



MINISTERIO
DE EDUCACION
Y CIENCIA

Ciemat Centro de Investigaciones
Energéticas, Medioambientales
y Tecnológicas.

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA
Unidad de Espectroscopía

**DESARROLLO Y APLICACIÓN DE NUEVAS
METODOLOGÍAS ANALÍTICAS PARA EL
ESTUDIO DEL FRACCIONAMIENTO Y
MOVILIDAD DEL MERCURIO EN
MUESTRAS MEDIOAMBIENTALES**

Memoria de Tesis Doctoral

RODOLFO FERNÁNDEZ MARTÍNEZ

Madrid, Junio 2006



MINISTERIO
DE EDUCACION
Y CIENCIA

Ciemat Centro de Investigaciones
Energéticas, Medioambientales
y Tecnológicas.

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA
Unidad de Espectroscopía

DESARROLLO Y APLICACIÓN DE NUEVAS METODOLOGÍAS ANALÍTICAS PARA EL ESTUDIO DEL FRACCIONAMIENTO Y MOVILIDAD DEL MERCURIO EN MUESTRAS MEDIOAMBIENTALES

Memoria de Tesis Doctoral

RODOLFO FERNÁNDEZ MARTÍNEZ

Trabajo dirigido por Dra. M^a ISABEL RUCANDIO SÁEZ

Trabajo tutorado por Dra. M^a DOLORES PETIT DOMÍNGUEZ

Madrid, Junio 2006

Presentado en: UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID



FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO: QUÍMICA ANALÍTICA Y ANÁLISIS INSTRUMENTAL
PROGRAMA DE DOCTORADO CON MENCIÓN DE CALIDAD:
LA QUÍMICA ANALÍTICA COMO CIENCIA MULTIDISCIPLINAR

AGRADECIMIENTOS

Por fin, después de cuatro años y medio, tropecientos mil y una quejas y muchos, muchísimos momentos estupendos, he llegado al final de este camino tan apasionante que he recorrido para presentar lo que aquí está escrito. Ahora llega el momento de acordarse de todas aquellas personas e instituciones que, de alguna manera, me han ayudado a lo largo de este tiempo y en el desarrollo de este trabajo. Por eso quiero expresar mi más sincero agradecimiento:

A mi directora de tesis, Dra. María Isabel Rucandio Sáez, que me ha dirigido en este trabajo de investigación, a la que debo mi formación como investigador y de la que he aprendido muchísimo en estos años. Para mí es una suerte y un orgullo haber podido trabajar a su lado.

A mi madre, que se siente muy orgullosa de mí, ella fue la primera que se alegró cuando decidí empezar esto y siempre ha estado conmigo en todos los momentos de mi vida, haciéndome sentir que lo que es importante para mí también lo es para ella.

A mi padre, por su apoyo y su preocupación por mí y por transmitirme que siempre que lo he necesitado lo he tenido.

A mis hermanos, Mañi y Jose, por su cariño y por hacerme sentir que, aunque estemos lejos, siempre nos tenemos. Si ellos se sienten orgullosos de mí, más me siento yo de tenerlos como hermanos.

A mi novia, María, por todo lo que me da, por formar parte de mi vida y por su apoyo sincero, su amor es lo mejor que me ha pasado y el mayor estímulo que puedo tener para lograr cualquier cosa que me proponga.

A mis abuelas, Lola y Amalia, a las que quiero muchísimo y que se alegran por todo lo bueno que me pasa.

A mi tía María Luisa, que también es mi madrina, por su cariño, su preocupación por mí y su apoyo en estos años.

Al resto de mi familia, de Jaén y de Granada, por estar ahí y querer lo mejor para mi.

A mis amigos y excompis del famoso piso de Aluche, José Miguel y Juanjo, y también a Inma, la “cuarta aluchiana”. Si estos años en Madrid han merecido la pena, en gran parte ha sido gracias a ellos. Especialmente, agradezco a José Miguel todas las charlas, consejos y alguna que otra bronca que me ha echado para ayudarme a ver las cosas claras y seguir adelante.

A mi amigo Juan, que siempre me ha aconsejado y apoyado en todo lo que he hecho y del que me precio de tener su amistad.

A mis amigos de Madrid, Luisa, Rosi, Ángela y todos los cordobeses, gracias por todas las risas, cenas, fiestas, bodas y momentos geniales que hemos pasado a lo largo de estos años.

A Eloisa, por su apoyo constante y sincero, por escucharme siempre y porque sé que se siente orgullosa de que al final lo haya conseguido.

Al CIEMAT, por poner los medios a mi disposición para desarrollar los estudios de investigación aquí presentados y por darme la oportunidad de formarme como investigador.

A mis compis de laboratorio, Rosa, mi mami en Madrid, Candelas, la voz de mi conciencia, Mar, mi psicoterapeuta particular, Amor, Pilar, Felisa, Marisa, Belén, Anabel, Luis, Santiago e Iñigo. Todos ellos me han ayudado muchísimo en todo lo que he necesitado, me han dado su apoyo, me han animado y han aguantado alguna de mis frustraciones y prontos, que como dice Candelas, si los controlase sería ya la repanocha en persona.

A toda la gente de la División de Química del CIEMAT, que a lo largo del desarrollo de la Tesis me han echado una mano en todo lo que he ido necesitando y siempre han tenido un rato para ayudarme, aconsejarme y aclararme las dudas que haya podido tener sobre cualquier cosa relacionada con su campo de trabajo. Igualmente deseo

expresar mi orgullo por haber pertenecido a esta División y haberlos tenido como compañeros.

A los doctores Jorge Loredó y Almudena Ordóñez, de la Escuela de Minas de la Universidad de Oviedo, por proporcionarme las muestras de suelos de Asturias, por todas sus aportaciones, siempre valiosas y constructivas, y por su colaboración en todos los trabajos que hemos realizado conjuntamente.

A la Dra. M^a Dolores Petit Domínguez, por sus aportaciones y críticas, que han contribuido a enriquecer y mejorar la presente memoria de tesis.

Al Dr. Pablo Higuera de la Universidad de Castilla-La Mancha, por sus valiosas aportaciones en el capítulo dedicado al estudio de los suelos de Almadén.

Al Ministerio de Educación y Ciencia (antiguo MCYT) y a la CICYT por la ayuda económica prestada (Proyecto BQU2003-07509-C02-02).

ÍNDICE TESIS

1. OBJETIVO	9
2. INTRODUCCIÓN	
2.1. El Mercurio y sus compuestos	11
2.1.1. Historia del mercurio	11
2.1.2. Especies de mercurio	13
2.1.3. Toxicología del mercurio	17
2.1.4. El mercurio en el medioambiente	19
2.1.4.1. Fuentes de mercurio	19
2.1.4.2. Transporte y deposición de mercurio	21
2.1.4.3. Distribución y transformación del mercurio en el medioambiente	23
2.1.4.4. El mercurio en suelos y sedimentos	24
2.2. Alcance y finalidad de la tesis	31
2.3. Referencias	32
3. DESCRIPCIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS UTILIZADAS PARA LA DETERMINACIÓN DE Hg	
3.1. Técnicas analíticas comúnmente empleadas para la determinación de mercurio	37
3.2. Espectrometría de Absorción Atómica	39
3.2.1. Espectrometría de Absorción Atómica con Generación de Vapor Frío de Hg (CV-AAS)	39
3.2.2. Espectrometría de Absorción Atómica con Atomización Electrotérmica y Reducción Catalítica.	42
3.3. Espectrometría de Emisión Atómica con Fuente de Plasma Acoplado por Inducción (ICP-AES)	44
3.3.1. ICP-AES	45
3.3.2. CV-ICP-AES	47
3.4. Otras técnicas	49
3.5. Referencias	49
4. DESCRIPCIÓN DE METODOS ANALÍTICOS, APARATOS, MATERIALES, REACTIVOS Y MATERIALES DE REFERENCIA UTILIZADOS PARA EL ESTUDIO DEL Hg.	

4.1. Determinación de Hg Total	51
4.1.1. Generalidades	51
4.1.2. Procedimiento experimental de los métodos empleados para la determinación del Hg total a lo largo de la presente tesis	52
4.1.2.1. Determinación en muestras sólidas con digestión ácida	52
4.1.2.2. Determinación directa en muestras sólidas	53
4.1.2.3. Determinación directa en muestras líquidas	54
4.2. Métodos de extracción secuencial	55
4.2.1.1. Generalidades	55
4.2.1.2. Extracciones simples	56
4.2.1.3. Extracciones secuenciales	56
4.3. Métodos de extracción secuencial aplicados al estudio del Hg en suelos y sedimentos	61
4.3.1. Antecedentes	61
4.3.1.1. Método Revis	61
4.3.1.2. Método Giulio y Ryan	62
4.3.1.3. Método Sakamoto	62
4.3.1.4. Método Bloom	63
4.3.1.5. Método EPA 3200	64
4.3.2. Procedimiento experimental de los métodos de extracción aplicados a lo largo de la presente tesis	66
4.3.2.1. Método Revis	66
4.3.2.2. Método propuesto de determinación de Hg unido a sulfuro	68
4.3.2.3. Método EPA 3200	69
4.3.2.4. Método propio de extracción secuencial de Hg	73
4.4. Métodos de determinación de Hg Orgánico	77
4.4.1. Método propio para la determinación de la fracción orgánica de Hg en muestras sólidas	77
4.4.2. Método propio para la determinación de la fracción orgánica de Hg en aguas	78
4.5. Aparatos, materiales, reactivos y materiales de referencia	79
4.5.1. Aparatos empleados a lo largo de los estudios de la presente Tesis Doctoral	79
4.5.2. Materiales	80
4.5.3. Reactivos	81
4.5.4. Materiales de referencia	82
4.6. Referencias	82

5. DESARROLLO DE UN MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE MERCURIO ORGÁNICO	
5.1. Metilmercurio en el medioambiente	85
5.2. Antecedentes: Métodos de determinación de MetilHg en suelos y sedimentos	88
5.2.1. Métodos de extracción selectiva de la fracción orgánica de Hg	88
5.2.2. Técnicas analíticas empleadas para la determinación de especies orgánicas de Hg	91
5.3. Objetivo y Justificación	92
5.4. Desarrollo experimental	95
5.4.1. Preparación de muestras con MeHg añadido	95
5.4.2. Lavado de material	96
5.4.3. Optimización de las diferentes etapas del método	98
5.4.3.1. Elección de las condiciones iniciales	98
5.4.3.2. Extracción selectiva de las especies orgánicas de Hg	99
5.4.3.3. Eliminación del disolvente orgánico y estabilización de la muestra	102
5.4.3.4. Determinación analítica del Hg orgánico extraído	108
5.5. Validación del método	110
5.6. Aplicación a aguas	111
5.6.1. Justificación y Objetivo	111
5.6.2. Desarrollo experimental	112
5.6.2.1. Toma de muestras	112
5.6.2.2. Preparación de muestras artificiales	113
5.6.2.3. Procedimiento experimental. Adaptación a su empleo para muestras de agua	113
5.6.3. Discusión	114
5.7. Conclusiones del estudio	116
5.8. Referencias	117
6. ESTUDIOS DE EXTRACCIÓN DE ESPECIES DE Hg EN HNO₃ Y HCl	
6.1. Justificación y Objetivo	123
6.2. Ensayos de solubilidad de especies de Hg en disoluciones concentradas de ambos ácidos	125
6.2.1. Objetivo	125
6.2.2. Procedimiento experimental	125

6.2.3. Resultados y discusión	126
6.3. Estudio bibliográfico y experimental de la solubilidad del HgS en presencia de compuestos potencialmente capaces de promover susolubilidad en ambos ácidos.	127
6.3.1. Objetivo	127
6.3.2. Estudio bibliográfico de compuestos capaces de promover la solubilidad del HgS en HNO ₃ y HCl	127
6.3.3. Procedimiento experimental	128
6.3.4. Resultados y discusión	130
6.3.4.1. Solubilidad del HgS en HNO ₃	131
6.3.4.2. Solubilidad del HgS en HCl	131
6.4. Estudio de la extracción del Hg en un suelo de un área minera. Influencia del contenido de HgS	132
6.4.1. Objetivo	132
6.4.2. Procedimiento experimental	133
6.4.3. Resultados y discusión	135
6.5. Estudio de la extracción del Hg en suelos con compuestos potencialmente interferentes adicionados	136
6.5.1. Justificación y Objetivo	136
6.5.2. Procedimiento experimental	137
6.5.3. Resultados y discusión	138
6.5.3.1. Extracción con HNO ₃	139
6.5.3.2. Extracción con HCl	139
6.6. Conclusiones del estudio	140
6.7. Referencias	141
7. DESARROLLO DE UN MÉTODO DE EXTRACCIÓN SECUENCIAL PROPIO	
7.1. Objetivo	143
7.2. Primeta etapa: Especies Lábilés de Hg	144
7.2.1. Justificación y Objetivo	144
7.2.2. Desarrollo Experimental	146
7.2.2.1. Ensayos de Solubilidad de compuestos puros de Hg en HNO ₃ 0,2 N	146
7.2.2.1.1. Objetivo	146
7.2.2.1.2. Procedimiento experimental	147
7.2.2.1.3. Resultados	147
7.2.2.2. Ensayos de Extracción: Optimización de las condiciones experimentales	148
7.2.2.2.1. Objetivo	148
7.2.2.2.2. Procedimiento experimental	148
7.2.3. Discusión	152

