, no detectándose presencia de Cd en los tratamientos T1 y T2 (Fig. 10).



Figura 9. Disminución de crecimiento en plantas de *Eruca sativa* (rúcula) en T0 con respecto a T1.

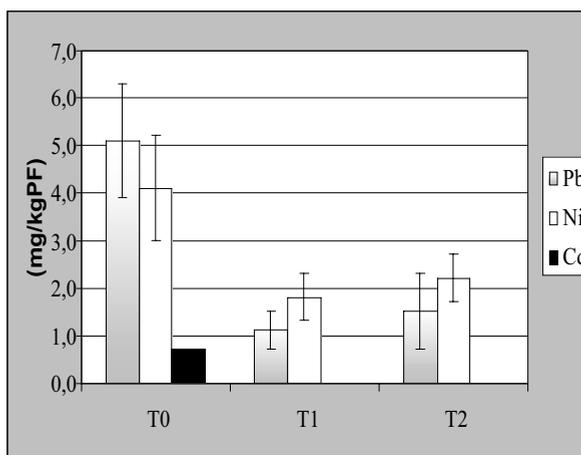


Figura 10. Concentración de metales en frutos de *Brassica napus* (colza) expresadas sobre preso fresco. Valor medio \pm DS; N = 5.

CONCLUSIONES

La respuesta de dos plantas de una misma familia (*Brasicáceas*), *Brassica napus* (colza) y *Eruca sativa* (rúcula), a la contaminación del suelo con Pb, Ni y Cd fue diferente. La rúcula acumuló metales en hojas (superando los límites aceptables en alimentos) a pesar de que la concentración total del metal en el suelo fue inferior a la que indica la legislación para justificar una acción de remediación.

La adición de las enmiendas orgánicas humificadas (LC) influyó de distinta manera sobre la bioacumulación de los tres metales, disminuyendo la disponibilidad y absorción por la planta del Pb y el Ni, pero no del Cd.

Por tanto, la aplicación de LC al suelo contaminado podría ser un tratamiento eficiente para la estabilización de Pb(II) o Ni(II).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adriano D.C., Chlopecka D.I., Kaplan H. y Vangronsveld J. 1997. Soil contamination and remediation: Philosophy, Science and Technology. P 465-504. En: R. PROST (ed.). *Contaminated Soils 3rd Int. Conf. on the Biogeochemistry of Trace Elements*. INRA Press, París.
- Arancon N.Q., Edwards C.A y Lee S. y Byrne R. 2006. Effects of humic acids from vermicomposts on plant growth. *European Journal of Soil Biology*, 42: S65-S69.

- Atiyeh R.M., Lee S., Edwards C.A. Arancon N.Q. y Metzger J.D. 2002. The influence of humic acids derived from earthwormsprocessed organic wastes on plant growth. *Bioresource Technology*, 84: 7-14.
- Berrow M.L. y Mitchel R.L. 1980. Location of trace elements in soil profiles: total and extractable contents of individual horizons. *Earth Sciences*, 71: 103-121.
- Baylock M.J., Salt D.E. Dushenkov S., Zakharova O., Gussman C., Kapulnik Y., Ensley B.D. y Raskin I. 1997. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. *Environmental Science and Technology*, 31:860-865.
- Bollo E. 1999. *Lombricultura:Una alternativa de reciclaje*. Soboc Grafic, Quito (Ecuador). 149 pp.
- Brooks R.R. 1997. Plant hyper-accumulation of metals and their role in mineral exploration, archaeology, and land remediation. En: *Remediation of Soils Contaminated with Metals*, A Iskandar y D.C. Adriano (eds.). Science Reviews, Northwood, (G. B.). Pp.: 123-134.
- Chlopecka A. y Adriano D.C. 1997. Influence of Zeolite, Apatite and Fe-Oxide on Cd and Pb Uptake by Crops. *The Science of the Total Environment*, 207: 195-206.
- Desai V.R., Sabale R.N. y Raundal P.V. 1999. Integrated Nitrogen management in wheat-coriander cropping system. *Journal of Maharashtra Agricultural Universities*, 24: 273-275.
- Devi D., y Agarwal S.K. 1998. Performance of sunflower hybrids as influenced by organic manure and fertilizer. *Journal of Oilseeds Research*, 15: 272-279.
- Devi D., Agarwal S.K. y Dayal D. 1998. Response of sunflower [*Helianthus annuus* (L.)] to organic manuresand fertilizers. *Indian Journal of Agronomy*, 43: 469-473.
- Emino E. y Warman P. 2004. Biological assay for compost quality. *Compost Science & Utilization*, 12: 342-348.
- Emmerich W.E., Lund L.J., Page A.L. y Chang A.C. 1982. Movement of heavy metals in sewage sludge-treated soils. *J. Environ. Qual.*, 11: 174-178.
- EPA. 1996. Guía del ciudadano: Medidas fitocorrectivas visitado: <www.clu-in.org/download/remed/spanphyt.pdf>.
- Finney E.E. 1987. *Impacts on soils related to industrial activities; II Incidental and accidental pollution* p259-280. En: H. Barth and P.L. L'Hermite (eds.) *Scientific Basis for soil protection in the European Community*. Elsevier Applied Science. Londres.
- Gariglio N.F., Buyatte M.A., Pilatti R.A., González Rossia D.E. y Acosta M.R. 2002. Use of a germination bioassay to test compost maturity of willow (*Salix* sp.) Sawdust. New Zealand. *Crop and Horticultural Sci.*, 30:135-139.
- Halim M., Conte P. y Piccolo A. 2003. Potential availability of heavy metals to phyto-extraction from contaminated soils induced by exogenous humic substances. *Chemosphere*, 52: 265-75.
- Hue N., Silva J. y Arifin R. 1988. Sewage sludge-soil interactions as measured by plant and soil chemical composition. *J. Environ. Qual.*, 17: 384-390.

- Kabata-Pendias A. y Pendias H. 2001. *Trace elements in soils and plants*. CRC Press, Boca Ratón (USA).
- Karmegam N. y Daniel T. 2000. Effect of biodigested slurry and vermicompost on the growth and yield of cowpea [*Vigna unguiculata* (L.)]. *Environment and Ecology* 18: 367–370.
- Kos B., Grčman H. y Leštan D. 2003. Phytoextraction of lead, zinc and cadmium from soil by selected plants. *Plant Soil Environ.*, 49: 548–553
- Kumar P.B.A.N, Dushenkov V., Motto H. y Raskin I. 1995. Phytoextraction: The use of plants to remove heavy metals from soils. *Environ. Sci. Tech.*, 29:1232-1238.
- Kupper H., Zhao F.J. y McGrath S., 1999. Cellular compartmentation of zinc in leaves of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant Physiology*, 119: 305-311.
- Levesque S.P. y Mathur M.P. 1988. Soil Tests For Copper, Iron, Manganese, And Zinc In Histosols. 3. A Comparison Of Eight Extractants For Measuring Active And Reserve Forms Of The Elements. *Soil Sci.*, 145: 215-221.
- Lindsay W. y Norvell W. 1978 Development Of A DTPA Test For Zinc, Iron, Manganese And Copper. *Soil Sci. Amer. J.*, 42: 421-428
- Martínez C. 1996. Potencial de la lombricultura: elementos básicos para su desarrollo. A. Carballo y S. Bravo (eds.), *Lombricultura técnica mexicana*, UACH, Texcoco (México). 140 pp.
- McBride M. 1994. *Environmental Chemistry of Soils*. Oxford University Press, New York.
- Meers E., Lamsal S., Vervaeke P., Hopgood M., Lust N. y Tack F.M.G. 2005. Availability of heavy metals for uptake by *Salix viminalis* on a moderately contaminated dredged sediment disposal site. *Environmental Pollution*, 137: 354-364.
- Miceli A., Moncada A. y Anna F.D. 2003. Effect of water salinity on seeds-germination of *Ocimum basilicum* L., *Eruca sativa* L. and *Petroselinum hortense* Hoffm. Proc. IS on Greenhouse Salinity. *Acta Hort.*, 609: 365-370
- Orlov D.S. 1995. Humic Status Of Soils And General Theory Of Humification. pp 235–286. En: Orlov-Grishina D. (ed) *Humic Substances On Soils And General Theory Of Humification*. Balkema, Rotterdam.
- Patil S.L. y Sheelavantar M.N. 2000. Effect of moisture conservation practices, organic sources and nitrogen levels on yield, water use and root development of rabi sorghum [*Sorghum bicolor* (L.)] in the vertisols of semiarid tropics. *Annals of Agricultural Research.*, 21: 32-36.
- Peijnenburg W.J.G.M., Posthuma L., Eijsackers H.J.P. y Allen H.E. 1997. A Conceptual Framework For Implementation Of Bioavailability Of Metals For Environmental Management Purposes. *Ecotox. Environ. Saf.*, 37: 163-172.
- Purves D. 1985. *Trace elements contamination of the environment*. Elsevier, Amsterdam. 273 pp.
- Raskin I., Nanda Kumar P.B.A., Dushenkov S. y Salt D.E. 1994. Bioconcentration of heavy metals by plants. *Current Opinion in Biotech.*, 5: 285-290.

- Raskin I. y Ensley B. 2000. *Phytoremediation of Toxic Metals. Using Plants to Clean the Environment*. J. Wiley & Sons, New York (USA). 304 pp.
- Rendina A.E., Premuzic Z., Barros M.J., García A.R., Bargiela M.F., Brichta J.P., Fonterosa S. y Iorio A.F. de. 2002. *Biodisponibilidad de metales pesados en sedimentos dragados*. XXIV Congreso Arg. de Química, Santa Fe (Argentina).
- Salt D.E., Pickering I.J., Prince R.C., Gleba D., Dushenkov S., Smith R.D. y Raskin, I. 1997. Metal accumulation by aquacultured seedlings of Indian mustard . *Environ. Sci. Technol.* 31: 1636-1644.
- Tordoff G.M., Baker A.J.M. y Willis A.J. 2000. Current approaches to the revegetation and reclamation of metalliferous mine wastes. *Chemosphere*, 41: 219-228
- Wong M.H. 2003. Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere*, 50: 775-780.

NUEVAS METODOLOGÍAS EFICIENTES DE REMOCIÓN Y RECUPERACIÓN DE METALES PESADOS DE LAS SOLUCIONES RESIDUALES INDUSTRIALES Y DE MINERÍA

Fernando Valenzuela, Claudio Araneda,
Carlos Basualto y Jaime Sapag-Hagar

Laboratorio de Operaciones Unitarias, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Av. Vicuña Mackenna 20, Providencia, Santiago (Chile).
E-mail: <fvalenzu@uchile.cl>; <caraneda@ciq.uchile.cl>.

Resumen: Se revisan las principales tecnologías de remoción y/o recuperación de metales pesados de aguas residuales industriales y de minería, empleadas en procesos prácticos de descontaminación. Se describen y comparan con ellas dos nuevas metodologías que se encuentran aún en estado de investigación a escala de laboratorio o a escala piloto, cuales son las del empleo de Membranas Líquidas Emulsificadas (MLE) y la de Microencapsulación de Extractantes (MCEx). Se revisa la forma experimental de aplicarlas y se indican resultados de avance en su aplicación a soluciones acuosas residuales reales o que las simulan. Se concluye que ambas metodologías son muy prometedoras y de elevado potencial de aplicación industrial debido a las ventajas técnicas y económicas que presentarían al emplear compuestos comerciales de bajo costo, así como a la simplicidad y eficiencia operacional que ofrecen.

Palabras clave: Iones Metálicos, Tratamiento de Agua, Hidrometalurgia, Extractantes.

New efficient methodologies for removal and recovery of heavy metals from industrial and mining waste solutions

Abstract: *The main technologies used in these days in practical decontamination processes for removing and recovering heavy metals from industrial and mining waste waters are reviewed. Two novel methodologies are described and compared with those conventional; these are the use of Surfactant Liquid Membranes and Microencapsulation of Extractants, which are still in a laboratory or pilot-scale research stage. Their experimental procedures are reviewed, indicating advance results of their application to actual waste solutions or to solutions that simulate them. It is concluded that both methodologies are promising having a huge potential for industrial applications due to their technical and economical advantages, considering that both treatment systems employ commercial and low cost compounds offering a simple and efficient operation.*

Key words: Metallic Ions, Water Treatment, Hydrometallurgy, Extractants.

1. INTRODUCCIÓN

Es habitual en la práctica hidrometalúrgica, e industrial en general, la necesidad de concentrar metales que se encuentran diluidos en las soluciones que los contienen, tanto punto de vista metalúrgico para lograr la recuperación de ciertos valores metálicos de interés, como desde el punto de vista ambiental con el propósito de eliminarlos y cumplir así con las regulaciones vigentes. Esa es, por ejemplo, la situación de las denominadas “aguas de drenajes ácidos de mina”, también la de muchas soluciones de descarte de procesos de flotación, extracción por solventes y de lixiviación química y bacteriana de minerales y, en general, de todo tipo de aguas residuales de procesos de manufactura industrial (riles). Muchos de los metales encontrados en este tipo de soluciones pueden constituir, por un lado, una fuente potencial para la obtención de metales valiosos, escasos de conseguir o en estado crítico por su costosa explotación. Además, por otro lado, el contenido de estos metales en solución pueden representar un peligro ambiental dada su toxicidad.

En Chile, tanto en la actividad química industrial como en faenas minero-metalúrgicas, se generan gran cantidad de soluciones acuosas residuales (riles) que contienen gran variedad de contaminantes ambientales, incluyendo variadas concentraciones de metales pesados y niveles de acidez y de aniones, tales como sulfatos y cloruros, superando la Norma ambiental que rige el vertimiento de desechos industriales a cuerpos de aguas continentales (Comisión Nacional del Medio Ambiente, Chile. Decreto Supremo N° 90/2000).

De hecho, en casi todas las minas de Cu de Chile los drenajes de mina suelen contener, además de su alta acidez, hasta 500 mg Cu L^{-1} de Cu, $100\text{-}200 \text{ mg Zn L}^{-1}$ de Zn y, en algunos casos, también Co, Ni, Fe, Mo, *etc.*, pudiéndose estimar que de dichos drenajes se podrían recuperar cantidades muy altas de estos metales, al considerar los flujos volumétricos (caudales) generados. Sin embargo, en este tipo de soluciones, como también en general en las aguas residuales industriales, las concentraciones de los iones metálicos valiosos o los que constituyen impurezas, son normalmente bajas, lo que dificulta su remoción o recuperación técnica y económica para la gran mayoría de las tecnologías hoy disponibles.

La actividad minera se desarrolla principalmente en la zona Norte y central de Chile, generando problemas de contaminación en regiones donde los caudales disponibles para dilución son nulos o muy pequeños. En relación con el manejo de riles, más del 60 % de la descargas industriales se disponen en la redes de alcantarillado, mezclándose con las descargas domésticas, y se depositan en la cuenca a través del sistema hidrográfico y canales de riego, o son vertidos al suelo o directamente al mar. Esta situación se ha visto aumentada por el sostenido crecimiento económico y el desarrollo social experimentado en el país a partir de la década de los 90, lo que ha generado demandas cada vez mayores sobre los recursos hídricos. Se ha establecido que, de la región Metropolitana al Norte, las demandas superan el caudal

disponible, siendo la relación demanda-disponibilidad substancialmente más favorable hacia el Sur de Chile.

Entre las metodologías convencionales existentes de remoción y/o recuperación de metales pesados de las soluciones acuosas se puede indicar (entre las de mayor uso) la precipitación química, el intercambio iónico con resinas sólidas (IX), la extracción con solventes mediante extractantes líquidos (procesos SX), el uso de adsorbentes naturales y métodos biológicos de biosorción, todas las cuales a menudo presentan variadas dificultades.

En el caso de la **precipitación química** (Chen *et al.* 2008; Kravchenko *et al.* 2008) los principales problemas son la redisolución de muchos precipitados, lo inoperable en términos prácticos cuando se deben tratar soluciones diluidas y la adición de un gran volumen de reactivos químicos que pasan a constituirse en contaminantes secundarios.

Los procesos de **intercambio iónico con resinas sólidas (IX)** (Galán *et al.* 2008; Wormsa y Wilkinson 2008) en sí son engorrosos al tener que regenerar permanentemente las resinas, la desorción posterior de los metales de éstas es compleja y no siempre cuantitativa y la presencia de sólidos suspendidos y/o la existencia de compuestos orgánicos disueltos, frecuentemente encontrados en este tipo de soluciones, torna su uso poco eficaz. En general, presentan una baja selectividad en la extracción de iones metálicos, co-extrayendo y saturándose muchas veces con iones diferentes a los de interés. De hecho, hoy sólo se emplean en ablandamiento de aguas y en pre-concentrar algunos metales en soluciones acuosas, previos a procesos más efectivos como los SX. Existen algunas resinas IX de alta selectividad (Wu y Gorden 2008), pero sólo están disponibles para un limitado número de iones, y son muy costosas dada su síntesis, siendo producidas sólo por pocas compañías industriales transnacionales.

Los procesos convencionales de **extracción por solventes** en reactores mezcladores-decantadores (Deligoz y Erdem 2008; Jung *et al.* 2008) corresponden a una tecnología que se ha venido usando para la recuperación y remoción de metales en hidrometalurgia (Ritcey 2006). De hecho en Chile existen más de 35 plantas industriales asociadas a la actividad minera, especialmente de empleo en la extracción de Cu, Mo, Re y Au, entre otros. Este proceso es una técnica atractiva para la separación y concentración de iones metálicos de las soluciones acuosas, dado que es capaz de lograr separaciones altamente selectivas y concentrar el metal de interés mediante un extractante apropiado. Sin embargo, es una alternativa técnica no exenta de dificultades, presenta limitaciones en tratamientos de soluciones diluidas, requiere múltiples ciclos de extracción y retroextracción y precisan de una gran área para obtener una separación favorable, lo que encarece sus costos de operación; también precisa de un enorme inventario de solventes, sumada a dificultades de funcionamiento (como son los problemas de pérdida de solvente por formación de “crud” o borra en la interfase acuosa/orgánica

debido a la presencia de partículas sólidas en suspensión), o bien por arrastre mecánico de una fase en otra (*entrainment*), volatilización y degradación de los reactivos orgánicos.

El uso de muy variados **adsorbentes naturales** (Ulmanu *et al.* 2003; Wan Ngah y Hanafiah 2008) ha sido también empleado en la remoción o eliminación de iones metálicos de las aguas residuales. Existen hoy varios materiales porosos adsorbentes de diversas especies contaminantes, incluidos iones metálicos, factibles de emplear en el tratamiento de todo tipo de aguas. Varios de ellos son eficientes pero caros o bien son poco selectivos y, si bien en algunos casos su uso se justifica si sólo se trata de descontaminar, impiden la recuperación de algunos de estos metales de valor económico. En la literatura técnica se indican adsorbentes inorgánicos, tales como zeolitas (Ostroski *et al.* 2008), varias arcillas, bentonitas, caolinitas, óxidos de Fe y Al (Xu *et al.* 2008), adsorbentes orgánicos, como carbones activados (Khezami y Capart 2005), quitosano (Crini y Badot 2008), celulosa (O'Connell *et al.* 2008) y adsorbentes organo-minerales incluyendo alofanos y alúminas modificadas con tensoactivos. Todos ellos con distintas propiedades y actividad adsorbente y con aplicaciones comprobadas o potenciales para remover preferentemente contaminantes de naturaleza orgánica y metales pesados. Sin embargo, su extracción y concentración es costosa y suelen ser de aplicación colectiva y no específica de algún metal en particular.

Entre ellos merece atención especial el uso del **quitosano** (Valenzuela y Agulló 2004). Este compuesto es el derivado más importante de la quitina (poli- β -1,4-desoxi-acetil-D-glucosamina) y ha atraído la atención de muchos investigadores en los últimos años debido a su capacidad de adsorber iones de metales pesados. Corresponde a un polímero natural que se encuentra en el caparazón de crustáceos (como centollas, cangrejos, langostas, *krill* antártico, *etc.*) y en algunos insectos y plantas inferiores y que presenta un mecanismo de adsorción mixto basado en fenómenos físicos (hinchamiento o *swelling*) y químico a través de sus grupos funcionales; es insoluble en agua, aunque más soluble mientras más ácido es el medio, lo que limita su empleo en muchos riles que presentan bajo pH, como suelen ser los de la minería.

Los métodos biológicos factibles de aplicar en este campo residen básicamente en los denominados procesos de **biosorción** (Apiratikul y Pavaasant 2008; Krishnani *et al.* 2008), en el cual los metales pesados son adsorbidos sobre la superficie de biomasa de organismos vivos o muertos. La adsorción puede ser física o química vía intercambio iónico. En la literatura técnica es posible encontrar estudios con variados microorganismos tales como bacterias, hongos y microalgas, entre otros. Corresponde a una tecnología de bajo costo, que presenta algunas deficiencias operacionales cuya mayor limitante es que actualmente sólo se entiende como una etapa final de remoción de metales, necesariamente posterior a un pre-tratamiento por métodos convencionales. Es decir, no es posible aplicarla directamente cuando los contenidos de algunos iones metálicos superan los 20 mg L⁻¹, nivel muy bajo en aguas

de la minería, por ejemplo. Sin embargo, es una metodología interesante, de fácil aplicación en columnas, que permite reducir los contenidos metálicos de acuerdo a las normas ambientales internacionales (Cotorás *et al.*, U.S. Pat. 2008).

Todas estas limitaciones de aplicación práctica de estas tecnologías hacen necesario, por tanto, desarrollar cada vez más *técnicas más eficientes* para la recuperación o remoción de metales básicos (más frecuentes) y metales menos frecuentes, como son, por ejemplo, Cr, Cd, Hg, Pb, incluso tierras raras, desde soluciones residuales industriales o de descarte de la minería.

De especial interés (por su potencialidad de aplicación industrial, dada su simplicidad y capacidad de tratamiento de grandes volúmenes de aguas), se desea destacar, entre las nuevas metodologías, los procesos de **Membranas Líquidas Surfactantes** y la de **Microencapsulación de Extractantes** no-específicos, ambas desarrolladas en extenso en nuestro grupo de investigación aplicada.

El propósito de estos trabajos fue: 1) Recuperar o remover cuantitativamente los metales; y 2) estudiar los fenómenos físicos y químicos involucrados, asociados a mecanismos de transferencia de masa con reacción química y sustentados por los correspondientes modelos matemáticos.

2. MEMBRANAS LÍQUIDAS SURFACTANTES

2.1. *Procedimiento experimental*

Existen dos tipos de Membranas Líquidas (ML) de uso posible en hidro-metalurgia. Las denominadas *de soporte sólido* (MLSS) (Marchese *et al.* 2004; Valenzuela *et al.* 1999) constituidas por una matriz polimérica delgada y de alta porosidad en la cual queda retenido por capilaridad el solvente orgánico que contiene la molécula extractante transportadora del o los metales presentes en solución; estas membranas aún presentan serias deficiencias de operación, lo que limita su empleo. Y *las membranas líquidas emulsificadas* (señaladas en adelante como MLE) o membranas líquidas surfactantes (Valenzuela *et al.* 2005-a; Valenzuela *et al.* 2005-b), las cuales corresponden a una doble emulsión agua/aceite/agua, *W/O/W (Water/Oil/Water)*, cuya utilización en aplicaciones industriales es realmente prometedora.

El proceso mediante MLE presentaría la habilidad de satisfacer tanto la posibilidad de extraer, separar y concentrar selectivamente o colectivamente (dependiendo de los extractantes escogidos) metales presentes en forma diluida en soluciones acuosas a una alta velocidad, utilizando una delgada membrana líquida que presenta una gran área interfacial, en un menor número de etapas y empleando sólo un volumen muy pequeño de solvente orgánico. Por tanto, se puede anticipar que la aplicación de los procesos mediante MLE será altamente apropiada en los campos de la

hidrometalurgia y los procesos de tratamiento de aguas residuales, tanto desde el punto de vista del reciclaje de recursos industriales como de la conservación de energía.

Experimentalmente, en la primera etapa, la fase orgánica y la solución acuosa interna (de *stripping*) se combinan para formar una emulsión estable mediante una intensa agitación mecánica, empleando habitualmente una velocidad variable en el rango entre 1000 a 10.000 rpm, conformándose así la emulsión primaria. Luego esta emulsión es contactada con la solución dadora (de alimentación) que contiene los metales a extraer, mediante una agitación moderada (200 a 400 rpm) de manera de formar pequeños glóbulos de la emulsión al interior de la alimentación, constituyéndose así la doble emulsión.

Una vez ocurrida la extracción del metal mediante transporte por permeación la emulsión, cargada con el o los metales, se separa de la fase de refinado (alimentación residual pobre ahora en los metales) y se transfiere a un sistema que provoque la ruptura de la emulsión para recuperar tanto la solución acuosa interna (ahora cargada con los metales de interés), como la fase orgánica. Una vez separado el metal en forma sencilla de la solución de retroextracción (cristalización o EW) dicha fase y el solvente orgánico se reciclan a la etapa inicial para formación de más emulsión. Existen varias formas de lograr la ruptura de la emulsión. Entre ellas se han probado la centrifugación, calentamiento, separación ultrasónica y métodos electrostáticos, los más simples, eficientes y económicos de aplicar a escala industrial.

Es claro que las MLE corresponden a una emulsión del tipo “agua en aceite en agua” conocidas como doble emulsión *W/O/W*. Tal como se observa en la Fig. 1 la solución de retroextracción (denominada comúnmente fase acuosa interna y que constituye la fase acuosa aceptora de los metales) y la fase orgánica (extractante transportador y un surfactante en diluyente orgánico) son emulsificadas mediante una altísima velocidad de agitación hasta el punto de formar muy pequeñas gotas de la fase acuosa interna dispersas o encapsuladas en el solvente orgánico. Este debe contener un reactivo convencional SX escogido en forma selectiva o colectiva para uno o más metales, de acuerdo a las isotermas de extracción, el cual facilita el transporte del metal a través de la membrana orgánica al actuar como transportador (“*carrier*”) de él mediante mecanismo facilitado o de transporte acoplado.

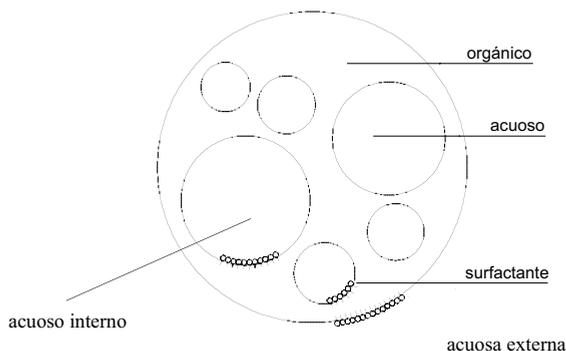


Figura 1. Esquema de los glóbulos de la doble emulsión.

La solución orgánica debe ser inmisible con ambas soluciones acuosas (alimentación y retroextracción) de modo que la emulsión sea estable. Normalmente se le debe adicionar un agente superficialmente activo (tensoactivo o surfactante), el cual se emplea para estabilizar aún más la emulsión. Como es conocido estos compuestos que se ordenan en la superficie de la gota o glóbulo de la membrana emulsionada poseen una cabeza polar hidrofílica (que se orienta al interior de las fases acuosas) y su “cola” apolar lipofílica, constituida por largas cadenas alquílicas (orientada al interior de la gota orgánica).

El empleo de extractores de MLE ofrecería, entre otras ventajas con respecto a los extractores convencionales (SX), principalmente la de provocar un enorme ahorro en el inventario de solvente (normalmente caros), al ser necesario emplear un reducidísimo volumen de él, dada la operación simultánea de las etapas de extracción y de retroextracción (lo que también provoca un ahorro en el tamaño de la etapa de extracción de la planta).

2.2. Fundamentos teóricos asociados a MLE

La utilización de las MLE sería muy atractiva para la extracción y/o remoción de metales desde soluciones diluidas. Quién primero las estudió fue Li (1973), a quién se le adjudica su invención. Desde el año 1980 varios grupos de investigación en USA, Japón y Europa han venido realizando varios progresos en este campo, destacándose los aportes de Lorbach y Hatton (1988) en MIT, Draxler y Marr (1986) en Austria, Völkel, Halwachs y Schügerl (1980) en Alemania y Nakashio *et al.* (1988) en Japón. Inicialmente Cahn y Li (1976) se centraron en la separación de hidrocarburos y en la remoción de constituyentes disueltos en soluciones acuosas, como ácido fosfórico, nitrato de Na y amoníaco. También se ha propuesto el uso de MLE

en la extracción de contaminantes (fenol, metales, ácidos orgánicos, etc.) de las aguas residuales industriales.

Esta tecnología sería superior a la convencional de extracción con solventes en reactores “*mixer-settlers*”, tanto desde el punto de vista del capital de inversión requerido como respecto a los costos operacionales, debido a que en MLE el número de etapas requeridas y la pérdida de solución orgánica son menores que en el caso de SX. Por ejemplo, en un estudio de remoción de Cu de las soluciones ácidas de lixiviación, a partir de pruebas de laboratorio, la evaluación concluyó que la técnica mediante MLE para tratar una solución ácida como la indicada con $2,5 \text{ g L}^{-1}$ de Cu presentaría un 40 % de ahorro en inversión respecto al proceso SX; en dicho estudio se indica que los costos operacionales serían comparables y del orden de 1,7 centavos de US\$ por libra de Cu obtenido (unos 2,5 céntimos de euro por kg).

La extracción de iones metálicos mediante MLE se regiría por un proceso de transferencia de masa con reacción química, de acuerdo al siguiente mecanismo químico:

- I. Etapa I: El metal reaccionaría químicamente en la etapa de extracción con la molécula extractante transportadora de acuerdo al tipo de especie que el ion metálico esté formando en solución acuosa y a la funcionalidad del extractante.
 - a) Si el metal está formando especies catiónicas se deberá escoger un extractante ácido, con el cual sufrirá reacciones de intercambio catiónico.
 - b) Si el metal está formando especies aniónicas en solución se deberá escoger un extractante básico con el cual sufrirá reacciones de intercambio aniónico.
 - c) Si el metal está formando especies neutras en solución el extractante a escoger deberá actuar mediante solvatación, extrayendo simultáneamente catión y anión.

- II. Etapa II: Producida la formación de la especie compleja metal-extractante en la fase orgánica su ruptura ocurriría en la interfase de *stripping* en una etapa de retroextracción, siguiendo un mecanismo coherente con la reacción de extracción (Etapa I).
 - a) Si se emplea un extractante ácido la ruptura del complejo se debe realizar con soluciones fuertemente ácidas.
 - b) Si se emplea un extractante básico la ruptura del complejo se debe realizar con soluciones fuertemente alcalinas.
 - c) Si se emplea un extractante que actúa por solvatación la ruptura del complejo se debe realizar preferentemente con soluciones neutras.

Desde el punto de vista del fenómeno de transferencia de masa involucrado, los iones metálicos son separados y concentrados desde la fase acuosa externa (alimentación) hacia la fase acuosa interna aceptora en la emulsión aceite en agua (*O/W*), de acuerdo al siguiente mecanismo ilustrado en la Fig. 2:

- 1) Difusión de los iones metálicos hacia la superficie externa de los glóbulos de la emulsión.
- 2) Formación del complejo metal/extractante mediante reacción interfacial en la interfase externa, de acuerdo a la Etapa I del mecanismo químico (reacción de extracción).
- 3) Difusión del complejo metal-extractante (MR_2) al interior de la fase membrana líquida.
- 4) Ruptura del complejo metal-extractante en la interfase interna de la emulsión *O/W*, de acuerdo a la Etapa II del mecanismo químico (reacción de retroextracción).
- 5) Difusión del metal liberado hacia el seno de la fase acuosa interna y difusión del extractante (HR) descargado del metal hacia la interfase externa.

Se supone que el transporte (separación) selectivo del metal ocurriría en la etapa 2 del mecanismo de transferencia de masa. Si se escogen acertadamente extractantes transportadores muy afines hacia los metales de interés, los iones de estos permearán selectivamente hacia la fase acuosa aceptora (interna de *stripping*), contra un gradiente de concentración, lo que se denomina “transporte facilitado”. Si, además, ocurre en sentido inverso

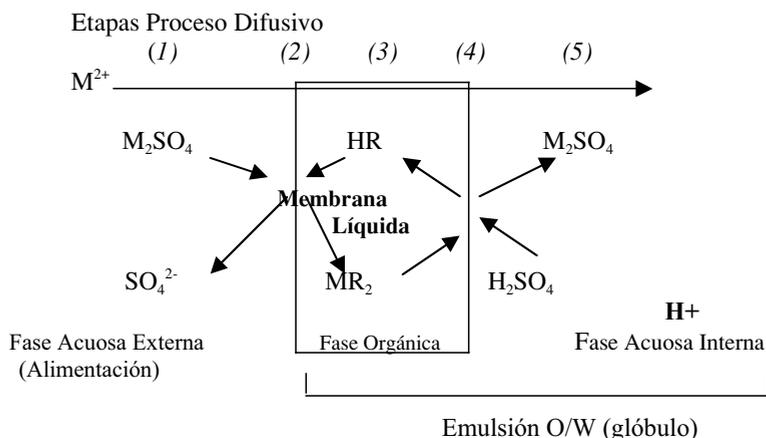


Figura 2. Representación esquemática de la permeación del metal en la MLE. Este esquema supone transporte de metal catiónico M^{2+} y extractante ácido HR .

el transporte de otras especies (ej., H^+ , OH^- , aniones, etc.) se denomina “transporte acoplado”, situación que es la normal al emplear moléculas extractantes que funcionan mediante intercambio iónico. Es claro que el éxito del proceso se basa en conocer la especiación química en solución acuosa de los metales a extraer, lo que define el tipo de extractante a usar en la MLE.

2.3. Resultados y discusión

De acuerdo a lo explicado la presencia de un reactivo surfactante es fundamental para lograr la estabilización de la membrana líquida. En un trabajo reciente (Valenzuela *et al.* 2003), se estudió la influencia del tensoactivo no iónico monooleato de sorbitol (conocido comercialmente como *Span-80*), sobre el transporte acoplado de iones $Cu(II)$ en un reactor de membrana; como transportador del metal se empleó el compuesto 5-nonilsalicilaldoxima (LIX-860 NIC) disuelto en keroseno. El contenido inicial de cobre en la alimentación fue de 800 mg Cu L^{-1} . Los resultados indicaron que el surfactante presentó una marcada actividad interfacial, mayor a la del extractante, el cual también sería adsorbido en la interfase fase acuosa de alimentación/fase orgánica constitutiva de la membrana líquida, generándose una competencia por los sitios activos de adsorción. A partir de los resultados experimentales se calculó el área interfacial ocupada por mol de tensoactivo, la constante de equilibrio de adsorción y su concentración micelar crítica. El surfactante por sí mismo no extrajo Cu , siendo la extracción de este metal beneficiada por la disminución de la acidez de la fase acuosa de alimentación. El tensoactivo, efectivamente, aceleró la permeabilidad del metal a través de la membrana cuando se empleó una cantidad mínima en la fase orgánica. En tales condiciones experimentales la velocidad de transporte del metal en la ML estuvo controlada por la difusión de las especies químicas en ella. Además, se comprobó que la aparente permeabilidad del metal aumenta con el aumento del contenido del extractante transportador en la fase orgánica. Se propuso un mecanismo de transporte del metal en la membrana basado en la reacción interfacial heterogénea que ocurre en la interfase acuosa/orgánica, acelerada por la presencia del tensoactivo.