7.3. Hg Asociado a Materia Húmica y Fúlvica	155
7.3.1. Justificación y Objetivo	155
7.3.2. Desarrollo Experimental	157
7.3.2.1. Preparación de una muestra con un contenido elevado de Hg asociado a materia orgánica	157
7.3.2.2. Ensayos de extracción: Optimización de las condiciones experimentales	158
7.3.2.2.1. Objetivo	158
7.3.2.2.2. Optimización de las condiciones experimentales	159
7.3.3. Discusión	163
7.4. Tercera etapa: Óxidos e hidróxidos amorfos de Fe y Mn	165
7.4.1. Justificación y Objetivo	165
7.4.2. Desarrollo Experimental	168
7.4.2.1. Procedimiento general	168
7.4.2.2. Optimización de las condiciones experimentales	169
7.4.2.2.1. Elección de las condiciones iniciales	169
7.4.2.2.2. Ensayo en las condiciones Gommy. Comparación con el método BCR	170
7.4.2.2.3. Optimización de las condiciones experimentales	171
7.4.3. Discusión	174
7.5. Cuarta etapa: Hg Elemental	175
7.5.1. Justificación y Objetivo	175
7.5.2. Desarrollo Experimental	178
7.5.2.1. Elección de las condiciones experimentales	178
7.5.2.2. Procedimiento experimental	180
7.5.2.3. Estudios de Extractabilidad de Hg Elemental	180
7.5.2.3.1. Preparación de muestras adicionadas	180
7.5.2.3.2. Aplicación de la extracción con HNO ₃ 50% v/v	181
7.5.3. Discusión	183
7.6. Quinta etapa: Hg Asociado a Sulfuro	185
7.6.1. Justificación y Objetivo	185
7.6.2. Desarrollo Experimental	187
7.6.2.1. Preparación de muestras con adiciones de HgS	187
7.6.2.2. Procedimiento general	188
7.6.2.3. Ensayos de Extracción	189
7.6.3. Discusión	192
7.7. Diagrama de flujo y validación del método	194
7.8. Referencias	197

8. ESTUDIO DE LA GEOQUÍMICA Y DISTRIBUCIÓN DE Hg EN SUELOS DE ALMADÉN

8.1. Descripción del área de estudio	203
8.2. Evolución Histórica de la Explotación	206
8.3. Impacto del mercurio en el medioambiente de la zona	209
8.4. Objetivos del estudio	210
8.5. Parte Experimental	211
8.5.1. Toma de muestra	211
8.5.2. Preparación de las muestras	213
8.5.3. Caracterización de las muestras	213
8.5.4. Aplicación de métodos de extracción de Hg	214
8.6. Resultados y discusión	215
8.6.1. Distribución por tamaño de grano en las muestras	215
8.6.2. Caracterización de las muestras	216
8.6.2.1. Descripción morfológica	216
8.6.2.2. Análisis Químico	217
8.6.3. Estudio de la movilidad del Hg	220
8.6.3.1. Aplicación del Método Revis	220
8.6.3.2. Desarrollo y aplicación de una metodología específica propia	224
8.6.3.2.1. Optimización de la primera etapa: lixiviación nítrica	226
8.6.3.2.2. Optimización de la segunda etapa: Hg unido a sulfuro	230
8.6.3.2.3. Aplicación a los suelos de Almadén	231
8.6.3.3. Aplicación del método EPA 3200	236
8.6.3.4. Aplicación del método de extracción secuencial propio	242
8.6.3.5. Consideraciones globales. Comparación de métodos	253
8.6.3.6. Aplicación del método de determinación de Hg Orgánico	257
8.7. Conclusiones del estudio	260
8.8. Referencias	261

9. ESTUDIO DE LA GEOQUÍMICA Y DISTRIBUCIÓN DEL Hg EN SUELOS DE ASTURIAS

9.1. Descripción del área de estudio	265
9.2. Evolución Histórica de la Explotación	266

9.3. Impacto del Hg en el medioambiente de la zona	269
9.4. Objetivos del Estudio	270
9.5. Parte Experimental	271
9.5.1. Toma de muestra	271
9.5.2. Preparación de las muestras	272
9.5.3. Caracterización de las muestras	274
9.5.4. Aplicación de métodos de extracción secuencial	274
9.6. Resultados y discusión	274
9.6.1. Distribución por tamaño de grano en las muestras	274
9.6.2. Caracterización de las muestras	275
9.6.2.1. Análisis Químico	275
9.6.2.2. Análisis Mineralógicos	279
9.6.3. Contenido de Hg Total en las muestras originales	281
9.6.4. Distribución del Hg entre las diferentes fracciones granulométricas	281
9.6.5. Estudio de la Movilidad del Hg	283
9.6.5.1. Aplicación del Método EPA 3200	283
9.6.5.1.1. Muestras originales	283
9.6.5.1.2. Fracciones granulométricas	283
9.6.5.2. Aplicación del método de extracción secuencial propio	290
9.6.5.2.1. Muestras originales	290
9.6.5.2.2. Fracciones granulométricas	296
9.6.5.3. Comparación entre los métodos EPA 3200 y método de extracción secuencial propio	307
9.6.5.4. Aplicación del método de determinación de Hg Orgánico	309
9.7. Conclusiones del Estudio	315
9.8. Referencias	318
10. CONCLUSIONES	321

El objetivo general de la presente memoria de tesis es el desarrollo de metodologías analíticas apropiadas, basadas en procedimientos de extracción simple o secuencial, para la evaluación de la movilidad, distribución y geoquímica del Hg en muestras sólidas medioambientales.

Con el fin de adquirir un conocimiento profundo acerca de la problemática del estudio del Hg en este tipo de muestras, se evalúan tanto teórica como, en otros casos, experimentalmente, metodologías existentes en la bibliografía, valorando su alcance y limitaciones.

Una vez evaluados los métodos existentes en la literatura, el siguiente paso es la propuesta de un método de extracción secuencial propio, cuyas premisas fundamentales se basan en:

- Proporcionar una información lo más amplia posible sobre la distribución y asociaciones del Hg con las fases más relevantes presentes en muestras sólidas medioambientales.
- Simplicidad de aplicación, con el fin de permitir su utilización en la mayoría de laboratorios convencionales sin necesidad de poseer instrumentos y aparatos altamente sofisticados y costosos.

Adicionalmente, con el fin de conformar una información lo más completa posible, y, dada la importancia de las especies organomercuriales en el estudio del Hg en muestras medioambientales, se propone el desarrollo de un método sencillo y adecuado a la instrumentación disponible, para la determinación de estas especies en suelos y aguas.

Finalmente la viabilidad de los métodos propuestos y desarrollados es evaluada mediante su aplicación a suelos procedentes de dos áreas mineras históricas en España, discutiendo los resultados obtenidos y comparándolos con aquellos procedentes de la aplicación de otros métodos habitualmente empleados para el estudio de este tipo de muestras.

2.1. EL MERCURIO Y SUS COMPUESTOS

2.1.1. Historia del Hg

El mercurio fue uno de los primeros metales utilizados por el hombre. Hay evidencias históricas de su uso por parte de antiguas civilizaciones como la china y la hindú. Estudios arqueológicos han encontrado trazas de mercurio en los restos de una tumba egipcia del año 1500 a.C. (figura 2.1) y en los escritos de un alquimista chino que datan del año 4500 a.C. (figura 2.2). Ambas civilizaciones china y egipcia debieron usar el cinabrio como pigmento para decorar sus tumbas, estatuas e incluso untado para preservarse de la muerte [1].

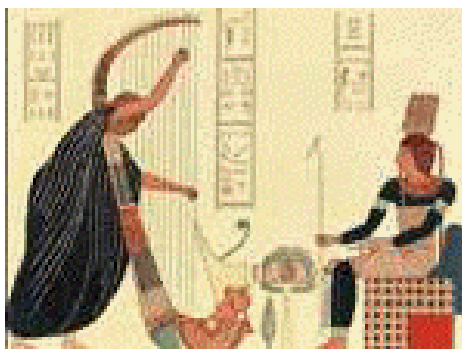


Figura 2.1. Grabado de la “Tabla Esmeralda”, primer documento conocido sobre Alquimia



Figura 2.2. El alquimista chino Ho-Kung

Muchas civilizaciones creían que el mercurio poseía propiedades místicas y el poder de prolongar la vida. Durante muchas épocas de la historia los alquimistas trataron de transmutar metales base como el plomo en oro a través de la acción del mercurio, otros lo usaban para protegerse contra los malos espíritus y purificar la sangre. Además, siempre se creyó que el mercurio poseía propiedades curativas y se utilizó durante los siglos XV al XX como antiséptico, laxante o para curar enfermedades tales como la sífilis y la tiña.

España ha sido históricamente el país mayor productor de mercurio en el mundo. Las historias sobre los galeones españoles que volvían a España cargados de oro y plata procedentes de América Central y Sudamérica son muy conocidas. Sin embargo, poca gente sabe que hacia América se enviaron, a lo largo de los 400 años de dominación española, toneladas de mercurio que se utilizaban en la extracción de los metales nobles

de las menas que los contenían, dejando un legado de residuos de mercurio que persiste en nuestros días.

También abundan en la historia los relatos sobre los efectos tóxicos del mercurio. Los peligros para la salud humana asociados a la exposición a mercurio se identificaron probablemente por primera vez en España durante la época romana. Los esclavos que eran sentenciados a trabajar en las minas de mercurio recibían el equivalente a una sentencia de muerte. Muy pocos lograban sobrevivir más de tres años en la atmósfera venenosa de las minas. Más tarde, fueron empleados convictos como trabajadores, e incluso en una época, el gobierno español ofreció la exención del servicio militar a aquellos hombres que habían trabajado durante dos años en las minas de mercurio.

Hacia el siglo XVIII el mercurio se empezó a utilizar en los sombreros de copa para preservar su firmeza. Este uso provocó que los trabajadores de las fábricas de sombreros se volvieran locos como resultado de la inhalación de los vapores de mercurio, cuyos efectos además eran irreversibles. El irritable “sombrerero loco”, personaje que aparecía en el famoso libro de Lewis Carroll “Alicia en el país de las maravillas”, es un ejemplo de los efectos del envenenamiento por mercurio, describiéndose la irritabilidad como uno de los primeros síntomas de este mal.



Figura 2.3. Ilustración de “Alicia en el país de las maravillas” de Lewis Carroll. El dibujo representa a Alicia tomando el té con el “sombrerero loco”.

2.1.2. Especies de mercurio

El mercurio no es un elemento abundante. Ocupa el número 62 en la clasificación de elementos por orden de importancia en la corteza terrestre. Su abundancia es solamente del $0,5 \cdot 10^{-5}\%$ en peso, que corresponde a $25 \cdot 10^{-6}$ átomos por cada 100 átomos de silicio [2].

Los compuestos de mercurio más habituales son:

Mercurio elemental:

El mercurio elemental (Hg^0) (CAS n°.7439-97-6) se conoce además con los nombres de mercurio coloidal, plata líquida, hidrargirio y azogue. Tiene una masa molecular relativa de 200,59, un punto de fusión de $-38,87\text{ }^\circ\text{C}$, un punto de ebullición de $356,72\text{ }^\circ\text{C}$ y una densidad de $13,534\text{ g cm}^{-3}$ a $25\text{ }^\circ\text{C}$.

El mercurio elemental es la forma más volátil del mercurio. Tiene una presión de vapor de $0,3\text{ Pa}$ a $25\text{ }^\circ\text{C}$ y se transforma en su forma gaseosa a temperatura ambiente. Es relativamente insoluble en agua ($25\text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ a $25\text{ }^\circ\text{C}$) y en ácido clorhídrico, siendo soluble en lípidos, en disoluciones concentradas de ácido nítrico, en pentano y en ácido sulfúrico a ebullición.

Es bastante raro encontrar al mercurio en estado nativo, sólo es posible hallarlo en forma de pequeños glóbulos en la parte superficial de minerales de cinabrio. Goldschmidt explica su presencia por la reducción del cinabrio a temperatura elevada como producto de una recombinación parcial del Hg y el S en la fase gaseosa durante las erupciones volcánicas. Coltini, además señala otra posible vía de aparición de Hg elemental a través de la reducción del óxido mercúrico por las pizarras bituminosas.

Las zonas donde se puede encontrar son principalmente áreas mineras de cinabrio, y más raramente, asociado a otros metales como el Au, Ag o Pd formando amalgamas naturales.

Los usos que ha tenido históricamente el mercurio elemental son muy variados. Entre ellos, cabe destacar la fabricación y reparación de instrumentos científicos y técnicos tales como termómetros, barómetros o bombas de vacío, en la producción electrolítica

de hidróxidos a partir de cloruros de sodio y potasio, así como en la síntesis de sosa caústica y ácido acético glacial. También ha sido empleado en la fabricación de tubos fluorescentes, tubos de rayos X, lámparas de mercurio, rectificadores, termostatos automáticos y otros relacionados, y por supuesto para la fabricación de amalgamas dentales, o incluso para la fabricación de juguetes electrónicos y químicos para niños. Uno de sus usos más importantes ha sido la extracción de oro (Au) y plata (Ag) por formación de amalgamas.



Figura 2.4. Manómetro de mercurio



Figura 2.5. Amalgama Dental

Cloruro mercúrico:

El cloruro mercúrico (HgCl_2) (CAS nº.7487-94-7), conocido también como dicloromercurio entre otros, tiene una masa molecular relativa de 271,52, un punto de fusión de 277 °C y un punto de ebullición de 302 °C. Aparece en forma de cristales blancos, gránulos, polvo, cristales ortorrómbicos. Tiene una presión de vapor de 0,1 kPa a 136,2 °C. Es muy soluble en agua (28,6 g l⁻¹ a 25 °C y 476 g l⁻¹ en agua hirviendo) y también en alcohol (263 g l⁻¹).

Entre los usos más comunes de esta especie se encuentran su empleo como insecticida, veneno para ratas, desinfectante, fungicida, en el curtido de pieles, preservación de madera, en la fabricación de baterías secas y en la obtención de otros compuestos de mercurio tales como el cloruro mercurioso obtenido de la reacción entre el cloruro mercúrico y el mercurio elemental.