Esta información resultó ser muy valiosa en el estudio práctico de eliminación de este metal desde un agua residual de la actividad minera de la zona central de Chile mediante esta tecnología de membranas líquidas emulsionadas (Valenzuela *et al.* 2005-a). En un principio se empleó un diseño experimental que permitió evaluar el efecto de las principales variables y sus interrelaciones que afectan el proceso. Empleando el mismo extractante transportador (LIX-860 NIC) y el mismo compuesto tensoactivo (*Span-80*), cuyas estructuras se presentan en la Fig. 3, la membrana permitió una muy eficiente remoción del metal desde la solución de alimentación (contenido inicial de Cu de $1,0 \text{ g Cu L}^{-1}$) que lo contenía hacia la solución de retroextracción (*stripping*) donde se concentró, mediante un tanque agitado en *batch*. De los resultados

experimentales se dedujo que las variables estadísticamente significativas en el proceso fueron la concentración del extractante en la membrana y la velocidad y el tiempo de agitación de la doble emulsión. Sin embargo, no es posible aumentar en exceso el contenido del extractante en la ML, pues podría ocurrir un aumento excesivo de la viscosidad de ésta, afectando la difusión de las especies en el proceso y, por tanto, el proceso de transferencia de masa y favoreciéndose la ruptura prematura de la emulsión. También un exceso de la velocidad de agitación en el reactor produciría coalescencia de los glóbulos de la emulsión afectando su estabilidad. Igualmente, un exceso de surfactante en la ML tendería a disminuir el transporte del metal al contribuir a aumentar la resistencia interfacial.

En otro trabajo (Valenzuela *et al.* 2005-b) se estudió la remoción de Cu de una muestra de un drenaje ácido de mina (DAM) utilizando un contactor de MLE y empleando el mismo extractante oxímico y el mismo tensoactivo en keroseno. Los drenajes ácidos de mina corresponden a soluciones ácidas muy dañinas, generadas por fenómenos de biolixiviación y lixiviación química de depósitos sulfurados de Cu, Fe y otros metales, asociados a yacimientos de metales de transición. El drenaje usado en este trabajo fue obtenido de minas de Cu en nuestro país y corresponde a un agua natural muy ácida y con una carga de metales pesados tóxicos y peligrosos, normalmente superando la Norma ambiental que los regula. Pero aún a concentraciones bajas la remoción es antieconómica por los procesos convencionales nombrados en esta revisión. El empleo del reactor de MLE utilizado en este estudio permitió una excelente remoción del metal, permitiendo su separación y concentración en una solución de *stripping*, siendo sencilla su recuperación final. Considerando que el proceso de transporte del metal en la ML es controlado por un mecanismo de transferencia de masa con

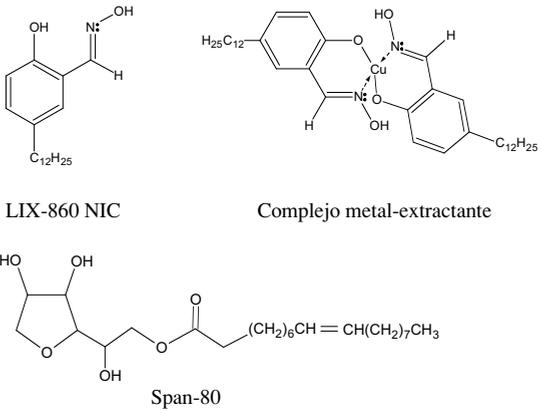


Figura 3. Estructuras del extractante LIX-860 NIC, su complejo con el metal y del surfactante Span-80.

reacción química y que en el diseño de un reactor a escala industrial se requiere conocer los factores que afectan la cinética del proceso, se procedió a estudiar las variables que la afectan. Se comprobó que la velocidad inicial de extracción del metal era afectada por la concentración del extractante transportador en la ML y por el pH y el contenido del metal (variable entre 200 a 600 mg Cu L⁻¹) en el drenaje ácido, tal como se observa en las Fig. 4 y 5. Se requirió un mínimo de compuesto surfactante para estabilizar la membrana. Se dedujo un mecanismo de transporte del metal basado en un modelo difusivo que incluye la reacción química de extracción entre el metal y el transportador.

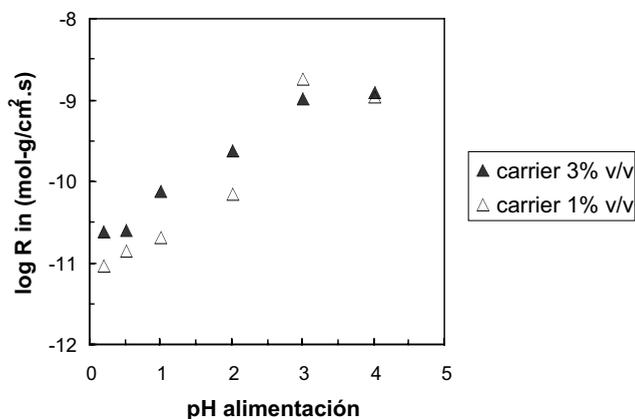


Figura 4. Efecto de la concentración del extractante en la ML sobre la velocidad inicial de extracción.

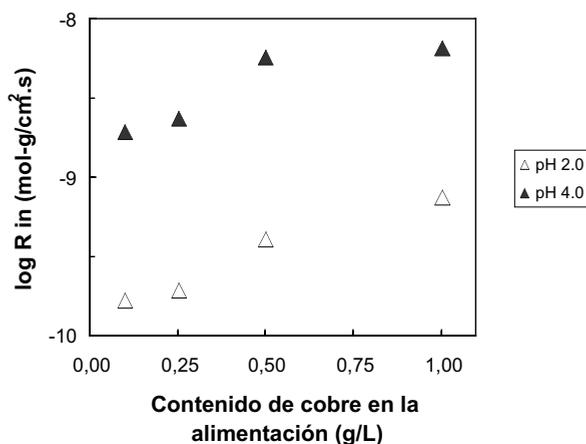
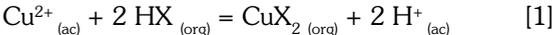


Figura 5. Efecto del pH y la concentración del metal del DAM sobre la velocidad inicial de extracción.

El modelo supone que las gotas interiores de la doble emulsión, es decir aquellas de la fase de retroextracción se mueven libremente dentro de la gota orgánica que conforma la ML y, además, que la reacción de *stripping* es instantánea. Los resultados experimentales se correlacionan bien con el modelo, especialmente bajo condiciones experimentales donde las dificultades de *swelling* y *breakdown* (ruptura) de la emulsión están controladas (Valenzuela *et al.* 2008), tal como se observa en la Fig. 6, en la cual se comparan los valores experimentalmente observados con los calculados por el modelo.

La reacción química corresponde, en este caso, a un típico intercambio de cationes entre el extractante transportador ácido y el metal en su especie catiónica, de acuerdo con:



donde HX y CuX_2 representan el extractante quelante oxímico y su complejo con el metal, respectivamente. Los sufijos (ac) y (org) denotan fase acuosa y fase orgánica.

Se observó que la reacción de *stripping* ocurre en forma muy rápida y que la extracción del metal es independiente del contenido de ácido sulfúrico como agente de retroextracción en el licor de *stripping*, ambos factores indicativos de que esta etapa no tendría efecto sobre la velocidad global del proceso de extracción. El modelo teórico deducido interpretó muy bien los valores experimentalmente observados, particularmente en condiciones de más bajo pH del DAM y a menores contenidos del extractante en la ML.

Se ha aplicado también con éxito el uso de esta tecnología en la remoción de iones Zn(II) de un efluente acuoso de origen industrial (Valenzuela *et al.* 2005-c). En este caso se empleó como extractante transportador el

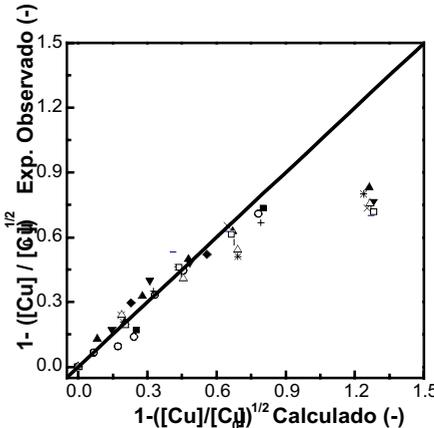


Figura 6. Comparación de los valores experimentales observados con los del modelo.

compuesto *PC-88A* (mono-éster-2-etilhexil del ácido 2-etilhexilfosfónico) y como surfactante el tensoactivo comercial *Span-80*, ambos disueltos en kerosene, conformando la membrana líquida. Se empleó un reactor del tipo tanque agitado en *batch*, lográndose en breves minutos un transporte muy selectivo y eficiente del 99,32 % del Zn hacia la solución acuosa aceptora. A partir del análisis de varianza de los datos experimentales obtenidos fue posible modelar matemáticamente el sistema de transporte del metal mediante una ecuación de regresión. Confirmando lo obtenido en el trabajo indicado anteriormente para Cu las variables estadísticamente significativas fueron la concentración del extractante y la velocidad y el tiempo de agitación durante la formación de la doble emulsión, tal como se observa en la Fig. 7. El extractante jugó un papel fundamental en el proceso de permeación del metal a través de la ML, aún cuando presenta una menor actividad interfacial que el tensoactivo. Este estabilizó la emulsión por reducción de la tensión interfacial evitando la coalescencia de las pequeñas gotas de la emulsión.

Se realizó un estudio similar de separación de iones Zn(II) de un drenaje ácido de mina próximo a un depósito de Cu de la región andina de Chile (Valenzuela *et al.* 2007). En este caso se empleó como transportador el di-éster-2-etilhexil del ácido 2-etilhexilfosfórico, conocido comercialmente como *D2EHPA*, de amplio uso en plantas industriales SX de recuperación de diversos iones metálicos. Desde el punto de vista químico se estudió el efecto de varias variables sobre el grado de extracción y sobre la cinética del proceso. Se requirió un contenido mínimo de H_2SO_4 de 100 g L^{-1} en la solución acuosa aceptora para asegurar un gradiente de acidez entre ambas fases acuosas para promover la permeación de los iones cinc hacia el licor de *stripping*. La extracción del metal se favoreció ajustando el pH de la fase acuosa de alimentación a alrededor de 4,0, requiriéndose tan sólo un 3 % v/v de extractante en la ML, tal como se observa en las Fig. 8 y 9 referidas al equilibrio y a la cinética de extracción del metal.

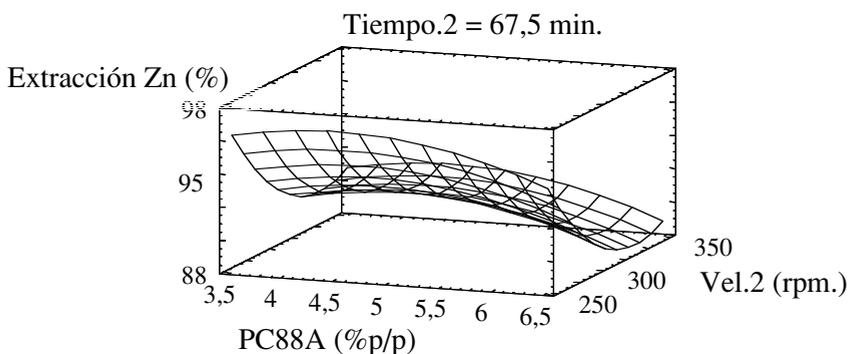
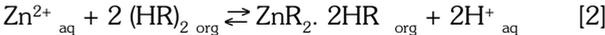


Figura 7. Variables significativas en la extracción de Zn(II) con *PC-88A*.

Es claro que al emplear ML se precisa un inventario de extractante muchísimo menor al requerido en una extracción líquido-líquido convencional, confirmando una de las ventajas económicas de esta metodología. Los resultados experimentales indicaron que a pH mayores la velocidad del proceso estaría regulada por la difusión de las especies en la película de la fase acuosa externa próxima a la ML, mientras que a pH menores a 3,0 la cinética del proceso estaría controlada por la reacción química del metal y el extractante en la interfase externa de la membrana, representada en las siguiente ecuación:



donde HR, $(\text{HR})_2$ y $\text{ZnR}_2 \cdot 2\text{HR}$ representan el extractante ácido, el dímero de él y el complejo con el metal, donde se observa que se requieren 2 moles

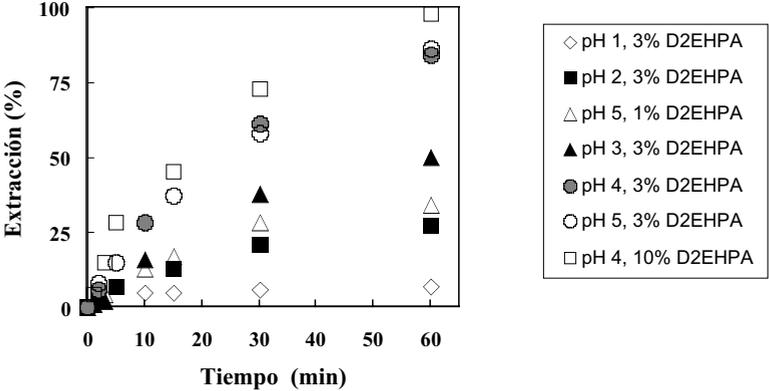


Figura 8. Equilibrio de extracción de Zn(II) con D2EHPA.

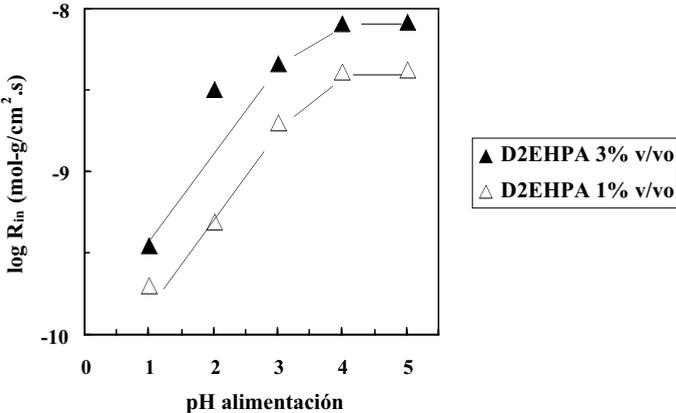


Figura 9. Cinética de extracción de Zn(II) con D2EHPA.

del transportador para enlazarse al metal y dos más que solvatan la estructura del complejo formado (Sato *et al.* 1987). El mismo extractante transportador y la misma sustancia surfactante se emplearon en la remoción de Cd(II), metal muy tóxico y factible de encontrar en una serie de soluciones acuosas residuales de procesos químicos industriales y de la minería (Basualto *et al.* 2006). La Norma que regula su descarga a cuerpos de aguas superficiales y subterráneas fija como valor máximo de concentración en el ril de $20 \mu\text{g Cd L}^{-1}$ (Comisión Nacional del Medio Ambiente, Chile. Decreto Supremo N° 90/2000). Los métodos convencionales de remoción hacen muy complejo llegar a esos niveles; sin embargo, empleando un reactor de MLE del tipo “celda agitada”, en el cual se reducen los riesgos operacionales del tipo *swelling* (hinchamiento) o ruptura de emulsión (*breakdown*), se logró dejar el agua tratada de acuerdo a la Norma, partiendo incluso de un amplio rango de concentración del metal en la solución inicial. Las variables significativas fueron la concentración del extractante en la ML, el contenido del metal en la solución de alimentación y la fuerza iónica en la solución de retroextracción. En la Fig. 10 se presenta el efecto del contenido del transportador en la ML sobre el equilibrio y la cinética de extracción. A partir de los resultados experimentales fue posible determinar la estructura del complejo extraído y calcular la constante de equilibrio que regula el proceso.

Todos estos estudios demuestran la posibilidad práctica de remover o recuperar metales desde soluciones acuosas diluidas usando este método. Un notable grado de concentración del metal se logra en la solución aceptora de *stripping*, reduciendo la razón de volumen entre esta fase y la fase acuosa externa de alimentación. Además, se requirió efectivamente un inventario de solvente considerable menor al de los procesos SX.

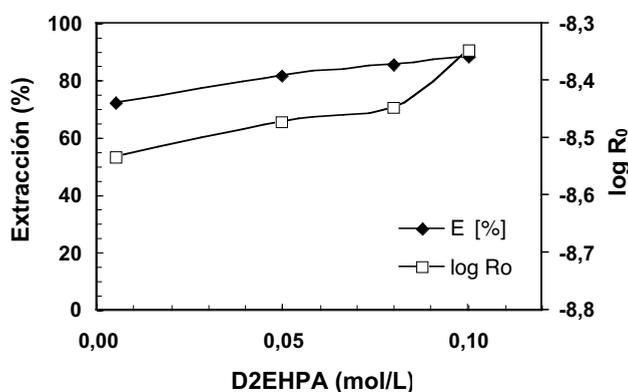


Figura 10. Influencia del contenido del extractante en la ML sobre el equilibrio y cinética de extracción.

3. MICROENCAPSULACIÓN DE EXTRACTANTES (MCEX)

3.1. Metodología experimental

Esta tecnología se basa en preparar mediante métodos simples y de bajo costo microcápsulas (MC), las cuales consisten en una matriz polimérica que contiene adsorbidos en su interior extractantes específicos para recuperar o remover determinados metales (Kondo y Kamio 2002). En sus aspectos prácticos y de ingeniería un sistema de tratamiento continuo de estas aguas mediante MC debe funcionar en columnas empacadas con estas microcápsulas en una misma columna en ciclos sucesivos de adsorción y desorción de los metales.

El empleo de MC puede ser considerado como una tecnología limpia en procesos de separación. Las MC a preparar son polímeros orgánicos porosos dotados de una muy buena estabilidad mecánica que presentan un gran potencial en aplicaciones a escala industrial, como también en extracciones cromatográficas a escala analítica. Sin embargo, la aplicación de este sistema de MC en equipos a nivel industrial empleando una tecnología de columna fija requiere de conocimiento previo del equilibrio y la cinética del proceso de extracción del metal en ella.

Respecto a la manufactura de estas microcápsulas se puede indicar que existen básicamente dos métodos principales de potencial uso en hidrometalurgia (los cuales se han venido desarrollando por nuestro grupo de investigación):

- 1) A través de un proceso químico simple de polimerización con presencia del extractante “*in situ*”.
- 2) Mediante un proceso físico-mecánico basado en la impregnación del extractante mediante la evaporación del solvente.

El procedimiento químico es simple y genera una matriz polimérica en la cual los monómeros que conformarán su pared, junto con el extractante a encapsular, se disuelven en la fase dispersa constituida por un solvente orgánico inmiscible con el agua. Se basa en la polimerización en suspensión vía radicales libres de uno o más monómeros vinílicos (como, por ejemplo, estireno y divinilbenceno), usando un iniciador adecuado. La polimerización se logra por calentamiento ocurriendo la evaporación del diluyente orgánico, permaneciendo el extractante retenido en las microesferas producidas (Valenzuela *et al.* 2005-d). Esta síntesis permitiría un control mucho mayor del tamaño de las microesferas y beneficiaría la estabilidad de los extractantes en el interior de las MC. El uso de monómeros tan comunes como de bajo costo (estireno, divinilbenceno) tornarían también atractivo el método químico. La matriz orgánica conformada por

ellos le impartiría la porosidad necesaria para constituir las en buenos adsorbentes.

El método por evaporación del solvente es más sencillo aún. Se basa en disolver el extractante y el polímero (ejemplo: Poliestireno, polidivinilbenzeno) en un solvente orgánico, constituyendo la fase dispersa, la cual se agrega a temperatura ambiente a la fase continua de naturaleza acuosa que suele contener un dispersante, formándose una emulsión. Un posterior calentamiento suave permite la evaporación del solvente orgánico, conformándose las MC (Yang *et al.* 2004). En este caso es más complejo controlar el tamaño de las microesferas obtenidas.

Cualquiera sea el método empleado en la síntesis de las MCs el paso siguiente es su separación de la mezcla reactante mediante una simple filtración convencional. Una vez lavadas y secas se procede a determinar el contenido del extractante inmovilizado en ellas de acuerdo a metodologías químicas habituales.

En ambos métodos los monómeros o polímeros que constituyen los materiales de la estructura (pared) de la MC deben ser hidrofóbicos, al igual que los extractantes a encapsular. Estos compuestos comerciales, de amplio uso en hidrometalurgia, poseen normalmente en su estructura largas cadenas hidrocarbonadas lo que previene la pérdida de ellos desde la matriz polimérica de las MC. Es claro que las MC actuarían como adsorbentes granulares conteniendo un extractante líquido, alcanzando, por tanto, las características tanto de las resinas IX como de los extractantes líquidos usados en las plantas SX.

Cuando se trata de separar dos o más metales contenidos en la misma solución acuosa la elección del extractante debe ser tal que uno de ellos debe ser retenido en la microesfera y el, o los otros, deben salir en el eluato de la columna sin ser adsorbidos.

Al emplear esta tecnología se logra superar varias deficiencias propias de los procesos SX e IX. Por ejemplo, la formación de una tercera fase, tan común en procesos SX, durante el proceso de adsorción en MCEX es prácticamente nula, reduciendo la pérdida de extractante. Las pérdidas de extractante por solubilidad en la fase acuosa también se anulan, al inmovilizar los extractantes a la estructura polimérica que conforman las microcápsulas. A su vez, requieren de un inventario mínimo de solventes orgánicos para una misma separación del metal, comparado con los de una planta SX y sin presentar los problemas de separación de fases propios de dicha metodología, dada la simple separación de fases sólido-líquido producida.

Estas microcápsulas separativas presentan una gran área interfacial específica, una altísima y mejorada selectividad respecto a resinas IX y de muchísimo menor costo y capacidad de re-utilización en múltiples ciclos.

Al comparar esta técnica con el empleo de resinas IX para separaciones de metales en este último caso se requieren necesariamente varias columnas conectadas, unas para etapas de adsorción y otras para desorción o regeneración. En MCEx el empleo de una simple columna empacada con un adsorbente, el cual es solamente impregnado (no fijado) con extractantes, presentaría un gran potencial de uso industrial dada la simplicidad de su método de preparación.

3.2. Fundamentos teóricos de la microencapsulación de extractantes

Desde los años 90 se ha venido desarrollando muy rápidamente el uso de microcápsulas como soporte para el extractante como una tecnología mejorada para la extracción de metales. Los primeros estudios de separación de metales utilizando microcápsulas (que contenían extractantes específicos) corresponden a Yoshizawa *et al.* (1995). Durante los últimos años varios grupos de investigación de Estados Unidos, Japón, Europa y China han venido realizando varios progresos en este campo, destacándose los aportes de Yang *et al.* (2005) en China, Kamio y Kondo (2002) en Japón, Laguecir *et al.* (2002) en Francia, Ji *et al.* (2001) en Estados Unidos, entre otros.

Respecto a los *mecanismos de adsorción del metal en la MC* se deben considerar, además de efectos difusivos del metal en la película acuosa en la capa límite con la pared de la MC y la difusión intraparticular del complejo formado en la superficie de la MC en el interior de ella, también la reacción química de formación del complejo en la interfase líquido/superficie de la MC, pudiendo afectar y llegar a constituirse cualquiera de ellos en la etapa determinante desde el punto de vista cinético del proceso global. Los extractantes se unen al metal mediante formación de compuestos de coordinación, formación de sales o bien formando pares iónicos, extrayéndolos así de la solución diluida que los contiene (Valenzuela *et al.* 1999; Marchese *et al.* 2004).

El uso de un entrecruzante como el divinilbenceno o derivados del dimetacrilato, permite introducir un determinado grado de reticulación, dependiendo de la concentración inicial de éste, produciendo polímeros con estructura de una red tridimensional porosa. Su flexibilidad estructural permite obtener microesferas con mejor capacidad para la difusión a través de ella. Asimismo, el uso de monómeros con mayor carácter hidrofílico (como el estireno) permite cierto grado de hinchamiento de las MC y su mojabilidad y, por ende, la facilitación de la adsorción de los iones metálicos desde soluciones acuosas.

Preparadas las MC es necesario que éstas se pongan en contacto con la solución que contiene el o los metales de interés, con el fin de microencapsularlos y así separarlos de la solución inicial mediante un proceso

de *adsorción*. La etapa final consiste en retroextraer el metal de las microcápsulas mediante su *desorción* por contacto de ellas con una solución de retroextracción, la cual constituye la fase acuosa aceptora de los metales en la cual se van concentrando. A su vez en esta etapa se libera la microcápsula de los metales para un nuevo ciclo extractivo. En este caso la extracción de los iones metálicos se regiría también por un proceso de transferencia de masa con reacción química, de acuerdo al siguiente mecanismo:

Etapa 1: Difusión de los iones metálicos desde la solución acuosa de alimentación hacia la superficie externa de las MC.

Etapa 2: Formación del complejo metal-extractante por reacción del metal en la superficie de la MC con el extractante retenido en la MC mediante adsorción con reacción química.

Etapa 3: Difusión del complejo metal-extractante formado hacia el interior de la MC.

Etapa 4: Ruptura del complejo metal-extractante en la estructura porosa de la MC por contacto con la solución de retroextracción en una etapa de quimiosorción.

Etapa 5: Difusión del metal liberado hacia el seno de la fase acuosa de retroextracción.

La extracción selectiva o colectiva de uno o varios metales a la vez se supone que ocurriría en la Etapa 2 del mecanismo, al escoger acertadamente extractantes muy afines hacia los metales de interés, permitiendo que sólo estos iones sean adsorbidos y sean transportados hacia la fase de *stripping*. La elección del extractante a encapsular y del medio de retroextracción se basan en las mismas consideraciones descritas en la sección anterior al emplear las MLE.

Desde un punto de vista cinético el mecanismo global del proceso puede ser controlado:

- 1) por difusión del metal en la solución acuosa que lo contiene a través de la película acuosa, o
- 2) por reacción química de extracción en la superficie de la MC, o
- 3) por difusión intraparticular del complejo metal-extractante hacia el interior de la MC.

En la Fig. 11 se presenta un esquema del mecanismo de adsorción-desorción y transporte de los metales en la MC.

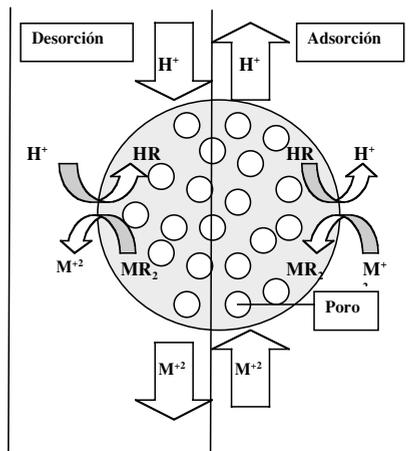


Figura 11. Mecanismo de sorción en columnas de un metal M^{2+} mediante microcápsulas que retienen un extractante ácido HR.

3.3. Resultados de avance logrados mediante MCEX

Una de las más interesantes aplicaciones de esta tecnología es la de remoción y/o recuperación de bajos contenidos de algunos iones metálicos en soluciones acuosas diluidas generadas en etapas propias de operaciones químicas y metalúrgicas industriales. Tanto la capacidad de adsorción de metales como su mejorada cinética al encapsular en su interior extractantes líquidos hacen de estas microcápsulas una alternativa muy superior al uso de resinas sólidas de intercambio iónico. La desorción de los metales de ellas es también muy rápida y simple, permitiendo un número de ciclos extractivos muy superior lo que beneficia la economía del proceso. En uno de los primeros trabajos desarrollados por nuestro grupo de investigación se estudió la remoción de Zn(II) y Cu(II) de las soluciones acuosas ácidas empleando microesferas sintetizadas por el método químico; es decir, mediante una sencilla polimerización radicalaria *in situ*. Se utilizó en la preparación de la matriz polimérica diferentes copolímeros de estireno y divinilbenceno, utilizando peróxido de benzoílo como iniciador de la reacción y tolueno comercial como solvente de la mezcla (Valenzuela *et al.* 2005-d). Como extractante a encapsular se utilizó el antes mencionado compuesto alquilfosónico PC-88A; es decir, todos reactivos industriales de amplio empleo comercial. Este compuesto es capaz de extraer cada metal por separado, o bien ambos en conjunto en forma colectiva, mediante ajuste de la acidez de las soluciones que los contienen.

La producción de microcápsulas es muy eficiente, obteniéndose en promedio rendimientos superiores al 90 %, tomando como base de cálculo los sustratos orgánicos empleados en la síntesis. Se requirió de un reactor

sencillo dotado de agitación mecánica, cuya velocidad condiciona el tamaño de las esferas a producir y mediante un calentamiento relativamente suave en algunos casos o incluso innecesario en otros.

La separación de las microcápsulas obtenidas de la mezcla reactante se realiza sencillamente por filtración convencional, al conformarse matrices insolubles en ella. En el mismo filtro se lavan y presecan para proceder a determinar en ellas el contenido real de extractante encapsulado. Esta determinación depende del tipo de extractante encapsulado. En este caso, dado que *PC-88A* corresponde a un compuesto ácido débil, se empleó un método de titulación potenciométrica mediante NaOH, previa difusión del extractante a una solución alcohólica durante algunas horas. En otros estudios en que se han encapsulado extractantes básicos del tipo aminas de alto peso molecular su determinación se efectúa mediante argentometría y dicromato de sodio como indicador. En el caso de extractantes solvatantes, como lo son tri-butil fosfato (TBP) y óxido de tri-octil-fosfina (TOPO), se realiza mediante espectrofotometría de absorción UV (Cortina *et al.* 1995).

Las pruebas de adsorción metalúrgicas se pueden efectuar en *batch* o, preferentemente, en columnas continuas. A manera de ejemplo en la Tabla 1 se presentan los resultados de síntesis de estas microcápsulas con *PC-88A* sintetizadas con diferentes proporciones de los monómeros estireno y divinilbenceno y los resultados de la adsorción metalúrgica de Zn desde las soluciones acuosas ácidas. En este caso, corresponden a experimentos diseñados para eliminar y separar Zn(II) de Cu(II) a un pH aproximado de 4,0, habiéndose logrado una muy selectiva extracción para el primero de ellos. En la Fig. 12 se presenta la determinación del extractante ácido inmovilizado en las diferentes microcápsulas, comprobándose en este caso que a mayor proporción de divinilbenceno respecto a estireno en la matriz polimérica, menor es la retención del extractante en ellas. Sin embargo, este monómero le aporta el carácter entrecruzante a la microesfera, favoreciendo su insolubilidad en soluciones acuosas.

Tabla 1. Síntesis de microcápsulas con *PC-88A* y adsorción de Zn(II).

ST (%)	DVB (%)	Zn inicial (mg/L)	Zn final (mg/L)	pH inicial	pH equilibrio	Extracción (%)	Zn extraído/MC (mol/g)
84,24	15,76	87,3	1,07	4,09	3,02	98,8	1,32*10E-4
72,08	27,92	87,3	0,78	4,09	3,03	99,1	1,32*10E-4
55,00	45,00	87,3	1,07	4,09	2,99	98,8	1,32*10E-4
40,83	59,17	87,3	1,12	4,09	2,97	98,7	1,32*10E-4
29,85	70,15	87,3	2,59	4,09	2,90	97,1	1,30*10E-4
20,00	80,00	87,3	2,44	4,09	2,87	97,2	1,30*10E-4

Por otra parte, los distintos tipos de microcápsulas se caracterizan morfológicamente a través de la toma de imágenes mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) siguiendo un procedimiento habitual, el cual incluye un recubrimiento previo con oro de las microcápsulas antes de su análisis con el fin de evitar o minimizar eventuales efectos de carga de sus superficies. En la Fig. 13 se presenta una imagen SEM de estas microesferas tomada en un equipo JEOL, JSM 6380LV. Además, se puede analizar la distribución de tamaños de las microesferas empleando para estos efectos microscopios de alta resolución acoplados a cámaras fotográficas digitales y con la ayuda de un programa computacional ImageJ. Otras muestras fueron también analizadas mediante un equipo *Malvern Ins. Mastersizer 2000*.

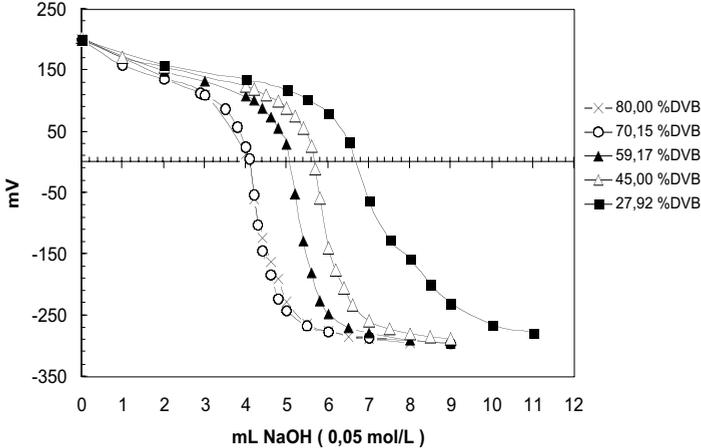


Figura 12. Determinación del contenido del extractante alquilfosfónico inmovilizado en la MC.

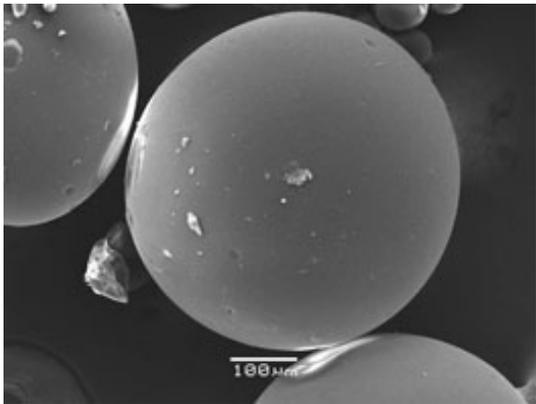


Figura 13. Micrografía electrónica de barrido (SEM) de una microcápsula con PC-88A.