Sulfuro mercúrico:

El sulfuro mercúrico (HgS ; CAS n°. 1344-48-5) tiene una masa molecular relativa de 232,68. Puede aparecer en forma de polvo amorfo y pesado o bien en dos formas cristalinas distintas, el HgS negro o metacinabrio, que cristaliza en el sistema cúbico, o HgS rojo o cinabrio que forma cristales hexagonales. La transición de la forma roja a la negra ocurre a $386\text{ }^{\circ}\text{C}$. El sulfuro mercúrico negro sublima a la temperatura de $446\text{ }^{\circ}\text{C}$, mientras el rojo lo hace a $583\text{ }^{\circ}\text{C}$. El HgS negro es insoluble en agua, alcohol y disoluciones diluidas de ácidos minerales (HCl , HNO_3). Por su parte, el sulfuro mercúrico rojo es insoluble en agua, pero se disuelve en agua regia. Ambas formas alotrópicas son solubles en disoluciones acuosas concentradas de sulfuros alcalinos y alcalinoterreos.



Figura 2.6. Cinabrio natural



Figura 2.7. Metacinabrio

El sulfuro mercúrico rojo o bermellón ha sido utilizado como pigmento en la antigüedad y también como protector de hierro y acero contra la oxidación, pero sin embargo, su uso más importante con mucho ha sido la obtención de mercurio elemental a partir del mineral de cinabrio mediante el tratamiento pirometalúrgico del mismo en hornos de tostación.

Oxido mercúrico:

El óxido mercúrico (HgO ; CAS n°. 21908-53-2) tiene una masa molecular relativa de 216,59. Aparece en dos formas distintas, HgO rojo y HgO amarillo, ambas cristalizan en el sistema hexagonal y se diferencian en el tamaño de los cristales, que son más pequeños en el caso de la variedad amarilla. Tiene un punto de fusión de $500\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se descompone a temperaturas relativamente bajas en Hg y O_2 . Es insoluble en agua y disoluciones alcalinas, soluble en disoluciones de ácidos hidrácidos y de ácido nítrico.

El óxido mercuríco se ha empleado en la fabricación de cremas y pomadas para la piel, también en la fabricación de baterías secas de larga duración y como antiséptico.

Nitrato mercuríco:

El nitrato mercuríco monohidrato ($\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; CAS n°. 7783-34-8) tiene una masa molecular relativa de 342,62. Presenta un punto de fusión de 79 °C. Se disuelve muy difícilmente en agua y la disolución va acompañada de la formación de sales básicas que ralentizan la disolución. Es soluble en acetona y se disuelve bien en disoluciones diluidas de ácido nítrico. Entre sus usos más frecuentes está su empleo en la industria del sombrero donde es empleado para la fabricación de terciopelo a partir de pelo de conejo y en la manufactura del bronce.

Sulfato mercuríco:

El sulfato mercuríco (HgSO_4 ; CAS n°. 7783-35-9) tiene una masa molecular relativa de 296,65. Aparece en forma de granulos blancos o polvo cristalino que con el calor se torna de color amarillo y cristaliza en el sistema ortorrómbico. En agua se hidroliza dando lugar a un sulfato básico insoluble y ácido sulfúrico. Es soluble en ácido clorhídrico, ácido nítrico y ácido sulfúrico 2N.

Uno de sus usos más importantes es como catalizador en reacciones orgánicas.

Cloruro Mercurioso:

El cloruro mercurioso (Hg_2Cl_2 ; CAS No. 10112-91-1) es también conocido como calomelanos. Tiene una masa molecular relativa de 472,09, un punto de ebullición de 384 °C y sublima de 400-500 °C sin fundir. Aparece como un polvo blanco y pesado de cristales ortorrómbicos. Su solubilidad en agua es muy baja (2 mg L^{-1} a 25 °C). Es soluble en disoluciones concentradas de ácido nítrico descomponiéndose al mismo tiempo, también es bastante soluble en amoniaco. El cloruro mercurioso se ha utilizado a lo largo del tiempo como purgativo, estimulante del hígado e incluso para eliminar parásitos intestinales. Hoy en día su uso más importante se centra en que forma parte de los electrodos de calomelanos, ampliamente utilizados como electrodos de referencia para realizar medidas electroquímicas de potencial y de pH.

Compuestos orgánicos de mercurio:

Cuando el mercurio se combina con carbono, los compuestos que se forman se llaman compuestos de mercurio orgánico u organomercuriales. Hay potencialmente un gran número de compuestos de mercurio orgánico; sin embargo, el más común en el ambiente es el metilmercurio (llamado también monometilmercurio). En el pasado, un compuesto de mercurio orgánico llamado fenilmercurio se usó en algunos productos comerciales como insecticidas y fungicidas. Otro producto de mercurio orgánico llamado dimetilmercurio (CAS No. 593-74-8) es una molécula volátil, especialmente peligrosa, que puede resultar mortal, incluso por simple penetración cutánea. Es el único compuesto de mercurio orgánico que se ha identificado en sitios de desechos peligrosos. Se ha encontrado en cantidades extremadamente pequeñas, pero es muy dañino para los seres humanos y animales. Al igual que los compuestos de mercurio inorgánico, tanto el metilmercurio como el fenilmercurio existen en forma de sales (por ejemplo, cloruro de metilmercurio (CAS No. 115-09-3) o acetato de fenilmercurio (CAS No. 62-38-4)). En forma pura, la mayoría de las formas de metilmercurio y fenilmercurio son sólidos blancos cristalinos. Sin embargo, el dimetilmercurio es un líquido incoloro.

2.1.3. Toxicología del mercurio

El mercurio no es un elemento esencial en los sistemas vivos y no desarrolla ninguna función biológica conocida [3]. La toxicidad del mercurio se asocia principalmente a su forma catiónica (Hg^{2+}); sin embargo, su absorción, distribución en los tejidos y biotransformación están influenciadas significativamente por el estado de valencia del metal [4]. El mercurio inorgánico se absorbe débilmente a través del tracto gastrointestinal (< 10%), sin embargo el vapor de Hg^0 inhalado lo hace rápidamente en los pulmones, mientras que el MeHg se absorbe casi completamente a través de la ingestión (> 90%) [5, 6]. La inhalación de vapor de $\text{Hg}(0)$ suele asociarse con procesos de bronquitis aguda e incluso neumonía [7]. Una exposición crónica al vapor de mercurio elemental o una dosis extrema, produce la intoxicación del sistema nervioso central, caracterizada por la aparición de temblores, aumento de excitabilidad y delirios. Así, el excesivo uso de mercurio elemental en la industria de las pieles, cinturones y sombreros dio lugar a la llamada “enfermedad del sombrerero loco”. El Hg elemental es excretado del cuerpo a través de los riñones tras su oxidación a Hg(II) por la enzima hidrógeno peroxidasa-catalasa [8].

La ingestión de mercurio inorgánico puede dar lugar a la aparición de calambres abdominales, úlceras e intoxicaciones renales. Este tiene una gran afinidad por el sulfuro de forma que su modo de actuación principal en los organismos vivos es la interferencia en las funciones enzimáticas y la síntesis de proteínas mediante su unión a grupos sulfidrilo [9]. Debido a que esta forma de mercurio se elimina mediante su excreción a través de los riñones, la toxicidad renal es uno de los síntomas más frecuentes de exposición a mercurio inorgánico. La proteinuria es uno de los síntomas primarios asociados a la exposición a Hg^{2+} . Por su parte, la toxicidad del mercurio orgánico se basa principalmente en su elevada lipofilia. La exposición a esta forma ocurre principalmente a través del consumo de pescado contaminado, aunque también puede ser asimilado a través de la piel, especialmente en lugares donde se trabaja con cantidades importantes de estos compuestos como pueden ser laboratorios. Tanto el metilmercurio como el mercurio elemental son capaces de atravesar la placenta donde son oxidados enzimáticamente, atrapados y acumulados y, de esta manera, pueden originar daños permanentes al feto [6].

Debido al creciente uso industrial de este metal en el mundo, han surgido numerosos episodios de contaminación ambiental con envenenamiento en seres humanos. Uno de los primeros y mejor estudiados ocurrió en Japón en 1953 en la bahía de Minamata. Una investigación internacional reveló que el mercurio inorgánico allí vertido, procedente de una cercana planta de producción de acetaldehído, había sido convertido en metilmercurio por la acción de microorganismos presentes en los sedimentos. El MeHg formado sufrió procesos de bioacumulación en peces y moluscos que a su vez constituían parte de la alimentación básica de una población cercana. La ingestión de pescado contaminado dio lugar a la aparición de la llamada “enfermedad de Minamata”, cuyos síntomas iban desde la parestesia a defectos graves en recién nacidos e incluso la muerte, todos ellos típicos de envenenamiento por MeHg. Este fue el primer caso identificado de metilación *in situ* y bioacumulación del mercurio en peces.

2.1.4. El mercurio en el medioambiente

2.1.4.1. Fuentes de mercurio

El mercurio se considera como uno de los metales más tóxicos para el medioambiente [10]. La mayoría de las emisiones antropogénicas de mercurio son producto de la liberación al aire de productos secundarios derivados de varios procesos industriales, que incluyen minería de carbón, calcinación de combustibles fósiles, lámparas de vapor de mercurio y producción de clorálcalis (se refiere a la producción simultánea de cloro y sosa cáustica) [11-14].

La fuente natural más importante en la que se encuentra el mercurio es el conjunto de los depósitos naturales de cinabrio (HgS), que su vez constituye el principal mineral de mercurio. El contenido de Hg en el cinabrio excede del 86% [15]. Son pocos los lugares donde se ha localizado la acumulación de este mineral rojo-bermellón. Los principales depósitos de cinabrio que han sido explotados históricamente son los de Almadén (Ciudad Real, España), Idria (Eslovenia) y Monte Amiata (Italia).

El mercurio inorgánico aparece en pequeñas cantidades en muchas rocas. El granito contiene unas 0,2 ppm de mercurio [16]. Otras rocas contienen menos de la mitad de dicha cantidad. Los procesos de meteorización natural contribuyen de una forma constante a la liberación de pequeñas cantidades del mercurio presente en las rocas. Se ha comprobado que las erupciones volcánicas también contribuyen a dispersar vapor de mercurio en la atmósfera. En zonas de actividad volcánica como Hawái o Islandia se han detectado niveles de mercurio en el aire del orden de 10-25 $\mu\text{g m}^{-3}$, mientras que los valores normales de concentración en este medio son del orden de 3 ng m^{-3} [15].

Los suelos y sedimentos también contienen mercurio de forma natural. La presencia de mercurio en rocas sedimentarias tales como esquistos, depositado largo tiempo antes de la aparición del hombre en la tierra, implica que al menos parte del mercurio presente en los sedimentos modernos es de origen natural.

El mercurio se lixivia de las fuentes naturales incorporándose a aguas superficiales y subterráneas y diluyéndose en los océanos. La mayoría de aguas naturales presentan un

contenido de mercurio de unos pocos microgramos por litro. Se han llegado a encontrar concentraciones en aguas naturales de $0,7 \text{ mg L}^{-1}$ [17]. También se ha comprobado que una fracción del mercurio presente en las aguas naturales puede ser convertido a metilmercurio, que es la forma más peligrosa desde un punto de vista medioambiental, debido su toxicidad y a la tendencia de esta especie a acumularse en los organismos vivos [5].

La mayoría de las emisiones de mercurio de la litosfera a la hidrosfera ocurren en forma de mercurio elemental por desgasificación. Las emisiones antropogénicas contabilizan entre un 10% y un 30% del total de 10^6 kg de mercurio emitido anualmente [11, 13, 18].

Aproximadamente el 80% de las fuentes antropogénicas de mercurio son emisiones de mercurio elemental a la atmósfera, principalmente procedentes del quemado de combustibles fósiles, minería, fundiciones e incineración de residuos sólidos (figura 2.8). Otro 15% de las emisiones antropogénicas tiene lugar en los suelos por la aplicación directa de fertilizantes y fungicidas y también por parte de los residuos sólidos municipales que pueden contener restos de baterías, termómetros, etc. El 5% restante procede de la descarga directa de efluentes industriales a las vías de agua [19].

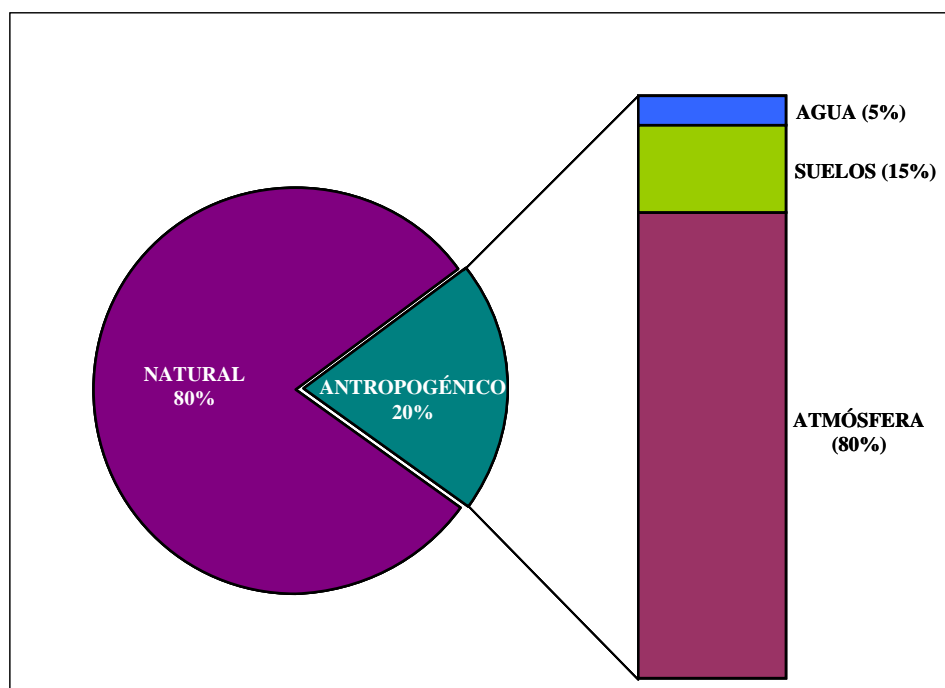


Figura 2.8. Distribución aproximada de las emisiones de mercurio al medioambiente [19].