También se ha empleado esta metodología para separar o recuperar metales menos comunes desde soluciones acuosas en los cuales su concentración es muy baja, lo que hace antieconómicas y técnicamente inaplicables metodologías convencionales actualmente de uso corriente. Por ejemplo, se ha estudiado la adsorción de Ga e In en microcápsulas con el mismo extractante alquilfosfónico (Kamio *et al.* 2005). Con el propósito de estudiar el mecanismo de sorción se investigó el efecto del pH y la concentración de los metales en la fase acuosa de alimentación y se compararon las velocidades de adsorción respecto a las medidas en experimentos en un proceso SX convencional. La etapa determinante desde el punto de vista cinético se evaluó mediante determinaciones de energías de activación, observándose que ambos procesos, la reacción química del extractante con los metales y los procesos difusivos, afectan la cinética del proceso. La adsorción de los metales seguiría un proceso secuencial que se inicia con la difusión de los metales en la película acuosa próxima a la superficie de las MC, la formación de los complejos metal/extractante en la superficie de la microesfera y la posterior difusión de los complejos metálicos a través de los poros de las MC en un proceso de difusión intraparticular.

También ha sido aplicada esta tecnología a la recuperación de algunos lantánidos. Es conocida la importancia de estos metales en el desarrollo de nuevos y avanzados materiales dotados de propiedades superiores. A escala industrial se ha venido aplicado la metodología de extracción por solventes convencional, particularmente de las aguas residuales de procesos minero-metalúrgicos de metales comunes como Cu, Fe e, incluso, Au, dada la asociación estructural que elementos lantánidos presentan en depósitos minerales, básicamente del tipo sulfurados. Sin embargo, los procesos SX requieren de un gran número de etapas de equilibrio en una serie de extractores del tipo mezcladores-decantadores para poder preparar productos de alta pureza, debido a que las propiedades químicas y físicas de los elementos adyacentes son muy similares entre los lantánidos y de estos con algunos de los de transición interna asociados estructuralmente a ellos. La eliminación de La, Sm y Ev fue estudiada empleando microcápsulas con el extractante alquilfosfónico PC-88A (Kamio *et al.* 2008). Ajustando las condiciones experimentales de operación de las columnas cargadas con las microcápsulas, se logró remover y separar cuantitativamente los metales indicados. Se empleó un modelo cinético de extracción para predecir las curvas de remoción, basado en un modelo de reacción interfacial acompañado de la difusión intraparticular en la MC expresado a partir de la ley de Fick. Se determinaron las respectivas constantes cinéticas, siendo los efectos del pH de la solución que contiene los elementos lantánidos y la concentración de ellos en ella las variables que mayormente afectan el proceso. Se concluyó que los mecanismos de extracción de los metales en las MCs son los mismos de la de los sistemas de extracción líquido-líquido. Toda esta información permite escalar el proceso a una escala mayor de aplicación práctica efectiva.

Uno de los metales más tóxicos encontrado habitualmente en todo tipo de agua residual industrial y minero es el Cd, asociados sus sulfuros a los yacimientos de todo tipo de metales de transición, incluyendo Cu, Zn, Fe, Ni, etc. Se ha logrado separar contenidos variables de este metal entre 100 a 200 mg L⁻¹, absolutamente por encima de la Norma de descarga aceptada, empleando microcápsulas preparadas mediante el método químico por copolimerización de estireno y etilen-glicol dimetacrilato (EGDMA); es decir, monómeros comunes y de bajo costo (Araneda *et al.* 2008). Como iniciador se empleó peróxido de benzoilo y extractantes ácidos intercambiadores de cationes. La síntesis resultó ser de alta eficiencia, lográndose una producción de microsferas muy alta y con una retención del extractante elevada que permitió una excelente adsorción del metal en un proceso cuya cinética está controlada por un mecanismo de pseudo-segundo orden, tal como se observa en la Fig. 14. De todas las matrices poliméricas estudiadas, las que presentaron la más alta capacidad de adsorción del metal fueron aquellas constituidas por un 65 % de EGDMA y 35 % de estireno, las cuales presentaron un suficiente grado de entrecruzamiento y un apropiado balance del carácter hidrofílico-hidrofóbico.

Pruebas de descontaminación de Cr(VI) de las soluciones acuosas residuales fueron efectuadas con éxito, lográndose remociones superiores al 92 % de este ion metálico tóxico. Se sintetizaron microcápsulas cargadas con extractantes básicos del tipo aminas de alto peso molecular, mediante el método físico de evaporación del solvente por un proceso de inversión de fase con soluciones de polisulfona (PSf) y poliestireno (PS) en diclorometano y polivinilpirrolidona como aditivo. También se empleó otro método en el cual las microsferas se sintetizaron mediante entrecruzamiento en emulsión usando silicona comercial como materia prima (Ochoa *et al.* 2006).

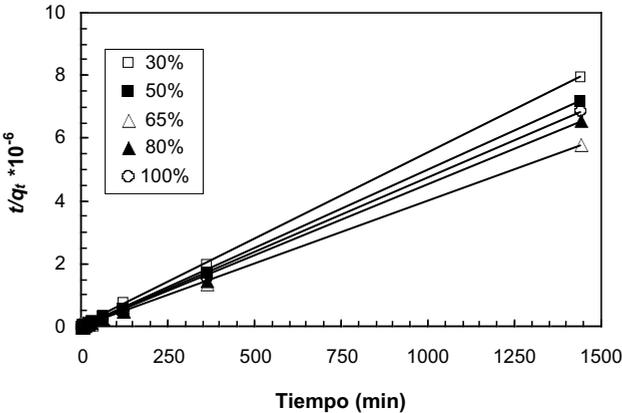


Figura 14. Cinética de adsorción de Cd(II) y Cu(II) sobre microcápsulas extractivas.

En otro estudio se removió el contenido de este metal mediante microcápsulas preparadas por el método químico de polimerización *in situ* en base a matrices de estireno (St) y derivados de monómeros del tipo dimetacrilato (EGDMA), lográndose remociones cercanas al 100 %, partiendo de concentraciones de Cr(VI) en solución superiores a 100 mg L⁻¹ (Valenzuela *et al.*; Proyecto Fondecyt N° 1070608: *Diseño e implementación de un sistema continuo de remoción de metales pesados desde aguas residuales industriales y de la minería mediante microencapsulación de extractantes*; 2007-2010). En la Tabla 2 se presenta un resumen de los diversos resultados logrados en esta parte del estudio.

Todos los resultados confirman la factibilidad de aplicar el método de microencapsulación de extractantes para la recuperación de metales valiosos y la remoción de otros tóxicos y peligrosos desde soluciones acuosas residuales industriales. La información recabada ha permitido diseñar columnas continuas empacadas con MCs cargadas con extractantes apropiados de prometedora aplicación real en procesos de descontaminación industrial.

Aliquat-336		TOA	
P(St-EGDMA) (%)	Cr(VI)Ext. (%)	PS-PSf (%)	Cr(VI)Ext. (%)
70-30	94,5	100-0	99,0
50-50	94,3	50-50	98,5
25-75	94,8	<i>Alamine-336</i>	
0-100	94,24	PS-PSf (%)	Cr(VI)Ext. (%)
PS-PSf (%)	Cr(VI)Ext. (%)	100-0	99,0
50-50	98,5	33-67	98,4

Tabla 2. Remoción de Cr(VI) de las soluciones acuosas ácidas con extractantes inmovilizados en MC.

4. CONCLUSIONES

Como conclusión global se puede decir que ambas metodologías (la del empleo de membranas líquidas emulsificadas y la de microencapsulación de extractantes) son prometedoras y de alta aplicación en el tratamiento de remoción y/o recuperación de metales pesados de las soluciones acuosas residuales de procesos industriales y de la minería, debido a las ventajas que

presentarían frente a otro tipo de metodologías, entre ellas las de requerir una mucho menor cantidad de extractantes y reactivos en general y emplear compuestos y sustancias comerciales y de bajo costo. Desde un punto de vista operacional ambos procesos son simples y de gran eficiencia, operan en circuito cerrado y en operaciones en reciclo y simultáneas, lo que evita la generación de efluentes secundarios. La variedad de extractantes que pueden ser empleados en la preparación de las emulsiones o de las microcápsulas permitirá también un amplio rango de aplicación para el tratamiento de muchas soluciones de diferente origen, hecho por sí sólo de gran interés. A partir de las condiciones experimentales en que se aplican su empleo puede estar orientado no sólo a la remoción colectiva de varios metales, sino también a la recuperación selectiva de algunos de ellos (si su valor económico o exigencia medioambiental lo justifica).

Agradecimiento. Los autores agradecen al Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico de Chile por el apoyo económico brindado a esta línea de investigación a través de los Proyectos FONDECYT N° 1040567 y N° 1070608; C. Araneda agradece también al Fondo de Beca Doctoral de CONICYT.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Apiratikul R. y Pavasan P. 2008. Batch and column studies of biosorption of heavy metals by *Caulerpa lentillifera*. *Biores Technol.*, 99: 2766–2777.
- Araneda C., Fonseca C., Sapag J., Basualto C., Yazdani-Pedram M., Kondo K., Kamio E. y Valenzuela F. 2008. Removal of metal ions from aqueous solutions by sorption onto microcapsules prepared by copolymerization of ethylene glycol dimethacrylate with styrene. *Sep. Pur. Technol.*, doi:10.1016/j.seppur.2008.06.010.
- Basualto C., Poblete M., Marchese J., Ochoa A., Acosta A., Sapag J. y Valenzuela F. 2006. Extraction of cadmium from aqueous solutions by emulsion liquid membranes using a stirred transfer cell contactor. *J. Braz. Chem. Soc.*, 17: 1347-1354.
- Cahn R.P. y Li N.N. 1976. Separations of organic compounds by liquid membrane processes. *J. Membr. Sci.*, 1: 129-142.
- Comisión Nacional del Medio Ambiente, Chile. 2000. Decreto Supremo N° 90/2000. Ministerio Secretaria General de la Presidencia. *Norma de Emisión para la Regulación de Contaminantes Asociados a las Descargas de Residuos Líquidos a Aguas Marinas y Continentales Superficiales*. C.N.M.A., Santiago de Chile.
- Cortina J. L., Miralles N., Sastre A. y Aguilar M. 1995. Solid-liquid extraction studies of Zn(II), Cu(II) and Cd(II) from chloride media with impregnated resins containing mixtures of organophosphorus compounds immobilized on to Amberlite XAD2. *Hydrometallurgy*, 37: 301-322.
- Cotorás D., Valenzuela F. y otros, 2008. Process for the removal of metals by biosorption from mining or industrial effluents. *U.S. Pat.* 7.326.344 B2.

- Crini G. y P.M. Badot. 2008. Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies: A review of recent literature. *Prog. Polym. Sci.*, 33: 399–447.
- Chen Q.Y., M. Tyrer, C.D. Hills, X.M. Yang y P. Carey. 2008. Immobilisation of heavy metal in cement-based solidification/stabilisation: A review. *Waste Management*, doi:10.1016/j.wasman.2008.01.019.
- Deligoz H. y Erdem E. 2008. Comparative studies on the solvent extraction of transition metal cations by calixarene, phenol and ester derivatives. *J. Hazard. Mater.*, 154: 29–32.
- Draxler J. y Marr R. 1986. Emulsion liquid membranes part I: Phenomenon and industrial application. *Chem. Eng. Proces.*, 20: 319-329.
- Galán B., Castañeda D. y Ortiz I. 2008. Integration of ion exchange and non-dispersive solvent extraction processes for the separation and concentration of Cr(VI) from ground waters. *J. Hazard. Mater.*, 152: 795–804.
- Ji J., Childs R.F. y Mehta M. 2001. Mathematical model for encapsulation by interfacial polymerization. *J. Mem. Sci.*, 192: 55–70.
- Jung M.J., Venkateswaran P. y Lee Y.S. 2008. Solvent extraction of nickel(II) ions from aqueous solutions using triethylamine as extractant. *J. Ind. Eng. Chem.*, 14: 110–115.
- Kamio E. y Kondo K. 2002. Separation of rare metal ions by a column packed with microcapsules containing an extractant. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 41: 3669-3675.
- Kamio E. y Matsumoto M., Valenzuela F. y Kondo K. 2005. Sorption behavior of Ga(III) and In(III) into a microcapsule containing long-chain alkylphosphonic acid monoester. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 44: 2266-2272.
- Kamio E., Fujiwara Y., Matsumoto M., Valenzuela F. y Kondo K. 2008. Investigation on Extraction Rate of Lanthanides with Extractant-Impregnated Microcapsule. *Chem. Eng. J.*, 139: 93-105.
- Khezami L. y Capart R. 2005. Removal of chromium(VI) from aqueous solution by activated carbons: Kinetic and equilibrium studies. *J. Hazard. Mater.*, B123: 223-231.
- Kondo K. y Kamio E. 2002. Separation of rare earth metals with a polymeric microcapsule membrane. *Desalination*, 144: 249-254.
- Kravchenko T.A., Polyanskiy L., Krysanov V.A., Zelensky E.S., Kalinitchev A. I. y Hoell W.H. 2008. Chemical precipitation of copper from copper-zinc solutions onto selective sorbents. *Hydrometallurgy*, doi:10.1016/j.hydromet.2008.05.027.
- Krishnani K., Meng X., Christodoulatos C. y Boddu V. 2008. Biosorption mechanism of nine different heavy metals onto biomatrix from rice husk. *J. Hazard. Mater.*, 153: 1222–1234.
- Laguecir A., Frere Y., Danicher L. y Burgard M. 2002. Size effect of complexing microcapsules on copper ion extraction. *Eur. Polym. J.*, 38: 977–981.
- Li N. 1973. Liquid Membranes Process for Separation of Aqueous Mixtures. *U.S. Pat.* 3.779.907.

- Lorbach D.M. y Hatton T.A. 1988. Polydispersity and backmixing effects in diffusion controlled mass transfer with irreversible chemical reaction: An analysis of liquid emulsion membrane processes. *Chem. Eng. Sci.*, 43: 405-418.
- Marchese J., Valenzuela F., Basualto C. y Acosta A. 2004. Transport of molybdenum with Alamine 336 using supported liquid membrane. *Hydrometallurgy*, 72: 309-317.
- Nakashio F., Goto M., Matsumoto M., Irie J. y Kondo K. 1988. Role of surfactants in the behavior of emulsion liquid membranes. Development of new surfactants. *J. Membr. Sci.*, 38: 249-260.
- Ochoa A., Illanes C., Marchese J., Basualto C. y Valenzuela F. 2006. Preparation and characterization of polymeric microspheres for Cr(VI) extraction. *Sep. Pur. Technol.*, 52: 39-45.
- O'Connell D.W., Birkinshaw C. y O'Dwyer T.F. 2008. Heavy metal adsorbents prepared from the modification of cellulose: A review. *Bioresour. Technol.*, 99: 6709-6724.
- Ostroski I.C., Barros M.A.S.D., Silva E.A., Dantas J.H., Arroyo P.A. y Lima O.C.M. 2008. A comparative study for the ion exchange of Fe(III) and Zn(II) on zeolite NaY. *J. Hazard. Mater.*; doi:10.1016/j.jhazmat.2008.04.111.
- Ritcey G.M. 2006. Solvent Extraction in Hydrometallurgy: Present and Future. *Tsinghua Sci. Technol.*, 11,2: 137-152.
- Sato Y., Valenzuela F., Tsuneyuki T., Kondo K. y Nakashio F. 1987. Extraction equilibrium of molybdenum (VI) with 2-ethyl-hexyl phosphonic acid mono-2-ethylhexyl ester. *J. Chem. Eng. Jpn.*, 20:317-321.
- Ulmanu M., Marañón E., Fernández Y., Castrillón L., Anger I. y Dumitriu D. 2003. Removal of copper and cadmium ions from diluted aqueous solutions by low cost and waste material adsorbents. *Water, Air, and Soil Pollution*, 142: 357-373.
- Valenzuela F., Basualto C., Tapia C. y Sapag J. 1999. Application of hollow-fiber supported liquid membranes technique to the selective recovery of a low content of copper from a Chilean mine water. *J. Membr. Sci.*, 155 163-168.
- Valenzuela F., Salinas C., Basualto C., Sapag-Hagar J. y Tapia C. 2003. Influence of nonionic surfactant compound on coupled transport of copper (II) through a liquid membrane. *J. Chil. Chem. Soc.*, 48: 79-84.
- Valenzuela F. y Agulló E. 2004. Capítulo 5.2: Uso de quitina y quitosano en control ambiental. En: A. Pastor de Abram (ed.). *Quitina y quitosano: Obtención, caracterización y aplicaciones*. Fondo editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima. Pp.: 209-233.
- Valenzuela F., Fonseca C., Basualto C., Correa O., Tapia C. y Sapag J. 2005-a. Removal of copper ions from a waste mine water by a liquid emulsion membrane method. *Min. Eng.*, 18: 33-40.
- Valenzuela F., Cabrera J., Basualto C. y Sapag-Hagar J. 2005-b. Kinetics of copper removal from acidic mine drainage by a liquid emulsion membrane. *Min. Eng.*, 18: 1224-1232.

- Valenzuela F., Auspont J., Basualto C., Tapia C. y Sapag J. 2005-c. Use of a surfactant liquid membrane contactor for zinc uptake from an acid aqueous effluent. *Chem. Eng. Res. Des.*, 83: 247-255.
- Valenzuela F., Yazdani M., Araneda C., Basualto C., Kamio E. y Kondo K. 2005-d. Zn(II) and Cu(II) uptake from acid solutions with microcapsules containing a non-specific alkyl phosphonic extractant. *J. Chil. Chem. Soc.*, 50: 711-714.
- Valenzuela F., Cabrera J., Basualto C. y Sapag J. 2007. Separation of zinc ions from an acidic mine drainage using a stirred transfer cell-type emulsion liquid membrane contactor. *Sep. Sci. Technol.*, 42: 363-377.
- Valenzuela F., Araneda C., Vargas F., Basualto C. y Sapag J. 2008. Liquid membrane emulsion process for recovering the copper content of a mine drainage. *Chem. Eng. Res. Des.*; doi:10.1016/j.cherd.2008.05.010.
- Völkel W., Halwachs W. y Schügerl K. 1980. Copper extraction by means of a liquid surfactant membrane process. *J. Membr. Sci.*, 6: 19-31.
- Wan Ngah W.S. y Hanafiah M.A. 2008. Removal of heavy metal ions from wastewater by chemically modified plant wastes as adsorbents: A review. *Bioreour. Technol.*, 99: 3935-3948.
- Wormsa I.A.M. y Wilkinson K.J. 2008. Determination of Ni²⁺ using an equilibrium ion exchange technique: Important chemical factors and applicability to environmental samples. *Anal. Chim. Acta*, 616: 95-102.
- Wu X. y Gorden A.E.V. 2008. 2-Quinoxalinol salen ligands incorporated into functionalized resins for selective solid-phase extraction of copper(II). *Tetrahed. Lett.*; doi:10.1016/j.tetlet.2008.06.041.
- Xu D., Zhou X. y Wang X. 2008. Adsorption and desorption of Ni²⁺ on Na-montmorillonite: Effect of pH, ionic strength, fulvic acid, humic acid and addition sequences. *Appl. Clay Sci.*, 39: 133-141.
- Yang W.W., Luo G.S., Wu F.Y., Chen F. y Gong X.C. 2004. Di-2-ethylhexyl phosphoric acid immobilization with polysulfone microcapsules. *Reac. Func. Polym.*, 61: 91-99.
- Yang W.W., Luo G.S. y Gong X.C. 2005. Extraction and separation of metal ions by column packed with polystyrene microcapsules containing Aliquat 336. *Sep. Pur. Technol.*, 43: 175-182.
- Yoshizawa H., Fujikubo K., Uemura Y., Kawano Y., Kondo K. y Hatate Y. 1995. Preparation of Divinylbenzene Homopolymeric Microcapsules with Highly Porous Membranes by In Situ Polymerization with Solvent Evaporation. *J. Chem. Eng. Jpn.*, 28: 78-84.

METALES PESADOS EN AGUA Y SEDIMENTO DEL RÍO LERMA (MÉXICO)

G. Zarazúa¹, P. Ávila Pérez¹, S. Tejeda¹, L. Carapia Morales¹
y C. Díaz Delgado²

¹ Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, Gerencia de Ciencias Ambientales, Apartado Postal 18-1027, México D.F. 11801 (México). ² Centro Interamericano de Recursos del Agua, UAEM, Toluca (México). E-mail: <gzo@nuclear.inin.mx>; <pap@nuclear.inin.mx>.

Resumen: En el presente trabajo se evaluó la distribución de los metales Cr, Mn, Fe, Cu, Zn y Pb en agua y sedimento del Curso Alto del Río Lerma (CARL; México). Las muestras fueron recolectadas trimestralmente durante un ciclo hidrológico en 8 zonas de muestreo, distribuidas a lo largo del CARL siguiendo el flujo del río. Las muestras de agua y sedimento fueron analizadas por triplicado por espectrometría de Fluorescencia de Rayos X. Los resultados obtenidos en agua muestran la siguiente variación: Fe, 98 a 8474 $\mu\text{g L}^{-1}$; Mn, 9 a 788 $\mu\text{g L}^{-1}$; Cr, Cu, Zn and Pb, <3 a 565 $\mu\text{g L}^{-1}$, en sedimentos fueron: Fe, 177 a 84771 mg kg^{-1} ; Mn, 21 a 2020 mg kg^{-1} ; Cr, Cu, Zn, and Pb, <5 a 3384 mg kg^{-1} . Se observaron diferencias estadísticas en la concentración de estos metales entre las diferentes zonas de muestreo y sólo en agua entre las 4 campañas de muestreo. Los resultados de correlación indican una fuerte asociación entre algunos metales ($p < 0.05$), por lo que se pueden inferir orígenes comunes naturales o antropogénicos.

Palabras clave: Fluorescencia de rayos X; Cu; Zn; Fe; Mn; Cr; Pb; impacto antropogénico.

Heavy metals in water and sediments from the Lerma river, Mexico

Abstract: Distribution of Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, and Pb in water and sediment of the Upper Course of the Lerma River, Mexico (UCLR) were evaluated. The samples were collected in 8 sites distributed following the stream flow direction of the river. Four sampling campaigns were carried out in each site in a year period. The water and sediment samples were analyzed in triplicate by X-Ray Fluorescence. Results show that the concentrations range of heavy metals in water is the following: Fe, from 98 to 8474 $\mu\text{g L}^{-1}$; Mn, from 9 to 788 $\mu\text{g L}^{-1}$; Cr, Cu, Zn, and Pb, from <3 to 565 $\mu\text{g L}^{-1}$, in sediments is: Fe, from 177 to 84771 mg kg^{-1} ; Mn, from 21 to 2020 mg kg^{-1} ; Cr, Cu, Zn, and Pb, from <5 to 3384 mg kg^{-1} . There are statistical differences in the concentration of heavy metals between the different sampling sites and only in water samples

between different sampling campaigns. The correlation results indicate strong correlation between some heavy metals, this significant correlation ($p < 0.05$) indicates a natural origin or/and a shared contamination source for these metals.

Key words: X-ray Fluorescence; Cu; Zn; Fe; Mn; Cr; Pb; anthropogenic impact.

1. INTRODUCCIÓN

Los metales pesados se consideran entre los contaminantes más problemáticos en el medio acuático, ya que usualmente no se eliminan por procesos naturales como ocurre con algunos de los contaminantes orgánicos, pudiendo ingresar a las cadenas alimenticias a través de procesos de bioacumulación, bioconcentración y biomagnificación. Los metales se pueden encontrar difundidos en la naturaleza en forma de sales inorgánicas, formando parte de los minerales; pero sólo en su forma soluble tienden a migrar por acción pluvial hasta los ríos y lagos, sumándose a la contaminación causada por el hombre. En estos ambientes parece existir una relación entre las concentraciones de las especies químicas disueltas y las adheridas a la superficie del sedimento, por fenómenos de adsorción superficial, con formación de complejos químicos sobre el sedimento y reacciones químicas que conducen de compuestos solubles a insolubles, dependiendo de la composición de ambas fases (Baccini, 1989; Buffle y de Vitre 1994).

Así, en un cuerpo de agua las especies metálicas pueden estar disueltas, en suspensión en la fase particulada, o bien sedimentadas. Los compuestos en solución están formados básicamente por iones, coloides, materia orgánica y, en general, cualquier sustancia o molécula de diámetro menor a $0.45 \mu\text{m}$. La materia suspendida (también llamada particulada), está constituida por las diversas partículas inorgánicas como óxidos de hierro, arcillas y material orgánico proveniente de los detritus por descomposición biológica; y, finalmente, los componentes insolubles están integrados por aquellos compuestos que, por su naturaleza o acomplejamiento, han pasado a formar parte del sedimento (Dekov *et al.*, 1997).

El transporte de los metales en sistemas hidrológicos está controlado principalmente por procesos de transformación física, química y biológica que involucran reacciones que muchas veces ocurren en forma simultánea; entre éstas se encuentran las de intercambio iónico, adsorción-desorción, formación de complejos, coagulación, biodegradación, precipitación-disolución, oxidación-reducción, fotólisis e hidrólisis. Así mismo, la movilidad de los metales en ríos está en función del modo de transporte que éste siga, la variabilidad estacional, temporal y espacial, la relación existente entre su fase soluble con la suspendida (particulada), la concentración, los volúmenes de descarga, su distribución en los diferentes tamaños de grano del sedimento,

la temperatura, evaporación, pH, *etc.* Lo anterior ilustra la complejidad de las transformaciones de los contaminantes en el ambiente natural, donde los sedimentos juegan un papel muy importante en el transporte de sustancias tóxicas de naturaleza orgánica e inorgánica (Droppo y Jaskot, 1995; Hansen *et al.*, 1995; Dekov *et al.*, 1998).

Los sedimentos juegan un papel importante en el esquema de la contaminación, ya que reflejan la calidad del sistema acuático y pueden emplearse para detectar la presencia de contaminantes que no permanecen en la fase soluble. Además, actúan como acarreadores y posibles fuentes de contaminación, ya que los metales no permanecen fijados a los sedimentos y pueden resuspenderse en la columna de agua por cambios de las condiciones ambientales como el pH, potencial de óxido-reducción o la presencia de moléculas orgánicas acomplejantes. Por tanto, el análisis de metales en sedimentos permite detectar contaminación que no se aprecia en la fase líquida y da información de los sitios críticos (Vaithyanathan *et al.*, 1993; Hansen *et al.*, 1995 y Dekov *et al.*, 1998 y 1997).

El estudio de los cuerpos de agua se vuelve más complejo cuando están contaminados, debido a que, al interaccionar las sustancias antropogénicas con las geogénicas, se incrementan las variedades fisicoquímicas y biológicas, cambiando las propiedades del ecosistema acuático como son el oxígeno disuelto, pH, temperatura, demanda biológica y química de oxígeno, *etc.*, generándose así especies químicas que alteran la calidad del agua y que pueden representar un riesgo toxicológico. Por ello, en el estudio de las aguas naturales, no sólo es necesario considerar las características físicas y químicas del agua sino además las de las especies químicas disueltas, particuladas o suspendidas y las de los sedimentos (Niffeler *et al.*, 1984).

El objetivo del presente trabajo de investigación fue realizar una evaluación de la distribución de los metales Cr, Mn, Fe, Cu, Zn y Pb (de importancia ecológica y toxicológica), su distribución en el agua y sedimento, así como el establecimiento de los posibles orígenes de estos metales en el curso alto del río Lerma (CARL) con el fin de conocer su comportamiento y servir de base para la toma de decisiones en el control de la contaminación en la zona.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Área de estudio

El sistema hidrológico Lerma-Chapala-Santiago es uno de los más importantes de México con una superficie estimada de 130,000 Km². Dentro de este sistema se encuentra el Curso Alto del río Lerma (CARL), el cual se localiza en la región central de México, al Oeste del Estado de México, entre los 19° 05' y 20° 05' latitud Norte y los 99° 25' y 100° 15' longitud Oeste, a una altitud de 2,700 m snm y con una longitud de 52 km.

El valle que rodea al CARL es una zona industrialmente muy activa, con una producción agrícola importante, así como un acelerado crecimiento urbano e industrial que ha provocado una sobreexplotación de sus mantos acuíferos, así como la contaminación de los cuerpos de agua por aguas residuales y escurrimientos agrícolas. Consecuentemente, este río se ha convertido en el principal colector de los desechos industriales y domésticos que arrastran canales y arroyos. Debido a esta contaminación las condiciones de calidad del agua y sedimento del río se han deteriorado gravemente provocando una disminución de la calidad del agua, así como la alteración de las cadenas tróficas y la desaparición de peces y otros organismos acuáticos, (Ávila, *et al.*, 2006; Fall, *et al.*, 2006; Gobierno del Estado de México, 2000).

2.2. Muestreo

Con el objeto de determinar la concentración de los metales Mn, Fe, Cu, Zn, Cr y Pb presentes en el CARL se recolectaron muestras de agua superficial y sedimento suspendido y depositado en 8 zonas distribuidas a lo largo de este cuerpo de agua, las cuales se describen en la Tabla 1. El muestreo se realizó trimestralmente durante un ciclo hidrológico (2003; Tabla 2). En cada zona de muestreo se tomaron muestras compuestas de ambas matrices; de agua superficial se obtuvieron 4 L con un muestreador tipo *Van Dorn* a -30 cm de profundidad; y de sedimento depositado se tomaron 5,0 kg con una draga tipo *Ponar*. Todas las muestras se guardaron en refrigeración hasta su procesamiento y análisis.

Tabla 1. Descripción de las zonas de muestreo en el Curso Alto del río Lerma.

No	Zona de muestreo	Latitud Norte	Longitud Oeste	Observaciones
1	Laguna de Almoloya del Río	19° 15' 25"	99° 49' 20"	Sólo recibe contribuciones de aguas residuales domésticas
2	Mezapa	19° 18' 68"	99° 51' 35"	Recibe aguas residuales industriales y de rastros de ganado ovino y porcino
3	Puente Carretera México – Toluca	19° 27' 66"	99° 52' 23"	Recibe aguas residuales industriales y domésticas
4	Totaltepec	19° 36' 51"	99° 54' 42"	Recibe aguas residuales principalmente de origen industrial
5	Puente Carretera Toluca – Naucalpan	19° 37' 70"	99° 55' 50"	Recibe aguas residuales industriales y domésticas
6	Villa Cuauhtémoc	19° 38' 84"	99° 58' 03"	Recibe aguas residuales industriales , domésticas y aportes de ríos
7	Puente Carretera Toluca – Temoaya	19° 41' 55"	99° 62' 37"	Recibe aguas residuales industriales , domésticas y aportes de ríos
8	Alzate	19° 46' 66"	99° 70' 64"	No recibe contribuciones directas; zona ubicada aguas abajo de la presa Alzate

Tabla 2. Fecha y observaciones de los muestreos de agua y sedimento del Curso Alto del río Lerma (año 2003).

Muestreo	Fecha (2003)	Observaciones
1	Febrero	Frío y Estiaje
2	Mayo	Calor y Estiaje
3	Agosto	Calor y Lluvias
4	Noviembre	Frío y Lluvias

2.3. Preparación y análisis de las muestras

2.3.1. Agua

Para la determinación de metales totales las muestras se preservaron con ácido nítrico ultrapuro (2 mL L^{-1}) y se sometieron a un proceso de digestión acelerada por microondas en un horno de microondas *CEM*[®] modelo *MarsX* (*ASTM*, 1996). A una submuestra de 5 mL se le adicionó Ga, como estándar interno; posteriormente se tomó una alícuota de 20 μL , la cual se depositó sobre un reflector de cuarzo y se secó con una lámpara de luz infrarroja para su posterior análisis por fluorescencia de rayos X en la modalidad de reflexión total (TXRF).

Con el objeto de separar la fase soluble de la particulada o en suspensión un volumen de 800 mL de agua se centrifugó a 5000 rpm durante 30 min; el precipitado se recuperó sobre un filtro Millipore de 0,45 μm de tamaño de poro (previamente tarado), que se dejó secar a temperatura ambiente y se obtuvo el peso de la muestra para la posterior determinación de metales en suspensión. Para la obtención de los metales solubles el sobrenadante se filtró a través de un filtro *Millipore* de 0,45 μm y se fijó con ácido nítrico concentrado (grado ultrapuro) en la misma proporción que para metales totales. Se procesó de igual manera que para metales totales (Vaithiyanathan *et al.*, 1993; Dekov *et al.*, 1997).

2.3.2. Sedimento

El sedimento depositado se secó a temperatura ambiente y por tamizado a 250 mallas (63 μm); se obtuvo la fracción fina formada por partículas con un diámetro menor a 63 μm : Arcillas y limos. Ambos tipos de muestras se analizaron por fluorescencia de rayos X en la modalidad de energía dispersiva (EDXRF; Vaithiyanathan *et al.*, 1993; Dekov *et al.*, 1997; IAEA, 1997).

2.4. Análisis de Muestras

Con el propósito de determinar la distribución química de los metales pesados Mn, Fe, Cu, Zn, Cr y Pb en las fracciones total, suspendida y soluble del agua se analizaron las muestras empleando un espectrómetro de Fluorescencia de Rayos X marca “*Ital-Structures*” modelo TX 2000. Cada muestra se analizó por triplicado con un tiempo de conteo de 1000 s; como fuente de excitación se usó un tubo de molibdeno a 40 kV y 30 mA. Los rayos X fluorescentes derivados de la muestra pasaron por un detector de estado sólido tipo Si-Li. La energía de resolución (FWHM) del detector Si(Li) fue de 140 eV para la $K\lambda$ del Mn (Dekov *et al.*, 1997; IAEA, 1997; ASTM, 1999).

El análisis de los espectros y cuantificación de metales se realizó empleando el programa EDXRF32; los métodos de cuantificación empleados fueron “*Sensitividads teóricas con estándar interno*” para la modalidad de TXRF y el de “*estándar externo*” para EDXRF.

Como control de calidad interno se analizaron materiales de referencia: *Urban Particulate Matter 1648*, *Nacional Institute of Standard and Technology (NIST)*; SL-1: “*Trace Elements in Lake Sediments*”, *International Atomic Agency*; 149-C: “*RLA 8031-RLA 2021 Minerales CC-01*”, CEPIS/OPS/OMS. Los resultados mostraron una variación menor al 10 % entre el valor obtenido y el certificado, lo cual garantiza la confiabilidad de los resultados analíticos obtenidos.