La identificación de las tendencias temporales dentro de las emisiones antropogénicas de mercurio resulta difícil, debido a los diferentes comportamientos y a los diferentes tiempos medios de residencia de las especies de mercurio en los distintos compartimentos medioambientales [20]. A la hora de valorar a largo plazo los cambios en las emisiones antropogénicas de mercurio, aparecen en la bibliografía conflictos evidentes. Algunos estudios señalan que no se ha producido un incremento de la concentración de mercurio en los últimos 800 años [21], mientras que otros señalan que las emisiones antropogénicas han incrementado la concentración de mercurio desde la era preindustrial hasta la actualidad [22-24].

2.1.4.2. Transporte y deposición de mercurio

Una vez el mercurio ha sido liberado al medioambiente natural, puede ser transportado a largas distancias, bien a través del aire o bien a través de las vías de agua. El mercurio es volátil, lo que significa que puede evaporarse desde un lago o un río y ser transportado según la dirección preferente del viento hasta ser depositado.

El mercurio liberado a vías de agua y lagos desde plantas de residuos y alcantarillas puede contaminar los sedimentos de los lagos y ríos a una escala local (figura 2.9). Pero a una escala más amplia, la mayor parte del mercurio de origen antropogénico que se incorpora a lagos y ríos, primeramente se deposita en las vertientes, a través de agua de lluvia, nieve o como mercurio particulado asociado a partículas de suciedad. A partir de ahí puede ser lixiviado y arrastrado hacia las vías de agua y entrar en los ecosistemas acuáticos. El mercurio también puede incorporarse a suelos, lagos y acuíferos, directamente a través de fuentes geológicas naturales. Algunos procesos naturales que pueden ocurrir, tales como inundaciones o descomposición de la vegetación, pueden incrementar de forma notable la liberación de mercurio en estos ambientes.

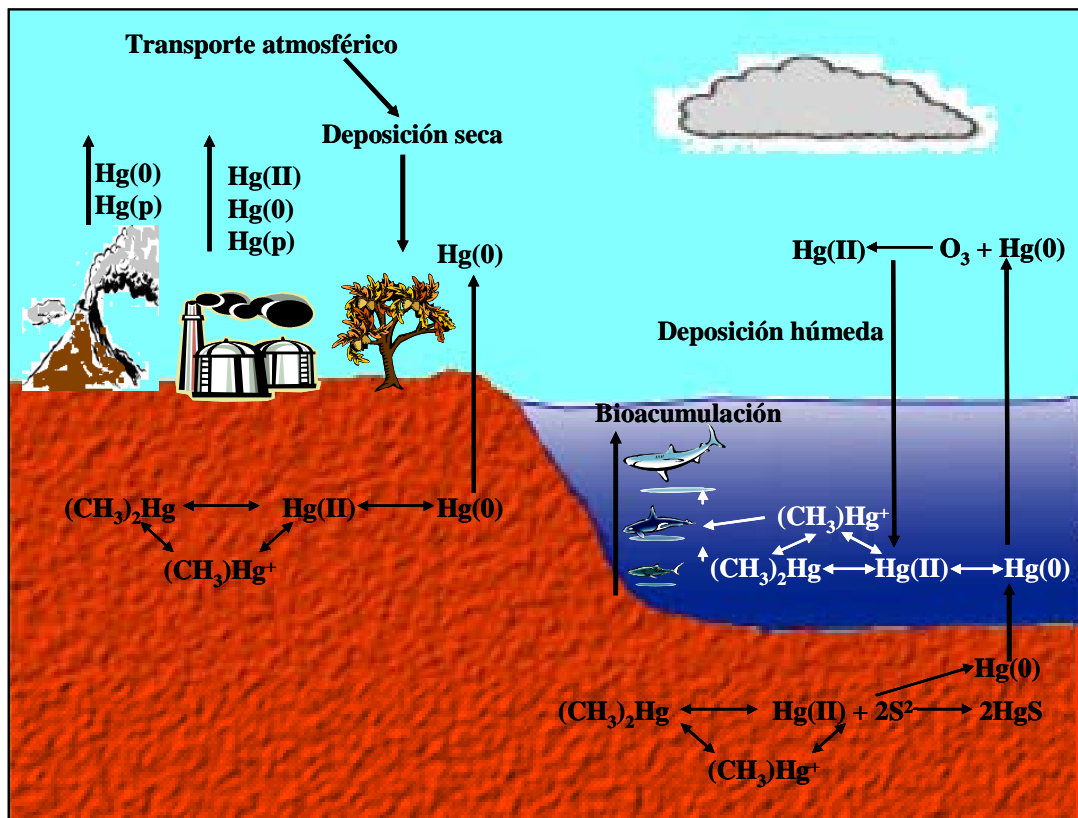


Figura 2.9. Ciclo biogeoquímico del mercurio.

Las emisiones atmosféricas son las que presentan mayor interés con respecto a la entrada de mercurio en el medioambiente. El mercurio emitido a la atmósfera, bien sea directa o indirectamente, puede sufrir tres procesos diferentes:

1. Una porción puede ser depositada cerca de la fuente de emisión, esto es lo que normalmente se conoce como deposición local, y se considera así a aquella que se produce hasta una distancia de unos 50 km de la fuente. El porcentaje de esta porción de mercurio emitido por ejemplo de un incinerador, una planta de refinación de metales o una planta de combustión de carbón puede variar ampliamente.
2. Otra porción del mercurio emitido puede ser transportado a largas distancias según las direcciones preferentes de los vientos y depositado en algún punto. Esto es lo que se conoce como deposición regional y comprende generalmente algunos cientos de kilómetros desde la fuente de emisión. Se han comprobado casos de deposición regional en zonas de Norte América.
3. La porción final de mercurio puede entrar en lo que conoce como el ciclo atmosférico del mercurio. Este se refiere al mercurio que circula por el globo al

año dentro de los sistemas climáticos más importantes. Este mercurio puede ser transportado miles de kilómetros desde la fuente de emisión antes de ser depositado. De esta forma por ejemplo se han detectado altos niveles de deposición de mercurio en tierras de Groenlandia y en el Ártico, que tienen su origen en emisiones procedentes de zonas industriales de Canadá y el Norte de Europa.

Uno de los aspectos más complicados en el estudio del ciclo de transporte y deposición de mercurio, es que éste puede ser depositado en plantas y árboles, bien sea a través de la lluvia o como mercurio particulado asociado a polvo. También puede entrar en las plantas procedente del suelo, a través de las raíces. Se conocen casos de plantas que son capaces de acumular mercurio quedando éste de forma mayoritaria en las raíces [25, 26]. Los suelos y plantas pueden reemitir el mercurio a la atmósfera a través de las hojas por evapotranspiración y, en menor escala, por el quemado de árboles en incendios forestales.

2.1.4.3. Distribución y transformación del mercurio en el medioambiente

En la atmósfera, el Hg se encuentra principalmente en cuatro formas químicas: mercurio elemental (Hg^0) (figura 2.10), mercurio inorgánico (por ej. cloruro mercuríco (HgCl_2) e hidróxido mercuríco ($\text{Hg}(\text{OH})_2$), monometilmercurio (CH_3Hg^+), y dimetilmercurio ($(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$) [18]. Una vez liberado a la atmósfera, el Hg^0 se oxida a Hg^{2+} principalmente por acción del O_3 mediante reacciones en fase gaseosa o en fase acuosa en el interior de las nubes [18, 27]. El Hg^{2+} puede formar complejos con otros iones, principalmente cloruro, para formar HgCl_2 . El mercurio elemental también se deposita en aguas y suelos, donde puede oxidarse a Hg^{2+} . Éste puede metilarse por la acción de microorganismos para formar compuestos de metilmercurio. El monometilmercurio se absorbe por las plantas acuáticas y animales y se concentra en la cadena trófica. El dimetilmercurio se volatiliza y pasa a la atmósfera donde puede sufrir una fotólisis para formar metano y Hg elemental o bien puede oxidarse por radicales hidroxilo [28]. En ambientes anaeróbios y en presencia de agentes formadores de complejos puede formarse sulfuro mercuríco, el cual precipita y se deposita en los sedimentos [29]. Aunque los sedimentos son considerados como depósitos de HgS , parte del mismo puede disolverse mediante la acción de bacterias [30].

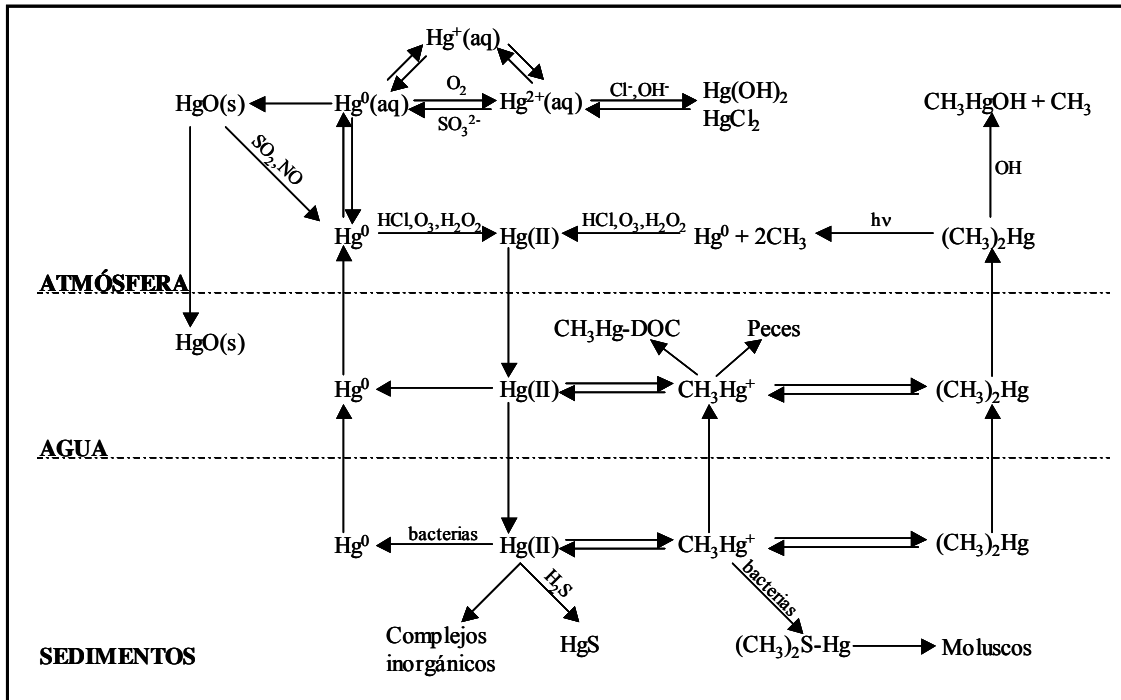


Figura 2.10. Representación esquemática de las transformaciones más importantes de los compuestos de mercurio y sus rutas de distribución en atmósfera, aguas y sedimentos [19].

En general el flujo de mercurio hacia la atmósfera desde agua y suelo excede al flujo de deposición, por tanto el papel de la atmósfera como sumidero de Hg es minoritario [31].

2.1.4.4. El mercurio en suelos y sedimentos

Los suelos y sedimentos pueden afectar a la distribución de mercurio en el medioambiente de dos maneras diferentes:

- Actuando como fuente de mercurio dentro del entorno próximo, por volatilización desde el suelo a la atmósfera, o por lixiviación para pasar a las vías de agua y toma del mismo por parte de la biota del mismo.
- También puede actuar como sumidero del Hg en el medio que lo rodea, bien por deposición atmosférica, o bien por sedimentación del mercurio suspendido en aguas.

La importancia relativa y la magnitud de ambos tipos de fenómenos están gobernadas por las condiciones ambientales específicas [32].

A pesar de los procesos de reemisión del mercurio a la atmósfera, una importante cantidad de mercurio se acumula en los suelos y sedimentos cada año, de ahí que estos se consideren los principales sumideros de mercurio [33].

Son muchos los factores ambientales que influyen en la geoquímica del mercurio en los suelos y sedimentos. El conjunto de todos ellos determina la movilidad y disponibilidad del mercurio y su potencial toxicidad para los organismos vivos. Entre estos factores podemos citar como más importantes los siguientes:

pH

El pH afecta a todos los mecanismos de adsorción y la formación de complejos de metales en el suelo [34]. A pH 4,0-4,5, alrededor del 98% del mercurio presente en sistemas acuáticos se encuentra asociado a sedimentos [32]. Entre el 50% y el 75% se adsorbe y forma complejos con ácidos húmicos y la cantidad de mercurio que se encuentra formando complejos aumenta al disminuir el pH. El resto del mercurio se asocia a componentes inorgánicos del sedimento, tales como sulfuros u óxidos de hierro y manganeso. Un comportamiento similar se ha observado en suelos [35] (figura 2.11).