Se procesaron los datos obtenidos aplicando el programa *Statgraphics® V. 5 Plus* para obtener la media, desviación estándar y límites de confiabilidad. Con el fin de establecer si existían o no diferencias significativas espaciales y temporales en la concentración de los metales en estudio se aplicó el análisis de varianza (ANOVA). Los análisis de varianza se realizaron con un nivel de confianza del 95 % ($p = 0,05$) (Manugistics, 2000).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las Tablas 3 y 4 muestran las concentraciones máximas, mínimas y promedio obtenidas para los metales Fe, Mn, Cu, Zn, Cr y Pb en la fase total, soluble y particulada del agua, así como los límites máximos permisibles establecidos en los Criterios Ecológicos para agua de riego y protección de la vida acuática (SEDUE, 1989) y los valores considerados como de referencia para ríos no contaminados (Salomos y Förstner, 1984). En la Tabla 5 se muestran los resultados para el sedimento depositado y su comparación con los criterios para la disposición de sedimentos dragados.

Tabla 3. Valor mínimo, máximo y promedio de Cr, Mn, Fe, Cu, Zn y Pb presentes en la fase total en el agua del CARL. Concentraciones dadas en $\mu\text{g L}^{-1}$.

Elementos	Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	Pb
Valor mínimo	<5,0	125	391	13	58	< 3,0
Valor máximo	56	788	8474	225	565	30
Valor promedio	21	300	2566	66	211	16
LMPar (SEDUE, 1989)	100	200	5000	200	2000	500
LMPva (SEDUE, 1989)	50	NR	1000	50	20	30
Valor referencia (Salomos y Förstner, 1984)	0,5	6,0	50	2,0	10	0,2
Valor máximo / LMPar Valor promedio / LMPar	0,5 0,2	4,0 1,5	1,7 0,5	1,1 0,3	0,3 0,1	0,06 0,03
Valor máximo / LMPva Valor promedio / LMPva	1,1 0,42	NR	8,4 2,5	4,5 1,3	28,2 10,5	1,0 0,5
Valor máximo / Valor referencia Valor promedio / Valor referencia	112 42	131 50	169 51	112 33	56 21	150 80

LMPva: Límite máximo permisible para la protección de la vida acuática (SEDUE, 1989);
LMPar: Límite máximo permisible para agua de riego (SEDUE, 1989); NR: No reportado.

Tabla 4. Valor mínimo, máximo y promedio de Cr, Mn, Fe, Cu, Zn y Pb presentes en la fase soluble y suspendida en el agua del CARL.

Elementos	Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	Pb
<i>Metales solubles</i>	($\mu\text{g/L}$)					
Valor mínimo	<5.0	11	98	10	23	<3,0
Valor máximo	19	298	984	40	220	14
Valor promedio	8	158	413	20	95	6
<i>Metales suspendidos</i>	(mg/kg)					
Valor mínimo	<12	16	177	<5,0	12	<6,0
Valor máximo	100	845	17820	107	485	70
Valor promedio	32	172	4244	29	146	16

Tabla 5. Valor mínimo, máximo y promedio de Cr, Mn, Fe, Cu, Zn y Pb en el sedimento fino depositado del CARL. Concentraciones dadas en mg kg⁻¹.

Elementos	Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	Pb
Valor mínimo	103	278	19443	23	78	13
Valor máximo	661	2020	84771	905	3384	116
Valor promedio	297	831	47808	153	595	43
EPA (EPA, 1975)	75	500	25000	50	200	60
MEC (MEC, 1993)	28	NR	NR	28	150	42
Valor máximo/Criterio EPA	8.8	4.0	3.4	18.1	17.0	2.0
Valor promedio/Criterio EPA	4.0	1.6	2.0	3.0	3.0	0.7
Valor máximo/Criterio MEC	23.6	NR	NR	32.3	22.5	2.7
Valor promedio/Criterio MEC	10.6			5.4	4.0	1.0

NR= No reportado.

3.1. Hierro y Manganeso

El Fe soluble presentó las concentraciones más altas en el área comprendida entre Totoltepec y Mezapa, siendo en esta última zona donde Fe soluble presentó sus máximos valores, lo cual se debe principalmente a las contribuciones provenientes del arroyo Mezapa que recibe los desechos (incluyendo la sangre) de más de 1000 cabezas de ganado ovino diarias, sin considerar al bovino, porcino y aves de corral. Suponiendo que el Fe de origen terrígeno o litogénico se encuentra mayoritariamente como particulado, se puede considerar que el Fe soluble en esta zona es principalmente de origen antropogénico, lo cual es de esperar, ya que es esta sección del CARL la que recibe los principales aportes de aguas residuales (Fall *et al.*, 2007).

El Fe se presentó principalmente en forma particulada (>70 %) durante los 4 muestreos en todas las zonas; durante el tercer muestreo (que se desarrolló en el mes de Agosto), en plena temporada de lluvias, con caudales promedio de 15 m³ s⁻¹ (Ávila *et al.*, 2007) se observó un aumento en la concentración del Fe, Mn y Pb en el último tramo del CARL (Fig. 1); este incremento se debe principalmente a la contribución por arrastres de suelos y de sedimentos de los ríos tributarios Xonacatlán, Oztolotepec, Santa Catarina, Verdiguél y San Lorenzo, que contribuyen con materiales origen terrígeno y litogénico. Así mismo el Fe en la fase total del agua presentó una correlación positiva con el Fe y Pb presente en el sedimento suspendido ($r = 0,91$; $p \leq 0,05$). La correlación positiva ($r = 0,58$; $p \leq 0,05$) con Mn y Pb en la fase soluble, sugieren un mismo origen, principalmente natural.

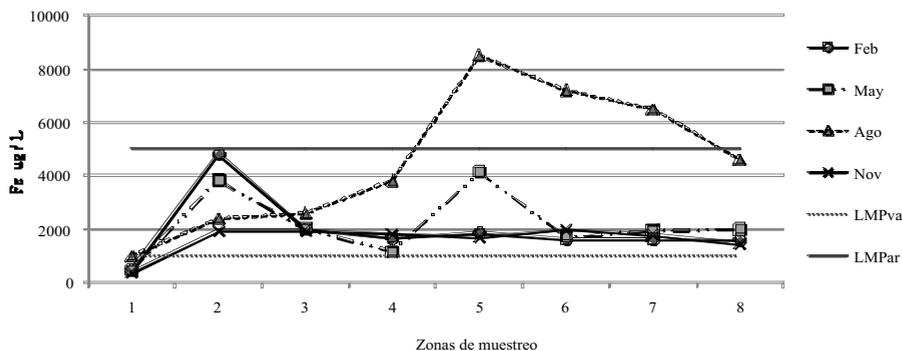


Figura 1. Distribución espacial y temporal de Fe en la fase total del agua del Curso Alto del río Lerma.

Las zonas con mayor acumulación de Fe en el sedimento depositado fueron Mezapa, Totoltepec, V. Cuauhtémoc y Alzate, que son las que reciben mayores aportes de Fe y que, en condiciones oxidantes y pH neutro a alcalino, tienen una baja movilidad (Hansen *et al.*, 1995); si, además, hay presencia de azufre, el ión Fe^{+2} tiende a asociarse con este elemento formando compuestos sulfurados que son altamente insolubles y que viajan a través del material particulado, para finalmente depositarse en el sedimento y conferirle un color negro intenso y un olor fétido típico (Salomons y Förstner, 1984).

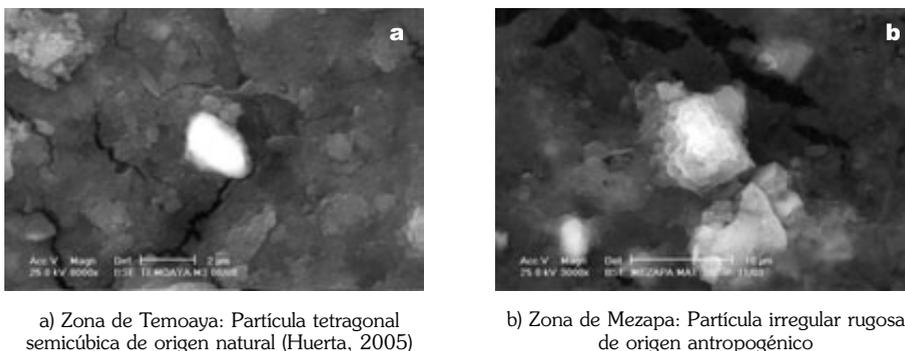
Estos resultados, soportados con resultados de morfología y composición química de las partículas de sedimento (Zarazúa *et al.*, 2006), indican que el Fe puede tener dos orígenes: Uno principalmente antropogénico entre las zonas de Mezapa y Totoltepec (Fig. 2b), donde no hay ríos importantes que contribuyan con sus afluentes, pero (como se comentó anteriormente) son importantes las descargas de aguas residuales provenientes de rastros e industrias; y otro principalmente natural en la última sección del CARL, donde se tienen contribuciones fluviales importantes, entre las zonas de Toluca-Naucalpan y Alzate (Fig. 2a).

El Mn presentó un comportamiento similar en la fracción total del agua y en el en el sedimento suspendido ($r = 0,9$, $p \leq 0,05$). En la zona de Almoloya y Alzate es donde se presentaron las concentraciones más altas de Mn durante el presente estudio, lo cual se debe a la presencia de oxígeno ($\geq 3,9$ $Mn L^{-1}$) que favorece la formación de especies oxidadas del Mn (Mn^{+4}), las cuales son insolubles y permanecen en el sedimento suspendido, o bien se depositan en el lecho de los cuerpos de agua. Por otro lado, como se observa en la Fig. 5, desde la zona de Mezapa y hasta Temoaya este metal estuvo presente en la fase soluble (≥ 60 %); ello se debe a que en esta sección del CARL la concentración de oxígeno disuelto fue menor a $0,5$ $mg L^{-1}$, es decir, condiciones prácticamente anóxicas, lo cual favorece

la formación de las especies reducidas (Mn^{+2}) solubles en medios acuáticos (Förstner y Wittmann, 1979; Salomons y Förstner 1984).

El Mn presente en el sedimento depositado, al igual que el Fe, presentó las concentraciones más altas en Totoltepec (963 Mn kg^{-1}), V. Cuauh-témoc (1583 Mn kg^{-1}) y Alzate (1212 Mn kg^{-1}).

Tanto en agua como en sedimento suspendido el comportamiento desde el punto de vista temporal fue similar para Mn y Fe, observándose diferencias significativas del muestreo de Agosto con relación a los otros tres muestreos ($p \leq 0,05$): Agosto > Mayo > Febrero > Noviembre (2003). Este resultado, junto con lo anteriormente descrito, muestra la influencia de los ríos tributarios Xonacatlán, Oztolotepec, Verdiguél, San Lorenzo y Santa Catarina, los cuales están aportando materiales terrígenos y litogénicos.



a) Zona de Temoaya: Partícula tetragonal semicúbica de origen natural (Huerta, 2005)

b) Zona de Mezapa: Partícula irregular rugosa de origen antropogénico

Figura 2. Micrografías de partículas compuestas (principalmente por Fe y O) presentes en el sedimento suspendido del CARL.

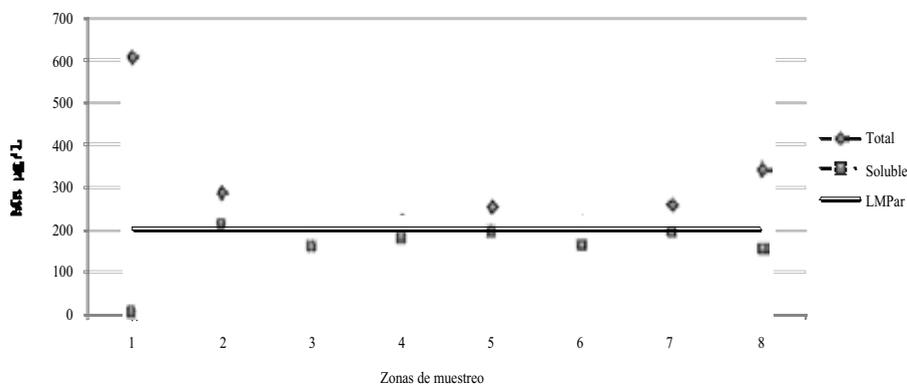


Figura 3. Distribución espacial de Mg en la fase total y soluble del agua del CARL.

3.2. Cobre, Zinc, Cromo y Plomo

Las Fig. 4 a 7 muestran la distribución de los metales Cu, Zn, Cr y Pb, en la fracción total del agua a lo largo del CARL durante las 4 campañas de muestreo. En general las concentraciones de los metales Cu, Zn, Cr y Pb en agua y sedimento fueron más altas en la zona intermedia del CARL, que corresponde al área geográfica con mayor aporte urbano e industrial, ya que recibe el agua residual de 30 municipios, 10 zonas y 12 parques industriales y 4 plantas de tratamiento de aguas residuales (Gobierno del Estado de México, 2000), lo cual muestra claramente que las actividades antropogénicas en el área circunvecina a la zona de estudio tienen un impacto importante en la calidad del agua y de los sedimentos del CARL.

Analizando los resultados obtenidos en agua (y al igual que para el Fe) Mezapa siguió presentando concentraciones importantes de Cu, Zn, Cr y Pb. Sin embargo, la zona de México-Toluca presentó las concentraciones más altas de estos metales; esto se debe a los aportes de los afluentes del parque industrial Ocoyoacac, Barrio de Guadalupe, Colector II Sur y, principalmente, al de San Mateo Atenco, el cual descarga aguas residuales con altos contenidos de estos metales, ya que en este municipio se ubica un gran número de industrias artesanales dedicadas a la curtiduría, manufactura de calzado, artículos de piel y metal-mecánica (torno, herrajes, etc.) que vierten sus aguas residuales sin tratamiento al CARL (Gobierno del Estado de México, 2000).

Para el caso de los metales presentes en el sedimento depositado, los resultados del tratamiento estadístico indican que no hay diferencia temporal entre las concentraciones de los metales en estudio ($p \leq 0,05$), lo cual se debe principalmente al método de muestreo aplicado, el cual no permite la separación de estratos o muestreo en columna. Por otro lado las concentraciones más altas se registraron en la zona de Totoltepec, entre 962 y 3384 mg kg⁻¹, seguida de Mezapa, entre 740 y 1133 mg kg⁻¹; en general las concentraciones más bajas se registraron en Almoloya y en Alzate. Estas cuatro zonas presentan diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$) con el resto del CARL.

En la zona de Totoltepec (aunque recibe aportes domésticos e industriales importantes) se observó una disminución de la concentración de metales en agua; este resultado contrasta con lo encontrado para el sedimento fino (Fig. 8), ya que en esta matriz es donde se dio la máxima acumulación de todos los metales en estudio, siendo significativamente diferentes al resto del CARL ($p \leq 0,05$). Este comportamiento puede deberse a que la zona comprendida entre el dren San Faustino y 500 m aguas arriba del arroyo Totoltepec se encontraba totalmente cubierta de lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) durante todo el periodo de estudio, el cual actuó como una barrera física, cambiando no sólo las condiciones hidrodinámicas del sistema al disminuir la velocidad de flujo y favorecer los procesos de sedimentación, sino que, también, al tener la capacidad de bioacumular metales pesados (hasta 10 g metal kg⁻¹ biomasa seca)

contribuyó a la disminución de la concentración de éstos en el agua (Rosano-Ortega *et al.*, 2007). De esta manera Totoltepec puede considerarse como la principal zona de acumulación de los metales Mn, Fe, Cu, Zn, Cr y Pb (Fig. 8).

Durante el tercer muestreo, en la zona de Toluca-Naucalpan, se dio un aumento en la concentración de todos los metales en estudio; ello se observó tanto en agua y en el sedimento suspendido. Generalmente, cuando se da aumento inusual de este tipo en un cuerpo de agua, se debe a un incremento en el volumen de descargas de origen antropogénico y/o aumento en los caudales de ríos tributarios (Förstner y Wittmann, 1979; Salomons y Förstner 1984). En este caso esta contribución puede ser de origen natural, al provenir de arrastres de suelos y fluviales de río Xonacatlán, así como de origen antropogénico por las descargas que recoge el arroyo Totoltepec de los parques industriales Exportec I y II, San Antonio Buenavista y de la Planta Toluca-Oriente, que trata el agua de la zona industrial de la ciudad de Toluca.

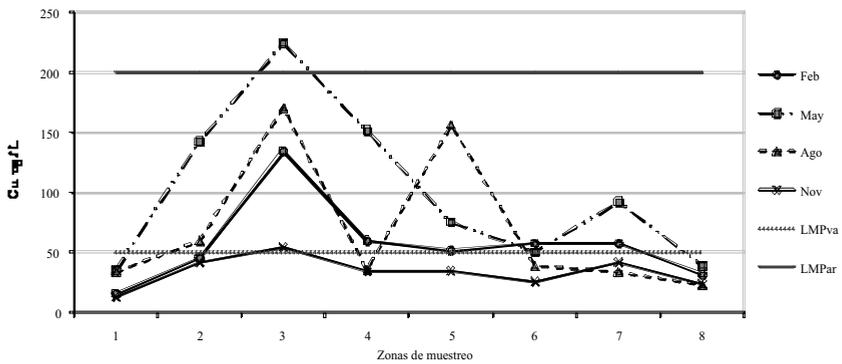


Figura 4. Distribución espacial y temporal de Cu en la fase total del agua del CARL.