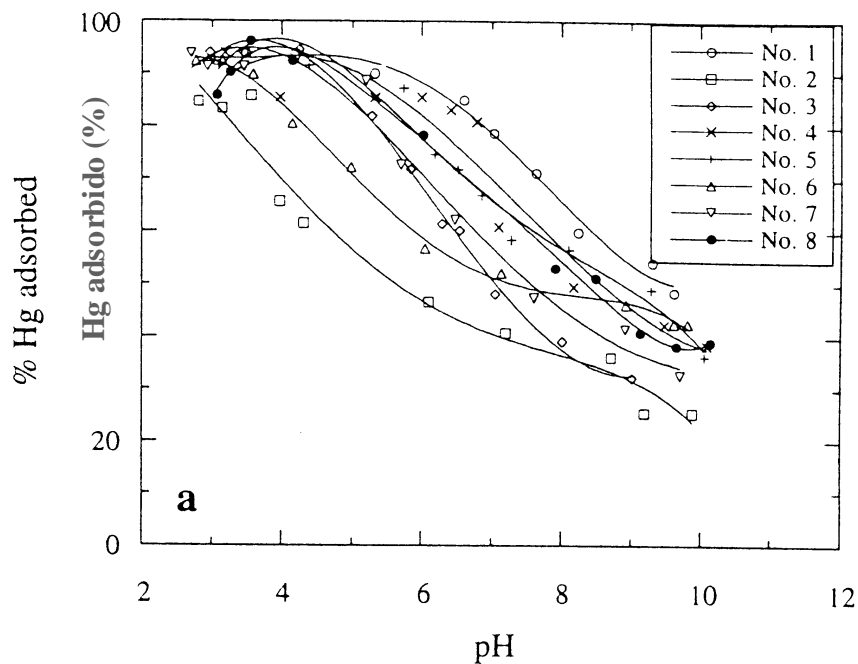


Figura 2.11. Adsorción de Hg(II) en función del pH para suelos de diferente naturaleza (arenosos, arcillosos, rocosos,...) [44].

Bajo condiciones ácidas, otros cationes como el Cu(II) pueden desplazar al mercurio, el cual puede asociarse libremente a complejos inorgánicos.

La lluvia ácida incrementa la proporción de mercurio lixiviado a la vez que aumenta la afinidad del mismo para formar complejos con la materia orgánica presente en los suelos.

El Hg(I) puede existir como Hg_2^{2+} en ambientes ácidos, dismutándose a Hg(II) y Hg(0) en presencia de OH^- , F^- y CN^- .

El Hg(II) es la especie dominante en suelos bien aireados y neutros, y forma fácilmente complejos con el Cl^- en ambientes oxidantes, dando lugar a especies solubles como HgCl^+ y HgCl_2 . Por el contrario a pH neutro y básico forma complejos estables con OH^- , Cl^- y compuestos orgánicos [36] (figura 2.12).

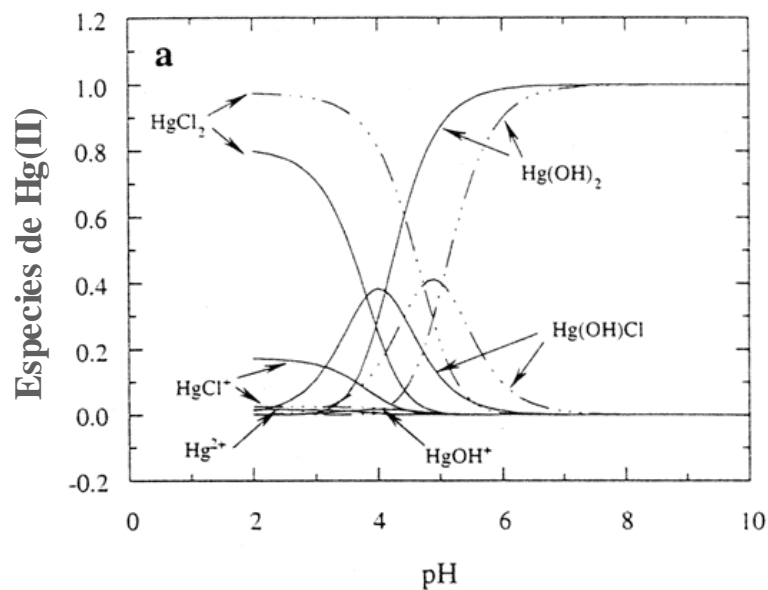


Figura 2.12. Especiación de Hg(II) en función del pH [44]

También se ha comprobado que el metilmercurio se produce, moviliza y acumula de manera más eficiente en condiciones de baja alcalinidad y bajo pH, por ejemplo en condiciones ácidas cercanas a la neutralidad (pH 6-7) [29].

Potencial redox

Bajo condiciones ácidas ($\text{pH} < 6$), el mercurio elemental puede oxidarse a mercurio divalente. La oxidación puede ocurrir por microorganismos bióticos o abióticos. La importancia de estas oxidaciones estriba en que el Hg(II) es un precursor necesario para la formación de compuestos más solubles y de mayor biodisponibilidad como HgCl_2 , Hg(OH)_2 y CH_3Hg^+ .

Bajo condiciones oxidantes, los hidróxidos de hierro y manganeso son excelentes captadores de mercurio, el cual es adsorbido en la superficie de los mismos [37].

En condiciones reductoras y en presencia de agentes formadores de complejos, tales como sulfuros (ej. H_2S), tiene lugar la formación y precipitación de HgS [28, 38]. Sin embargo, si tiene lugar una reoxigenación puede producirse la oxidación del sulfuro y la removilización del Hg(II) . A pesar de su resistencia a la oxidación [39], el HgS puede hacerse más móvil por acción del Fe(III) presente en aguas ácidas de minas [40].

Al descender el valor del potencial de oxidación-reducción en condiciones anaeróbicas se favorece el metabolismo del azufre por parte de las bacterias sulfato-reductoras, cuyos productos principales son, el HgS altamente insoluble y el CH_3Hg , altamente tóxico.

Materia Orgánica

La movilidad y deposición del mercurio en suelos y sedimentos está gobernada por la formación de complejos con los átomos de azufre presentes en ácidos húmicos y fúlvicos. Esta capacidad de constituir complejos viene determinada por el porcentaje de carbono orgánico, pH , potencial redox, temperatura y por la especiación del mercurio [41].

El enriquecimiento de mercurio en el horizonte orgánico del suelo puede ser atribuido a la caída de hojas y otras partes de las plantas que contienen dicho metal y al propio suelo que favorece su acumulación en ciertas zonas [42]. El mercurio se concentra en las capas húmicas de los suelos donde se han detectado concentraciones aproximadamente 100 veces mayores que las correspondientes a la concentración media depositada anualmente (aproximadamente $0,1\text{-}0,3 \text{ mg Hg m}^{-2}$) [41]. Esta acumulación

depende del pH, de manera que en el intervalo de pH entre 3 y 5, el mercurio se fija en la materia húmica, mientras que fuera de este margen, aumenta la cantidad de Hg asociado a la materia mineral [42]. La formación de complejos del mercurio por parte de los ácidos húmicos disminuye la movilidad del mismo en la matriz del suelo. Sin embargo, se ha demostrado que el bloqueo de los sitios de adsorción del suelo por parte de contaminantes orgánicos promueve la movilidad de los metales pesados, incluyendo al mercurio, en los suelos [43]. El mismo efecto tiene lugar cuando disminuye el contenido de materia orgánica presente en el suelo por su destrucción debido a lixiviaciones ácidas. En este caso, las superficies inorgánicas quedan más expuestas y dado que presentan una menor afinidad y menor área superficial que las capas de materia orgánica, también tiene lugar una disminución del contenido de Hg(II) adsorbido en los suelos [44].

Por otro lado, la materia orgánica disuelta puede interaccionar de forma extensiva con cationes metálicos en los suelos, ejerciendo efectos notables sobre la solubilidad, movilidad y toxicidad de muchos metales traza [45], disminuyendo el contenido de Hg(II) adsorbido en suelos (figura 2.13). Por ejemplo, las sustancias húmicas, las cuales representan una fracción mayoritaria dentro de la materia orgánica disuelta, pueden incrementar la solubilidad de algunos óxidos e hidróxidos minerales [46, 47], así como de algunos sulfuros minerales relativamente insolubles [46]. El mercurio procedente de la atmósfera y depositado en los suelos puede asociarse a materia orgánica disuelta y de este modo movilizarse a través de las vías fluviales [48-50]. Parte del mercurio asociado a la materia orgánica disuelta puede ser adsorbido, reducido a través de procesos bióticos a abióticos o lixiviado por aguas subterráneas o agua de lluvia [41]. Se ha demostrado que el sulfuro mercúrico puede solubilizarse y movilizarse parcialmente en zonas pantanosas con un elevado contenido de materia orgánica disuelta, debido a la formación de complejos con ácidos húmicos [51].

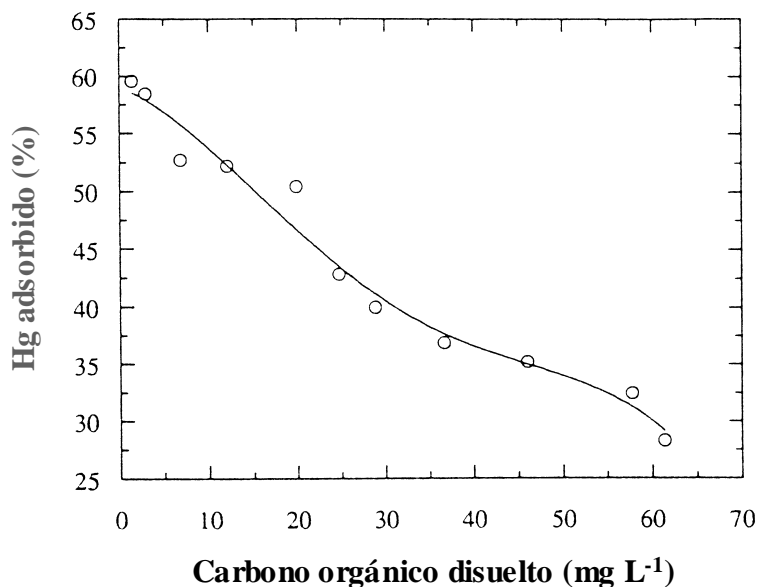


Figura 2.13. Efecto del contenido en carbono orgánico disuelto (DOC) sobre la adsorción de Hg(II) en un suelo arenoso [44].

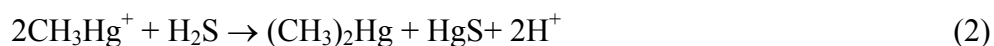
Otros factores

En ausencia de materia orgánica, la movilización del mercurio presente en los suelos y sedimentos puede ocurrir a través de la formación de compuestos solubles tales como HgCl_2 y $\text{Hg}(\text{OH})_2$ [52], especies que además son adsorbidas menos fuertemente en los suelos [44].

Como ácido blando, según la teoría de Pearson el mercurio interacciona fuertemente con ligandos blandos, tales como tioles, sulfuro y otros grupos que contienen azufre [53]. En presencia de sulfuro, el mercurio puede formar complejos solubles (ej. HgSH^+ , $\text{Hg}(\text{SH})_2$, HgS_2H^- , HgS_2^{2-}) o sulfuro mercúrico insoluble (HgS). La formación de estas especies depende del pH y las concentraciones de sulfuro y mercurio. En general, la formación de HgS sólido está favorecida a bajos valores de pH y bajas concentraciones de sulfuro, mientras que los complejos sulfurados pueden formarse a altos valores de pH y altas concentraciones de sulfuro [26, 54, 55]. Además la presencia de S^0 favorece la formación de polisulfuros del tipo $\text{Hg}(\text{S}_n)\text{SH}^-$ especialmente a pH neutro, promoviendo la solubilidad del mercurio en aguas [56, 57].

La presencia de cationes divalentes como Ca(II) y Cu(II) en el suelo pueden disminuir la cantidad de Hg(II) que forma complejos con materia orgánica disuelta ya que compiten con el mismo, disminuyendo el número de sitios activos disponibles y, por tanto, decrece la posible solubilización de las especies menos solubles de mercurio tales como HgS y Hg⁰ [51, 58].

La presencia de microorganismos, especialmente bacterias sulfato-reductoras tiene un efecto fundamental en los procesos de biometilación de mercurio que pueden ocurrir en suelos y sedimentos [38]. El Hg(II) puede ser metilado por microorganismos anaerobios y en menor medida también por aerobios, para formar monometilmercurio o dimetilmercurio, tal y como se muestra en las siguientes reacciones:



La proporción relativa de mono y dimetilmercurio depende de la concentración de Hg(II) y el pH del sistema. La formación de monometilmercurio (Reacción 1) está favorecida en condiciones ácidas y cuando las concentraciones de Hg(II) son relativamente altas. Por su parte, la formación de dimetilmercurio (Reacción 2) se favorece en condiciones neutras o alcalinas cuando las concentraciones de mercurio son bajas y en presencia de un agente complejante fuerte tal como el H₂S [11]. La reacción de síntesis de monometilmercurio es cerca de 6000 veces más rápida que la del dimetilmercurio, de ahí que en la mayoría de sistemas medioambientales sólo el 3% del mercurio metilado se encuentre en la dimetilmercurio [59].

En cuanto a la presencia de selenio, existen abundantes trabajos en la bibliografía que demuestran la acción antagónica del selenio en relación con la toxicidad del mercurio en animales [60]. A pesar de que se ha demostrado la existencia de interacciones entre el selenio y el mercurio en aguas superficiales [60-63], los mecanismos responsables de estas interacciones aún no se conocen [64]. Como posibles hipótesis, el selenio puede enlazarse al mercurio en los sedimentos dando lugar a seleniuro mercúrico (HgSe) [65], el cual es altamente insoluble, haciendo que el mercurio no estuviese disponible para la metilación, o bien el selenio puede ejercer su acción a través de efectos indirectos, provocando efectos tóxicos sobre la bacterias e inhibiendo de esta forma su acción en

las reacciones de metilación del mercurio. Una hipótesis específica relacionada con esta posibilidad, apunta a la posible metilación del selenio presente en los sedimentos para formar dimetilseleniuro. La formación de esta especie estaría estimulada en ambientes con elevadas concentraciones de selenio y podría inhibir de manera efectiva la metilación del mercurio. Sin embargo, debido al relativo poco tiempo de este campo de investigación, la información disponible es escasa y no permite asegurar la veracidad de estos posibles mecanismos.

2.2. ALCANCE Y FINALIDAD DE LA TESIS

De todo lo expuesto anteriormente, se deduce que el estudio del Hg y los factores que afectan a su distribución y comportamiento en suelos y sedimentos es muy complejo y abarca un gran número de disciplinas científicas. Muchas de ellas carecen por sí solas de validez a la hora de estimar el comportamiento del Hg y sólo la conjunción de diferentes aspectos tales como análisis químicos, métodos de extracción, caracterización físico-química de las muestras, etc, puede dar una dimensión real a los resultados obtenidos enmarcándolos en un contexto apropiado. En la presente memoria de tesis, se expone el desarrollo de una nueva metodología analítica basada en la aplicación de procedimientos de extracción secuencial para la evaluación de la movilidad del Hg en suelos y otras muestras sólidas medioambientales. En la aplicación de estas metodologías, los resultados a su vez se combinan con aquellos obtenidos de la caracterización de las muestras, a fin de obtener una información lo más real y útil posible sobre la movilidad del Hg en los suelos objeto de estudio.

Los trabajos de investigación desarrollados en los estudios que se describen en la presente memoria están enmarcados dentro de los proyectos que se están llevando a cabo en la Unidad de Espectroscopía de la División de Química del Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT). En concreto, esta investigación se deriva de la necesidad de disponer de metodologías analíticas capaces de explicar el comportamiento del mercurio en distintos entornos medioambientales, de descubrir los parámetros fisicoquímicos que influyen sobre los resultados obtenidos empleando estos métodos, y contribuir a un conocimiento más

profundo de los factores que afectan a la movilidad y biodisponibilidad de este elemento en estudios característicos de otras disciplinas.

Esta memoria de Tesis Doctoral se ha estructurado en 10 capítulos. El primero describe brevemente el objetivo de estos estudios. El segundo es una introducción al tema, considerando la química del mercurio, su toxicología, y su distribución y transporte entre los distintos compartimentos medioambientales. El capítulo 3 y 4 describen las técnicas y los métodos analíticos que se usan para la determinación del mercurio y sus especies. En el capítulo 5 se propone un método sencillo de extracción de mercurio orgánico y su aplicación tanto a muestras de suelos como acuosas. El capítulo 6 describe los estudios de extracción de diferentes especies de mercurio en medio nítrico y clorhídrico, que es la base para la selección racional de los extractantes fundamentales de diferentes especies de este elemento. En el capítulo 7 se propone un método de extracción secuencial propio, que incorpora en cada una de sus etapas una justificación y objetivo del empleo de dicha etapa, se describe el desarrollo experimental de la misma, incluyendo la optimización de los parámetros más relevantes, y se discuten los resultados. Los capítulos 8 y 9 incluyen aplicaciones concretas en suelos de Almadén y Asturias, respectivamente, de los diferentes métodos empleados por otros autores y propuestos en la presente memoria, evaluando los resultados de cada uno de ellos y estableciendo comparaciones entre ellos. Finalmente en el capítulo 10 se resumen brevemente las principales conclusiones de esta investigación.

2.3. REFERENCIAS

- [1] Goldwater LJ (1955) *“Mercury; a History of Quicksilver”*. York Press. Retrieved April 09, 2005.
- [2] Band P, Brusset H, Jousset-Dubien J, Lamure J, Pascal P (1962) *“Nouveau Traité de Chimie Minerale”*, Masson et Cie Editeurs, Paris
- [3] NAS (1978) *“An Assessment of Mercury in the Environment”*, National Academy of Sciences Press, Washington, DC.
- [4] Berlin M (1986) *“Mercury”*. En *“Handbook on the Toxicology of Metals”* V.II, p.386-445, Friberg, L., Nordberg, G.F. (eds.) Elsevier, Amsterdam.
- [5] World Health Organization (WHO) (1990) *“Environmental Health Criteria 101: Methylmercury”*. Geneva.

- [6] World Health Organization (WHO) (1991) “*Environmental Health Criteria 118: Inorganic Mercury*”. Geneva.
- [7] Goyer RA (1991) En “*Casarett and Doull’s Toxicology*”, 4th edition, Amdur, M.O.; Doull, J.; Klassen, C.D. (eds.), Pergamon, New York.
- [8] Halbach S, Clarkson TW (1978) *Biochem Biophys Acta* 523: 522-531
- [9] Kark P (1979) “*Clinical and neurochemical aspects of inorganic mercury intoxication*”. En “*Handbook of Clinical Neurology*”, Elsevier, Amsterdam, 36: 147-197
- [10] Serpone N, Borgarello E, Pelizzeti E (1988). En “*Photocatalysis and Environment*”. Schiavello M (Ed), Kluwer Academia, pp. 527.
- [11] Nriagu JO (1979) (Ed.), “*The Biogeochemistry of Mercury in the Environment*”, Elsevier/North-Holland, Amsterdam.
- [12] U.S. Environmental Protection Agency (USEPA) (1984) “*Mercury Health Effects Update: Health Sigue Assessment: Final Report*”, EPA-600/8-84-019F, Office of Health and Environmental Assessment, Washington, D.C.
- [13] U.S. Department of Health and Human Services (USDHHS) (1992) “*Toxicological Profile for Mercury: Update*”. Draft Report.
- [14] Lapp T, Wallace D, Jones R (1993) “*Inventory of air emissions of mercury*”. En *Air and Waste Management Association Conference*.
- [15] Mitra S (1986) “*Mercury in ecosystem, its dispersion and pollution today*”. Transtetch Publications, Suiza.
- [16] Press F, Siever R (1978) “*Earth*”, 2nd edition. W. H. Freeman and Co., San Francisco, 649 p.
- [17] Hem JD (1970) En: “*Mercury in the Environment*”. U.S. Geological Survey Professional Paper No. 713, Washington, DC, p.19-24.
- [18] Schroeder WH, Yarwook G, Niké H (1991) *Water Air Soil Pollut* 56: 653-666
- [19] Stein ED, Cohen Y, Winer AM (1996) *Crit Rev Environ Sci Technol* 26: 1-43
- [20] Fitzgerald WF (1989) En “*Chemical Oceanography*”, Riley JP & Chester P (Eds.) Vol. 10, 152–187, Academic, London.
- [21] Boutron CF (1986). En “*Toxic Metals in the Atmosphere*”. Nriagu, J.O.; Davidson, C.I. (eds). John Wiley & Sons, New York.
- [22] Zillioux EJ, Porcella DB, Benoit JM (1993) *Environ Toxicol Chem* 12: 2245-2264

- [23] Lindqvist O (1991) *Water Air Soil Pollut* 55: 131-157
- [24] Travis CC, Blaylock BP (1993) “*Mercury: Environmental Partitioning and Human Exposure*”. Draft Report, U.S. Department of Energy.
- [25] Ellis RW, Eslick L (1997) *Bull Environ Contam Toxicol* 59(5):763-769
- [26] Wang W, Driscoll CT (1995) *Environ Sci Technol* 29: 2261-2266
- [27] Seigneur C, Wrobel J, Constantinou E (1994) *Environ Sci Technol* 28: 1589-1597
- [28] Bodek I, Lyman WJ, Rel WF, Rosenblatt DH, Walton BT, Conway RA (eds) (1988) “*Environmental Inorganic Chemistry: Properties, Processes, and Estimation Methods*”. Pergamon Press, New York.
- [29] Winfrey MR, Rudd JWM (1990) *Environ Toxicol Chem* 9: 853-869
- [30] Driscoll CT, Yan C, Schofield CL, Munson R, Holsapple J (1994) *Environ Sci Technol* 28: 136-143
- [31] Lindberg SE, Turner RR, Meyers TP, Taylor GE, Schroeder WH (1991) *Water Air Soil Pollut* 56: 577-594
- [32] Andersson I, Parkman H, Jernelov A (1990) *Limnologica* 20: 347-359
- [33] Sorenson JA, Glass GE, Schmidt KW, Huber JK, Rapp GR (1990) *Environ Sci Technol* 24: 1716-1727
- [34] Loredó J, Ordóñez A, Baldo C, García-Iglesias C (2003) *Geochem Explor Environ Anal* 3:229-237
- [35] Adriano DC (1992) “*Biochemistry of Trace Metals*”. Lewis Publishers, Chelsea, MI., 513 pp.
- [36] Davis A, Bloom NS, Que Hee SS (1997) *Risk Analysis* 17:557-569
- [37] Cooker WB (1995) “*Processes Effecting Mercury and Associated Metals in Lake Sediment Columns*”, Canadian Mercury Network Workshop, Geological Survey of Canada, 601 Booth Street, Ottawa, Ontario. K1A 0E8.
- [38] Gilmour CC, Henry EA, Mitchell M (1992) *Environ Sci Technol* 26: 2281-2287
- [39] Tunell G, Dickson FW (1968) En “*Ore deposits of the United States*”, Ridge, J.D. (ed) 1933-1967: New York, American Institute of Mining and Metallurgical Engineers, v. 2, p. 1673-1701.
- [40] Burkstaller JE, McCarty PL (1975) *Environ Sci Technol* 9: 676-678

- [41] Lindqvist O, Schroeder WH (1989) En “*Control and Fate of Atmospheric Trace Metals*”, Pacyna JM, Ottar B (eds), Kluwer Academia, pp. 303.
- [42] Jonasson IR (1970) *Pap Geol Surv Can* No. 70-57: 39 pp.
- [43] Khan S, Khan NN, Iqbal N (1991) *Environ Pollut* 70: 109-115
- [44] Yin Y, Allen HE, Li Y, Huang CP, Sanders PF (1996) *J Environ Qual* 25: 837-844
- [45] Buffle J (1988). “*Complexation Reactions in Aquatic Systems*”; Ellis Horwood Limited: Chichester, England.
- [46] Baker WE (1973) *Geochim Cosmochim Acta* 37: 269-281
- [47] Gamble DS, Schnitzer M, Kendorff H, Langford CH (1983) *Geochim Cosmochim Acta* 47: 1311-1323
- [48] Mierle G., Ingram R (1991) *Water Air Soil Pollut* 56: 349-357
- [49] Borg H, Johansson K (1989) *Water Air Soil Pollut* 47: 427-440
- [50] Louchouart P, Lucotte M, Mucci A, Pichet P (1993) *Can J Fish Aquat Sci* 50: 269-281
- [51] Ravichandran M, Airen GR, Reddy MM, Ryan JN (1998) *Environ Sci Technol* 32: 3305-3311
- [52] Biester H, Müller G, Schöler HF (2002) *Sci Total Environ* 284: 191-203
- [53] Stumm W, Morgan JJ (1995) *Aquatic Chemistry*, 3rd ed; John Wiley.
- [54] Schwarzenbach G, Widmer M (1963) *Helv Chim Acta* 46: 2613-2628
- [55] Dyrssen D, Wedborg M (1991) *Water Air Soil Pollut* 56: 507-519
- [56] Paquette KE, Helz GR (1997) *Environ Sci Technol* 31: 2148-2153
- [57] Fabbri D, Locatelli C, Snape CE, Tarabusi S (2001) *J Environ Monit* 3: 483-486
- [58] Melamed R, Villas Boas RC (1999) *Science Total Environ* 261: 203-209
- [59] Regnell HOG (1990) *Can J Fish Aquat Sci* 47: 548-553
- [60] Rudd JWM, Furutani A, Turner MA (1980) *Appl Environ Microbiol* 40: 777-782
- [61] Rudd JWM, Turner MA, Furutani A, Swick AL, Townsend BE (1983) *Can J Fish Aquat Sci* 40: 2206-2217

- [62] Bjornberg AA, Hakanson L, Lundbergh K (1988) *Environ Pollut* 49: 53-61
- [63] Paulsson K, Lindbergh K (1989) *Sci Total Environ* 87-88:495-507
- [64] Pelletier E (1986) *Mar Environ Res* 18(2):111-132
- [65] Jin LJ, Guo P, Xu XQ (1999) *Toxicol Environ Chem* 69: 255–261

3.1. TÉCNICAS ANALÍTICAS COMÚNMENTE EMPLEADAS PARA LA DETERMINACIÓN DE Hg

Son numerosas las técnicas analíticas que se han empleado en las recientes décadas para la determinación de mercurio en muestras líquidas. A pesar de que algunos autores han empleado técnicas radioquímicas [1, 2] y electroquímicas [3, 4], las técnicas espectroscópicas han sido y siguen siendo las más utilizadas para la determinación de mercurio en muestras medioambientales. En la bibliografía podemos encontrar aplicaciones que emplean la Espectrometría de Absorción Atómica con Llama (FAAS) [5], la Espectrometría de Absorción Atómica con cámara de grafito (GFAAS) [6-8], la Espectrometría de Emisión Atómica con Fuente de Plasma Acoplado por Inducción (ICP-AES) [9-11], la Espectrometría de Masas con Fuente de Plasma Acoplado por Inducción (ICP-MS) [12-14], la Espectrometría de Absorción Atómica con Generación de Vapor Frío de Mercurio (CV-AAS) [15-18] y la Espectrometría de Fluorescencia Atómica con Generación de Vapor Frío de Mercurio (CV-AFS) [19-21]. De todas ellas la CV-AAS ha sido y sigue siendo la más utilizada. Algunas de las características que hacen de esta técnica una de las más idóneas para la determinación del contenido en mercurio en muestras ambientales y biológicas, son (i) su aceptable sensibilidad, que a su vez puede ser incrementada mediante el acoplamiento de un sistema de preconcentración [22, 23], (ii) su elevada selectividad, ya que al separar el vapor de mercurio de la matriz se eliminan la mayoría de los posibles interferentes presentes en la misma, (iii) su capacidad de acoplamiento automatizado a sistemas híbridos que permiten realizar análisis de especiación de mercurio [24, 25], sistemas continuos [26], y (iv) su bajo costo.