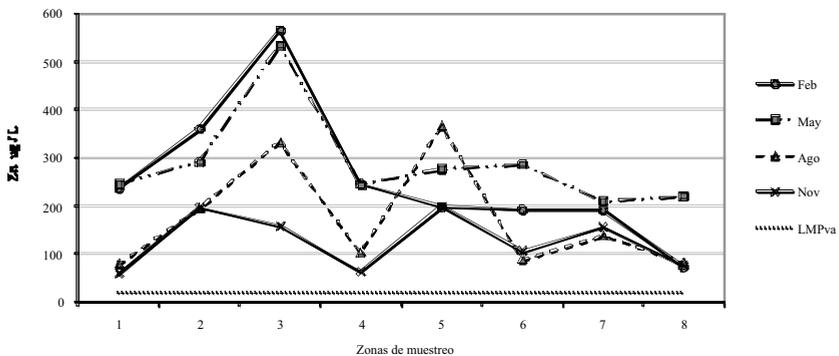


Figura 5. Distribución espacial y temporal de Zn en la fase total del agua del CARL.

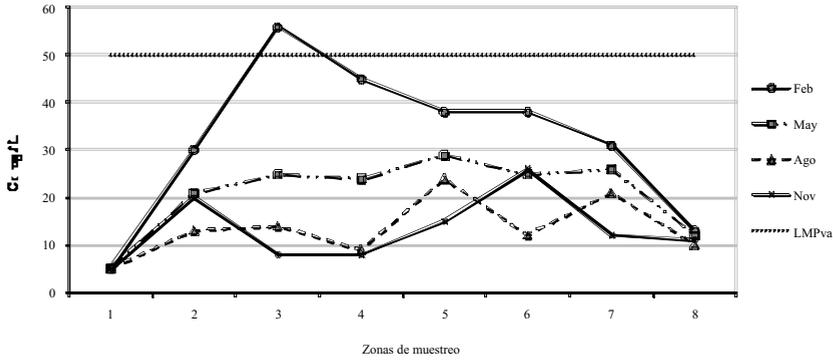


Figura 6. Distribución espacial y temporal de Cr en la fase total del agua del CARL.

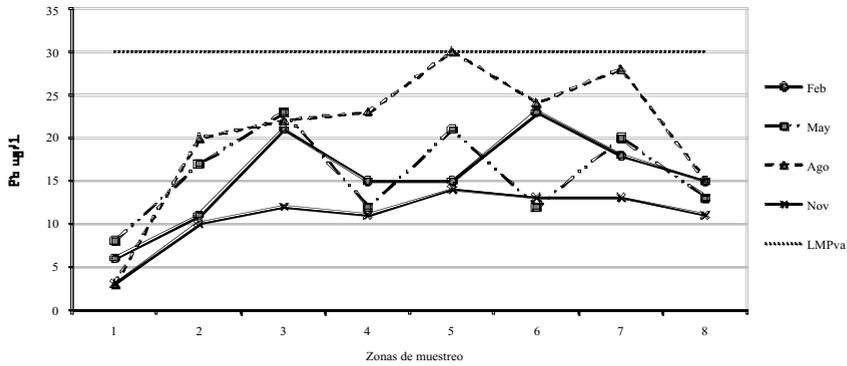


Figura 7. Distribución espacial y temporal de Pb en la fase total del agua del CARL.

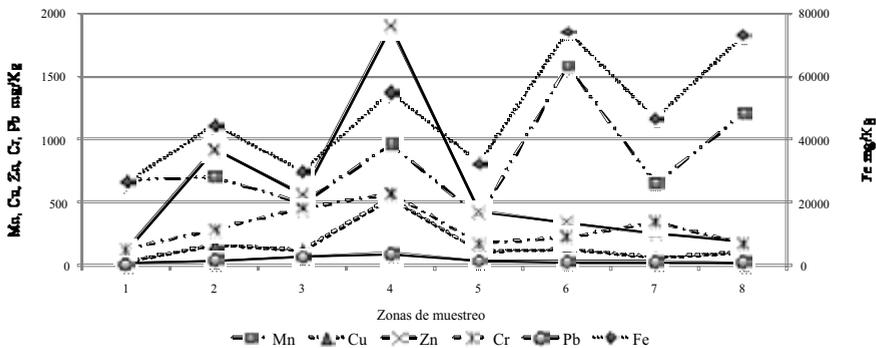


Figura 8. Distribución espacial de Mn, Fe, Cu, Zn, Cr y Pb en el sedimento fino depositado del CARL.

Tomando en cuenta lo discutido anteriormente se puede inferir que el Cu, Zn, Cr y Pb provienen, principalmente, de fuentes antropogénicas; estos resultados se apoyan con lo observado por microscopía electrónica de barrido en el sedimento suspendido y depositado, en los cuales se aprecian partículas con un alto contenido de metales (> 40 %) como Ag, Al, Bi, Ce, Cu, Hg, Pb, Sn, W y Zn de origen antropogénico (Fig. 9 y 10).

Por otro lado, comparando los resultados obtenidos con los LMP para agua de riego y protección de la vida acuática establecidos en los Criterios Ecológicos de la Calidad del Agua (SEDUE, 1989), se observa que para agua de riego sólo el Mn total rebasó el LMP (200 $\mu\text{g Mn L}^{-1}$) hasta en 4 veces y para la protección de la vida acuática el Fe, Cu y Zn rebasaron el LMP, en promedio 2,5, 1,3 y 10,5 veces respectivamente. En cuanto a lo valores de referencia todos los metales los rebasaron más de 21 veces.

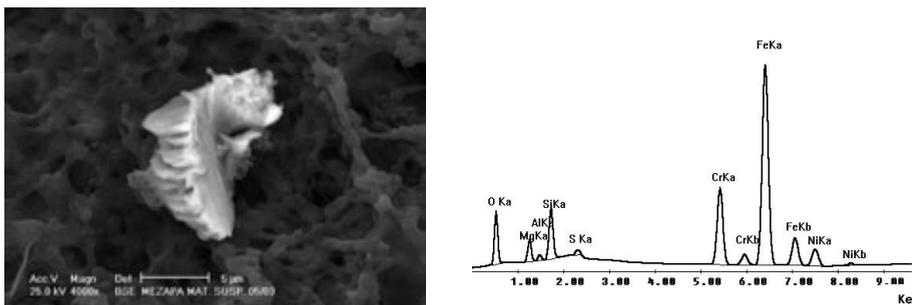


Figura 9. Espectro EDS y micrografía a 4000X de una partícula irregular de 7 μm con una composición característica de acero inoxidable (Cr, Fe y Ni).

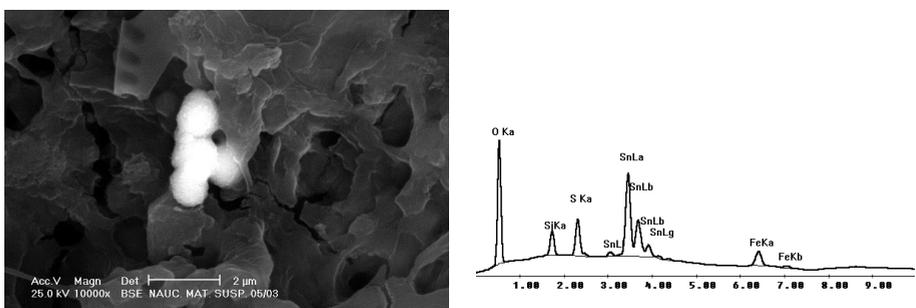


Figura 10. Espectro EDS y micrografía a 1000X de un grupo de partículas de sedimento suspendido de forma semicúbica de 1 μm , compuestas principalmente por Sn, Fe, O y S.

Si se toman en cuenta los valores base para ríos del mundo considerados como no contaminados, se observa que la concentración promedio de Fe y Mn rebasan este valor 50 veces, la del Cu, Zn y Cr 33, 21 y 42 veces respectivamente y, finalmente, la del Pb 80 veces.

Comparando las concentraciones de los metales en estudio obtenidas con los criterios internacionales, se observa que el Cr, Mn, Fe, Cu y Zn en todas las zonas rebasaron el criterio establecido por la EPA. En el caso del Pb, sólo en las zonas de México-Toluca y Totoltepec se rebasó este criterio. Aplicando el criterio MEC se puede apreciar que también es superado por estos metales. Para ambos criterios el Cu es el metal que rebasó más veces los criterios antes citados (hasta 32 veces el MEC y hasta 18 veces el de la EPA) y sigue la serie $Zn > Cr > Mn > Fe > Pb$.

Considerando lo anteriormente expuesto se puede concluir que el agua del CARL no cumple para el propósito de riego agrícola y supera los valores de referencia de Fe, Mn, Cu, Zn, Cr y Pb, así como los reportados en otros ríos del mundo, de tal manera que este cuerpo de agua podría considerarse entre los ríos más contaminados por actividades antropogénicas.

4. CONCLUSIONES

En el cauce alto del río Lerma la química del Mn estuvo regida básicamente por la presencia o ausencia de oxígeno disuelto, por lo que en las zonas de Almoloya y Alzate este metal se encontró asociado a material particulado, mientras que en el resto del CARL predominó en forma soluble. El Fe, Cr y Pb se encontraron principalmente asociados a la fase particulada, mientras que el Cu y Zn tuvieron tendencia hacia la fase soluble.

Almoloya y Alzate fueron las zonas que en general presentaron las concentraciones más bajas de Cu, Zn, Cr y Pb y fueron significativamente diferentes al resto del CARL ($p \leq 0,05$). En estas zonas las contribuciones fueron principalmente de origen natural (autígeno, biogénico, terrígeno y litogénico).

El área geográfica comprendida entre las zonas de Mezapa y V. Cuauh-témoc presentó las concentraciones más altas de Cu, Zn, Cr y Pb. La correlación positiva ($r \geq 0,6$, $p \leq 0,05$) entre estos metales el tipo de afluentes que descargan sus aguas en esta área permitió inferir todos que estos metales tienen el mismo origen, principalmente antropogénico.

Totoltepec fue la principal zona de acumulación de Fe, Mn, Cu, Zn, Cr y Pb en sedimento depositado, presentando el mayor enriquecimiento (junto con los de las zonas de Mezapa y México-Toluca).

El Fe y Mn (considerados como elementos terrígenos) fueron principalmente de origen natural y se observó que tienen un impacto importante en

la última sección del CARL, entre las zonas de Toluca-Naucalpan y Temoaya, debido a los aportes de suelos y arrastres fluviales.

En el agua del CARL se observaron diferencias temporales en la concentración de metales pesados entre la época de estiaje (Febrero y Mayo) y la de lluvias (Agosto y Noviembre). El Fe y Mn, considerados principalmente de origen natural presentaron la mayor concentración en el periodo de lluvias, mientras que la mayor concentración de los metales potencialmente tóxicos (Cu, Zn, Cr y Pb) se registró durante la época de estiaje.

El metal que presentó la mayor biodisponibilidad en el agua del CARL fue el Mn, ya que en la zona intermedia del CARL se encontró prácticamente en forma soluble, seguido del Zn, Pb, Cu y Cr; el menos disponible fue el Fe.

Sólo el Mn rebasó (hasta 4.5 veces) el LMP ($200 \mu\text{g Mn L}^{-1}$) para agua de riego establecido en los Criterios Ecológicos de la Calidad del Agua (SEDUE, 1989). El Fe, Cu y Zn rebasaron el LMP (1000 , 50 y $20 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente) para la protección de la vida acuática establecidos en los Criterios Ecológicos de la Calidad del Agua.

El Cr, Mn, Fe, Cu y Zn presentes en el sedimento fino depositado del CARL rebasaron los criterios establecidos por el Ministerio Ambiental de Canadá (MEC) y por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) para sedimentos dragados, por lo que se pueden considerar como contaminados y, de acuerdo al criterio MEEO para la protección de la vida acuática, estos sedimentos pueden ocasionar efectos de ligeros a severos sobre la biota y, de no mejorar las condiciones de calidad, se podría alterar la cadena trófica.

Los resultados del presente trabajo permiten concluir que las zonas de mayor contribución y acumulación de Cr, Mn, Fe, Cu, Zn y Pb (y que se pueden considerar *zonas de alerta*) son Mezapa, Totoltepec y México-Toluca, por lo que son estas zonas las que requieren acciones de prevención, control y recuperación de manera prioritaria.

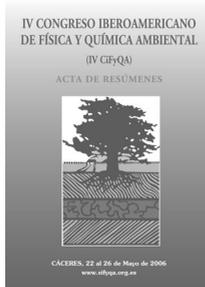
5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASTM (1996). Standard test method for on-line measurement of low level particulate and dissolved metals in water by X-Ray Fluorescence (XRF). *American Society for Testing and Materials*, D 6502-99.
- Ávila-Pérez P., Zarazúa G., Barceló-Quintal I., Bussy A. y Díaz C. (2006). Distribution mercury in the water and bottom sediment of the J.A. Alzate Dam, Mexico. *International Journal of Environment and Pollution*, 26: 174-186.
- Ávila-Pérez P., Zarazúa G., Carapia L., Tejeda S., Díaz-Delgado C. y Barceló-Quintal I. (2007). Evaluation of heavy metals and elemental composition of

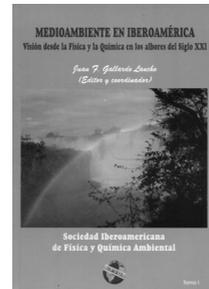
- particles in suspended matter of the Upper Course of the Lerma River. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 273: 625-633.
- Baccini P. (1989). The control of heavy metals fluyes from the antroposphere to the environments. En: *Heavy metals in the environment*. J.P. Vernet (edt.). Elsevier, New York.
- Buffle J. y De Vitre R. 1994. Chemical and Biological Regulation of aquatic systems. Lewis Publ., New York. 393 pp.
- Dekov V.M., Komy Z., Araújo F., Van Put A. y Van Grieken R. (1997). Chemical composition of sediments, suspended matter, river water and ground water of the Nile (Aswan–Sohag). *The Science of the Total Environment*, 201: 195-210.
- Dekov V.M., Araújo F., Van Grieken R. y Subramanian V (1998). Chemical composition of sediments, suspended matter from the Cauvery and Brahmaputra rivers (India). *The Science of the Total Environment*, 212: 89-105.
- Droppo I. y Jaskot C. (1995). Impact of river transport characteristics on contaminant sampling error and design. *Environ. Sci. Technol.*, 29: 161-170.
- Environmental Protection Agency of United States* (1975). Regulations governing discharge of dredged or filled material in navigable waters. *Federal Register* 40-41: 292-298. EPA, Washington D.C.
- Fall C., Hinojosa P. y Carreño C. (2007). Design of a monitoring network and assessment of the pollution on the Lerma river and its tributaries by wastewaters disposal. *The Science of the Total Environment*, 373: 208-219.
- Fall C., Hinojosa P. Jiménez C. y Carreño C. (2006). Wastewaters discharge impact on an important river of the Lerma-Chapala watershed. *Transactions on Ecology and the Environment*, 95: 79-90.
- Förstner U. y Wittmann G. (1979). *Metal pollution in the aquatic environment*. Edward D. Goldberg. Springer Verlag, Berlín. 486 pp.
- Gobierno del Estado de México (2000). *Atlas ecológico de la cuenca hidrográfica del río Lerma*. Tomo V: Industrial. Comisión Coordinadora para la Recuperación Ecológica de la Cuenca del Río Lerma. México. 353 pp.
- Hansen A., León A. e Inclán L. (1995). Fuentes de contaminación y enriquecimiento de metales en sedimento de la Cuenca Lerma, Chapala. *Ingeniería Hidráulica en México*, 10: 55-69.
- International Atomic Energy Agency (IAEA)*. (1997). Sampling, storage and sample preparation procedures for X-Ray fluorescence analysis of environmental materials. *IAEA-TECDOC-950*. 55 pp. IAEA, Viena.
- Manugistics INC (2000). *Statgraphics Plus*. Versión 5. Manugistics. *Statistical Graphics Corporation*. USA. 405 pp.
- Ministry of the Environment of Canada (MEC)* (1993). Cadre Législatif de gestion des sédiments au Québec. Plan d'action Saint-Laurent. *Sediment quality criteria for the disposal of dredged material*. M.E.C., Ottawa (Canadá).
- Nyffeler U., Li Yuan y Santschi P. (1984). A kinetic approach to describe trace-element distribution between particles and solution in natural aquatic systems. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 44: 1513-1522.

- Rosano-Ortega G., Ávila-Pérez P., Zavala G., Santiago P., Canizal G., Ascencio J. (2007). Inorganic nanoparticles induced naturally in water hyacinth: Structural and chemical study. *Inter. J. of Bionanoscience*, 9: 51-59.
- Salomons W. y Förstner U. (1984). *Metals in the hydrocycle*. Springer Verlag, Berlín. 350 pp.
- Secretaría de Desarrollo Urbano y Ecología (SEDUE) (1989). *Criterios ecológicos de la calidad del agua*. CE-CCA-001/89. Diario Oficial de la Federación. Diciembre 2 de 1989. México. 11 pp.
- Vaithyanathan P., Ramanathan A. y Subramanian V. (1993). Transport and distribution of heavy metals in Cauvery River. *Water, Air and Soil Pollution*, 71: 13-28.

OBRAS EDITADAS Y PUBLICADAS POR LA SIFYQA:



“*Actas de Resúmenes*”. IV Congreso Iberoamericano de Física y Química Ambiental (SiFyQA, Cáceres 2006).



“*Medio ambiente en Iberoamérica*” (3 vol.; SiFyQA, Badajoz 2006).



“*La Captura de Carbono en ecosistemas terrestres iberoamericanos*” (SiFyQA, Salamanca 2007)



“*Contaminación en Iberoamérica: Xenobióticos y Metales pesados*” (SiFyQA, Salamanca 2008).

Próxima obra (título provisional):

“*Emisiones de gases en Iberoamérica*” (SiFyQA, Salamanca 2009).