La técnica CV-AAS aprovecha el hecho de que el mercurio es el único elemento metálico con una presión de vapor significativa a temperatura ambiente ($146,6 \cdot 10^{-3}$ Pa a 20° C) [27] y que además su forma oxidada se puede reducir fácilmente a mercurio elemental, que es arrastrado por un gas inerte (ej. N_2 , Ar) hasta una célula de medida, en donde los átomos de mercurio se cuantifican mediante la medida de su absorbancia a 253,7 nm.

Dentro de las técnicas espectroscópicas, en los últimos años se está utilizando cada vez con mayor profusión la técnica de Espectrometría de Emisión Atómica con Fuente de Plasma Acoplado por Inducción acoplada con un sistema de Generación de Vapor Frío (CV-ICP-AES) [28]. Se trata de una variante del sistema de introducción de muestras en ICP-AES que se basa en la reducción previa del mercurio a vapor de mercurio elemental a su entrada en la fuente de plasma. Esta técnica combina la selectividad de las técnicas de vapor frío con la estabilidad de las técnicas que emplean fuente de plasma y ha permitido reducir los límites de detección en la determinación de especies de mercurio al nivel de $\mu\text{g L}^{-1}$.

Además de las técnicas espectroscópicas clásicas ya mencionadas, en los últimos años algunas compañías han desarrollado lo que se conoce como analizadores específicos de mercurio. Estos equipos han sido diseñados y optimizados para la determinación única de Hg a bajas concentraciones en muestras de diferente naturaleza y suelen incluir sistemas de preconcentración del mercurio y determinación mediante Absorción Atómica o Fluorescencia Atómica. Uno de estos equipos es el DMA-80, de la firma Milestone (Soriso, Italia). Éste combina el procesado de las muestras a través de su descomposición térmica, con la preconcentración de las mismas por amalgamación y determinación del Hg mediante espectrometría de absorción atómica. Entre sus ventajas se encuentra que las condiciones de procesado de las muestras pueden ser modificadas para optimizar las condiciones en función de la naturaleza y cantidad de muestra analizada. En principio, está optimizado para la determinación de mercurio total en muestras sólidas, pero el uso de cubetas de cuarzo permite a su vez la determinación en muestras líquidas, con una buena precisión y límites de detección bastante aceptables. Esto amplía de forma considerable las posibilidades del equipo, ya que las muestras líquidas no sólo pueden resultar de la digestión de muestras sólidas para la determinación de mercurio total, sino también, por ejemplo, de extractos obtenidos mediante procedimientos de extracción simple o secuencial.

A continuación vamos a describir detalladamente las principales técnicas analíticas empleadas para la determinación de Hg a lo largo de la presente tesis doctoral.

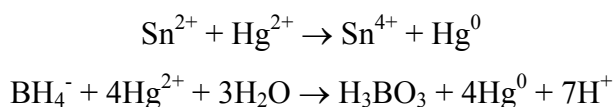
3.2. ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

A lo largo de los trabajos realizados en la presente tesis doctoral las técnicas de Análisis por Absorción Atómica CV-AAS y Espectrometría de Absorción Atómica con Atomización Electrotérmica y Reducción Catalítica, empleando un analizador específico de Hg, se han utilizado ampliamente para la determinación de Hg en las diferentes muestras objeto de estudio.

3.2.1. Espectrometría de Absorción Atómica con Generación de Vapor Frío de Hg (CV-AAS)

En el caso del Hg, se trata del único elemento metálico que presenta una presión de vapor significativa a temperatura ambiente. Aprovechando esta característica, los iones mercurio en disolución pueden ser reducidos a Hg elemental mediante un reductor.

El cloruro estannoso (SnCl_2) y el borohidruro sódico (NaBH_4) son los reductores más comúnmente empleados. Ambos tienen sus ventajas y sus inconvenientes. En general, el SnCl_2 , al ser un reductor más suave, es más selectivo, sin embargo, es incapaz de reducir las especies orgánicas de mercurio [26]. Por su parte, el NaBH_4 es un reductor más fuerte y puede reducir las especies orgánicas de mercurio presentes, pero, por el contrario, también puede reducir más especies presentes y vaporizarlas y éstas pueden interferir en la determinación [29]. Las reacciones correspondientes con uno y otro reductor son:



El Hg elemental generado en estado gaseoso, se arrastra fuera de la disolución mediante un gas inerte (N_2 o Ar) hasta una célula de absorción de cuarzo de gran longitud, donde los átomos de Hg se miden a 253,7 nm. Al separarlo de la muestra y concentrarlo en una pequeña porción de gas portador, esta técnica es altamente selectiva a la vez que muy

sensible, permitiendo reducir los límites de detección hasta niveles de $\text{sub}\mu\text{g L}^{-1}$ o incluso ng L^{-1} .

Otra de las ventajas que presenta esta técnica es la posibilidad de incorporarlo a un sistema continuo de análisis por inyección de flujo (FIA). De esta manera, se consigue una automatización elevada, gran velocidad de análisis, mínimo consumo de muestra y capacidad para trabajar con volúmenes de ésta perfectamente definidos [30].

La técnica CV-AAS se empleó extensamente a lo largo del desarrollo de las experiencias realizadas en los estudios de la presente tesis doctoral.

El instrumento utilizado fue un espectrómetro de la firma VARIAN, modelo SpectrAA-640Z, equipado con un sistema para la generación de vapor frío en continuo, modelo VGA-77 (figura 3.1), con célula de cuarzo de flujo transversal. Los datos analíticos se recogieron en un terminal PC y se trataron mediante un software SpectrAA-640Z V3.00.



Figura 3.1. Espectrómetro Varian SpectrAA-640Z con accesorio de generación de vapor frío de Hg VGA-77.

Como reductor se ha empleado en estos trabajos de investigación una disolución al 25% p/v de SnCl_2 preparado del siguiente modo: se pesan 25 g de SnCl_2 (Merck, Darmstadt, Alemania) en un vaso de precipitados, añadiéndose 20 mL de ácido clorhídrico concentrado de calidad analítica (Merck, Darmstadt, Alemania). Una vez disuelto, la

disolución se afora hasta un volumen de 100 mL con agua ultrapura (Millipore, Bedford, MA, EEUU). En ocasiones, en función de la procedencia y estado físico de este reductor, es necesario someterlo a calentamiento con el ácido clorhídrico para conseguir su disolución. La disolución así obtenida es estable durante 24 horas a temperatura ambiente, o 15 días en congelador.

En el canal ácido se ha empleado agua ultrapura si las muestras se encuentran en medio ácido, ó ligeramente acidulada con ácido clorhídrico concentrado de calidad analítica (Merck, Darmstadt, Alemania). Como gas portador se ha utilizado nitrógeno de calidad Alphagaz Ar-1.

Las curvas de calibrado se obtienen diariamente a partir de la medida de disoluciones de calibrado. Estas disoluciones de concentración 0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 7,5, 10, 15 y 20 $\mu\text{g L}^{-1}$, se consiguen mediante diluciones sucesivas con HNO_3 0,5 M, a partir de una disolución patrón monoelemental certificada de concentración 1000 mg L^{-1} en HNO_3 5% v/v (Johnson Matthey GmbH Alpha, Karlsruhe, Alemania).

Los principales parámetros del método para la determinación de Hg por CV-AAS utilizados, se resumen en la tabla 3.1.

Tabla 3.1. Condiciones analíticas en CV-AAS

ESPECTRÓMETRO	Varian SpectrAA-640Z
Generador de vapor frío	Varian VGA 77
Longitud de onda	253.7 nm
Anchura de rendija	0.5 nm
Voltaje en el detector (EHT)	290 V
Intensidad en lámpara	4.0 mA
Corrección de fondo	No es posible
Algoritmo de calibración	Cuadrático
Tiempo de medida	5.0 s
Tiempo de espera	45 s
Modo de medida	Integración
Número de réplicas	3
Disolución reductora	25% p/v de SnCl_2 en HCl al 20% v/v
Caudal en el canal reductor	1 ml min^{-1}
Caudal en el canal ácido	1 ml min^{-1}
Caudal en el canal de muestra	7 ml min^{-1}
Gas portador	N_2 ALPHAGAZ Ar-1 (3.5 bar)
Célula de medida	Célula de flujo de Hg a temperatura ambiente

3.2.2. Espectrometría de Absorción Atómica con Atomización Electrotérmica y Reducción Catalítica

Existen modernos analizadores específicos capaces de determinar el mercurio directamente en muestras sólidas y líquidas. Uno de ellos, es el equipo DMA-80 (figura 3.2) de la firma Milestone (Soriso, Italia). Éste posee las características técnicas descritas en la tabla 3.2 y ha sido ampliamente utilizado en el desarrollo de los estudios realizados a lo largo de la presente tesis, tanto para la medida de Hg de forma directa en muestras sólidas como para su determinación en muestras líquidas consistentes fundamentalmente en extractos procedentes de la aplicación de métodos de extracción. Las condiciones operatorias empleadas para ambos tipos de muestra vienen dados en las tablas 4.3 y 4.4 del capítulo dedicado a la descripción de métodos (capítulo 4).

Tabla 3.2. Especificaciones técnicas del equipo DMA-80

Parámetro	Valor
Óptica del instrumento	Espectrofotómetro de haz simple con flujo secuencial a través de células de medida
Fuente de luz	Lámpara de vapor de mercurio de baja presión
Longitud de onda de medida	253.65 nm
Filtro de interferencias	254 nm, ancho de banda de 9 nm
Detector	Fotodetector Silicon UV
Límite de detección	0.01 ng Hg
Intervalo de trabajo (con cambio de celda automático)	Intervalo de bajas concentraciones: 0–35 ng Hg Intervalo de altas concentraciones: 35-600 ng Hg
Reproducibilidad	< 1.5%
Volumen de muestras líquidas	0-500 µL
Volumen de muestras sólidas	0-500 mg
Gas portador	Oxígeno Alphagaz
Presión de entrada	4 bar (60 psig)
Caudal de gas	~ 160 mL/min

Algunos parámetros instrumentales, tales como temperatura y tiempo de secado, temperatura y tiempo de descomposición, etc, pueden ser modificados en función de las necesidades analíticas, tipos de muestra, intervalo de concentración, etc.



Figura 3.2. Equipo DMA-80

La técnica que emplea este equipo, se basa en el calentamiento controlado de las muestras sólidas o líquidas en un horno de descomposición con una corriente de oxígeno para liberar el mercurio de las mismas (figura 3.3). Las muestras se ponen en unas navcillas de níquel o cuarzo, según sean sólidas o líquidas y se introducen en el equipo mediante un automuestreador. Allí se las somete a un primer proceso de secado, seguido de su descomposición térmica y química dentro del horno de calcinación. Los productos de descomposición se transportan, mediante una corriente de oxígeno, hasta la sección catalítica del horno, donde se completa la oxidación, quedando los compuestos halógenos y los óxidos de nitrógeno y de azufre en el catalizador. El vapor resultante se conduce hasta un amalgamador de oro donde el Hg queda retenido. Cuando se da por concluido el proceso anterior, se calienta rápidamente la amalgama, liberando todo el vapor de mercurio previamente atrapado. Una corriente de oxígeno arrastra este vapor hacia las células de medida, dispuestas en el paso de luz de un espectrofotómetro de absorción atómica, midiendo la absorbancia a 253,7 nm (figura 3.3).

El intervalo típico de trabajo es de 0,05-600 ng Hg. En la etapa de medida, el vapor de Hg se lleva primeramente hacia una célula de medida de mayor longitud para la medida de bajas concentraciones, y a continuación, a la célula de medida de menor longitud para la medida de altas concentraciones. Así pues, la misma cantidad de Hg es medido dos veces utilizando diferentes sensibilidades, de lo que resulta un intervalo dinámico lineal que abarca al menos cuatro órdenes de magnitud.

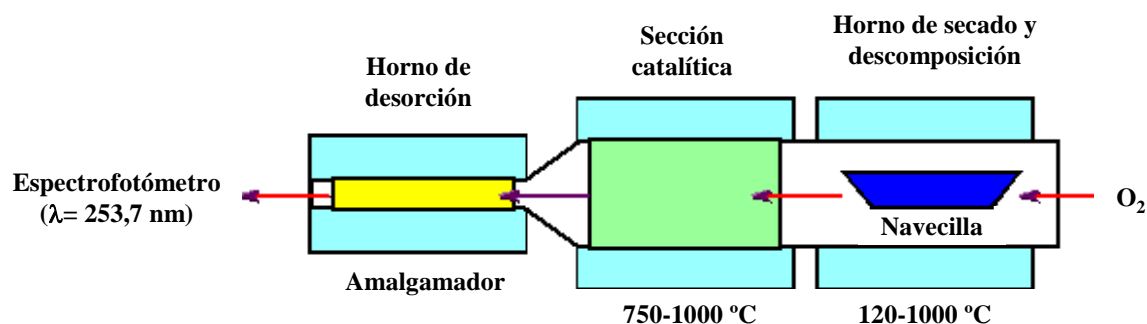


Figura 3.3. Esquema de funcionamiento del equipo DMA-80

El intervalo típico de trabajo es de 0,05-600 ng Hg. En la etapa de medida, el vapor de Hg se lleva primeramente hacia una célula de medida de mayor longitud para la medida de bajas concentraciones, y a continuación, a la célula de medida de menor longitud para la medida de altas concentraciones. Así pues, la misma cantidad de Hg es medido dos veces utilizando diferentes sensibilidades, de lo que resulta un intervalo dinámico lineal que abarca al menos cuatro órdenes de magnitud.

Una de las ventajas que ofrece el empleo de este equipo es que no necesita de una calibración diaria. Una calibración primaria, en el intervalo 0,1-400 ng de Hg es suficiente para la medida de las muestras por un largo periodo de tiempo, siempre y cuando no cambien algunos parámetros instrumentales fundamentales, tales como la tensión de la lámpara del espectrofotómetro, la amalgama o el catalizador. No obstante, se recomienda introducir disoluciones patrón en las secuencias de análisis con el fin de comprobar la validez del calibrado.

3.3. ESPECTROMETRÍA DE EMISIÓN ATÓMICA CON FUENTE DE PLASMA ACOPLADO POR INDUCCIÓN (ICP-AES)

En el caso de la determinación de Hg en muestras líquidas, el intervalo de concentraciones a determinar abarca los niveles de mg L^{-1} a submg L^{-1} en la aplicación convencional de la técnica (ICP-AES), mientras que en el caso de la generación de vapor frío de Hg, previo a la entrada de la muestra en el nebulizador (CV-ICP-AES), se pueden determinar niveles de concentración del orden de $\mu\text{g L}^{-1}$. El amplio intervalo

dinámico lineal, generalmente de unos 3 a 6 órdenes de magnitud, la elevada estabilidad del plasma como fuente de excitación, que permite la obtención de resultados altamente precisos, la velocidad de análisis, ligeramente superior a la correspondiente a las técnicas de Absorción Atómica empleadas, hicieron que esta técnica se emplease como una opción alternativa para la determinación de Hg en muestras líquidas con contenidos de Hg superiores a los requeridos en las técnicas de Absorción Atómica, evitándose además la necesidad de una dilución excesiva de las muestras, que pudiera conducir a la obtención de resultados poco fiables.

El instrumento utilizado para la determinación de Hg por ICP-AES en sus dos variedades, fue un espectrómetro secuencial de la casa Jobin Yvon modelo JY38PLUS (figura 3.4).



Figura 3.4. Espectrofotómetro de ICP-AES Jobin Yvon modelo JY38PLUS

3.3.1. ICP-AES

En esta variedad de la técnica ICP-AES se emplea una cámara de nebulización Scott. Esta es una cámara de doble paso, que consta dos tubos cilindricos para limitar el paso

hacia el plasma de aquellas gotas que superan aproximadamente 10 μm de diámetro (figura 3.5). Este sistema se basa en una discriminación de gotas mediante un transporte de las mismas con una corriente de argón a lo largo del tubo interior, el impacto de las mayores sobre la pared del fondo, y el recorrido de las más pequeñas entre el tubo interior y el exterior, hasta alcanzar la antorcha.

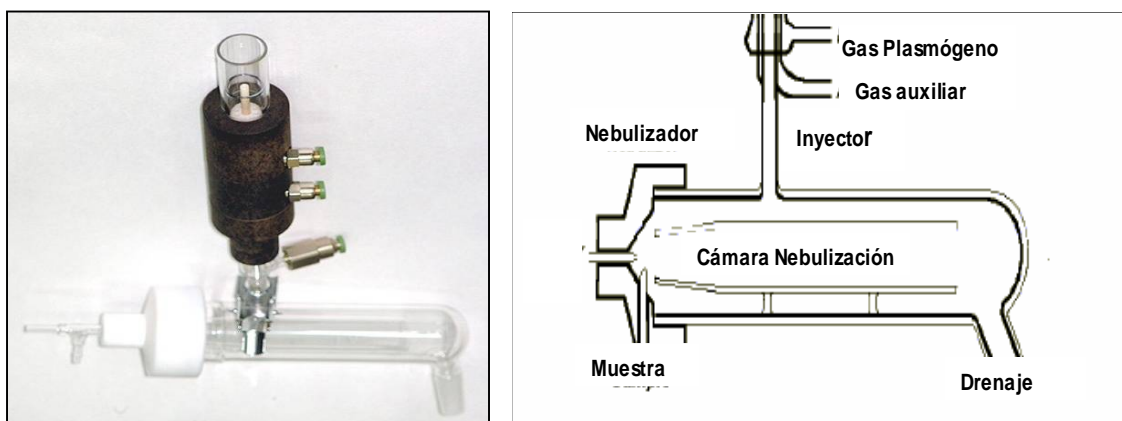


Figura 3.5. Fotografía y esquema de una cámara de nebulización clásica Scott

Las condiciones operatorias utilizadas en esta técnica vienen dadas en la tabla 3.3.

Tabla 3.3. Condiciones analíticas en ICP-AES convencional

ESPECTRÓMETRO	Jobin Yvon JY38 PLUS
Nebulizador	Meinhard, TR50C1
Tipo de cámara	Scott
Longitud de onda de medida	253.652 nm
Anchura de rendija de entrada	0.015 mm
Anchura de rendija de salida	0.020 mm
Caudal de entrada de muestra	1.5 ml min ⁻¹
Altura de observación	14 mm
Potencia	1000 W
Potencia reflejada	< 5%
Caudal de gas plasmógeno	15 l Ar min ⁻¹ at 3 atm
Caudal de gas de nebulización	0.45 l Ar min ⁻¹ at 3 atm
Caudal de gas envolvente	0.475 l Ar min ⁻¹ at 3 atm
Caudal de gas auxiliar	No se emplea
Tiempo de integración	0.5 s por medida
Modo de medida	Función gaussiana

Esta técnica se utilizó para la determinación de Hg en el nivel de concentración de mg L⁻¹. Aunque de forma ocasional se empleó en la determinación de Hg en extractos procedentes de la aplicación de métodos de extracción, su principal aplicación fue la determinación de la concentración de Hg en las muestras resultantes de los ensayos de extracción.

3.3.2. CV-ICP-AES

En esta técnica se emplea una cámara de nebulización ciclónica, tipo CMA (Concomitant metal analyser), que permite la posibilidad de generar hidruros o vapor frío de mercurio (figura 3.6). Esta cámara está diseñada para conseguir mayor eficacia de nebulización y menores efectos de memoria respecto a la cámara de nebulización Scott. El proceso de discriminación de gotas se basa, en este caso, en procesos de impactación con las paredes y de gravitación de las gotas más pesadas.

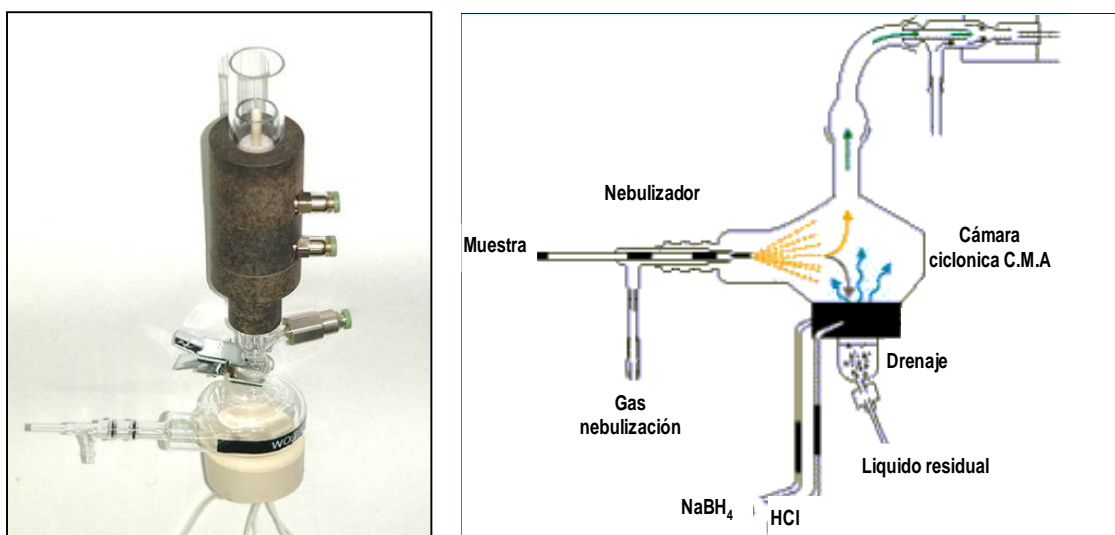


Figura 3.6. Fotografía y esquema de una cámara de nebulización CMA

Por otro lado, se puede conseguir mejorar la selectividad de la técnica para el análisis de elementos susceptibles de formar hidruros, tales como As, Se o Sb, o bien Hg, cuyo vapor atómico se forma directamente por reducción. Esta cámara de nebulización presenta una cavidad en la parte inferior previa al drenaje, donde queda acumulado en un breve periodo de tiempo la muestra que ha impactado en las paredes y no llega al plasma. Introduciendo en este depósito los reactivos adecuados (reductor y ácido), por los conductos diseñados específicamente para ello, se pueden generar el vapor de Hg elemental mediante un método continuo. Los gases producidos en la reacción llegan hasta la antorcha, transportados por el argón existente en la cámara.

Las condiciones operatorias utilizadas en esta técnica vienen dadas en la tabla 3.4.

Tabla 3.4. Condiciones analíticas en CV-ICP-AES

ESPECTRÓMETRO	Jobin Yvon JY38 PLUS
Nebulizador	Meinhard, TR50C1
Tipo de cámara	Ciclónica (CMA)
Longitud de onda de medida	253.652 nm
Anchura de rendija de entrada	0.015 mm
Anchura de rendija de salida	0.020 mm
Caudal de entrada de muestra	1.5 mL min ⁻¹
Caudal de ácido (HCl 6M)	1.5 mL min ⁻¹
Caudal de reductor (NaBH₄ 1% en NaOH 0,5M)	0.9 mL min ⁻¹
Altura de observación	14 mm
Potencia	1000 W
Potencia reflejada	< 5%
Caudal de gas plasmógeno	15 l Ar min ⁻¹ at 3 atm
Caudal de gas de nebulización	0.45 l Ar min ⁻¹ at 3 atm
Caudal de gas envolvente	0.475 l Ar min ⁻¹ at 3 atm
Caudal de gas auxiliar	No se emplea
Tiempo de integración	0.5 s por medida
Modo de medida	Función gaussiana

Una de las ventajas de esta técnica sobre la CV-AAS empleando SnCl₂ como reductor es que, al contrario de éste, permite la reducción y atomización de las especies orgánicas de Hg presentes en la muestra líquida, que de esta forma, también pueden ser determinadas. Por este motivo, esta técnica se empleó principalmente para la determinación de Hg en extractos que pudieran contener estas especies orgánicas como aquellos procedentes de la primera etapa del método EPA 3200 [32].

Otra ventaja de la técnica de ICP-AES en sus dos modalidades, es su amplio intervalo dinámico lineal. Sin embargo, esta técnica presenta como inconveniente un importante efecto de memoria, de manera que tras la introducción en el plasma de una muestra con elevada concentración de Hg, es necesario proceder a un largo e intenso lavado hasta recuperar el nivel base para proceder con la siguiente determinación.

3.4. OTRAS TÉCNICAS

Para la identificación de las fases cristalinas se empleó un Difractómetro Phillips X'Pert System con una fuente de radiación Cu K α (1,5418 Å). La recogida e interpretación de los datos obtenidos de los análisis fue realizada utilizando un programa de software PC-APD.

Los *análisis micromorfológicos* de ciertas muestras se realizaron mediante Microscopía de Barrido Electrónico con un instrumento MEB (modelo JEOL-6100), el cual operó con una resolución teórica de 4 nm.

3.5. REFERENCIAS

- [1] Shetty P, Moosavi-Movahedi AA, Rengan K (1994) *J Radioanal Nucl Chem* 182: 205-211
- [2] Sandhya D, Subramanian MS (1994) *Radiochim Acta* 65: 105-109
- [3] Khan MR, Khoo SB (1996) *Anal Chem* 68: 3290-3294
- [4] Amine A, Cremisini C, Palleschi G (1995) *Mikrochim Acta* 121: 183-190
- [5] Ellis LA, Roberts DJ (1996) *J Anal At Spectr* 11: 1063-1066
- [6] Le Bihan A, Cabon CY (1990) *Talanta* 37: 1119-1122
- [7] Bermejo-Barrera P, Verdura-Constenla EM, Moreda-Piñeiro A, Bermejo-Barrera A (1999) *Anal Chim Acta* 398: 263-272
- [8] Moreda-Piñeiro J, López-Mahía P, Muniategui-Lorenza S, Fernández-Fernández E, Prada-Rodríguez D (2002) *Anal Chim Acta* 460: 111-122
- [9] Cañada-Rudner P, Cano-Pavón JM, García de Torres A, Sánchez-Rojas F (1995) *Fresenius J Anal Chem* 352: 615-617
- [10] Jamoussi B, Zafaouf M, Hassine BB (1995) *Int J Environ Anal Chem* 61: 249-256
- [11] Budic B (2000) *Fresenius J Anal Chem* 368: 371-377
- [12] Debrah E, Denoyer ER, Tyson JF (1996) *J Anal At Spectr* 11: 127-132
- [13] Jian L, Goessler W, Irgolic KJ (2000) *Fresenius J Anal Chem* 366: 48-53

- [14] Wu XH, Sun DH, Zhuang ZX, Wang XR, Gong HF, Hong JX, Lee FSC (2002) *Anal Chim Acta* 453: 311-323
- [15] Hatch WR, Ott WL (1968) *Anal Chem* 40: 2085-2087
- [16] Baltisberger RJ, Knudson CL (1974) *Anal Chim Acta* 73: 265-272
- [17] Ombaba JM (1996) *Microchem*, . 53: 195-200
- [18] Río Segade S, Tyson JF (2003) *Spectrochimica Acta Part B* 58: 797-807
- [19] Bloom NS, Fitzgerald WF (1988) *Anal Chim Acta* 208: 151-161
- [20] Whyte DC, Kirchner JW (2000) *Sci Total Environ* 260: 1-9
- [21] Tirez K, Beutels F, Brusten W, Noten B, Brucker ND (2002) *Anal Bioanal Chem* 374: 990-997
- [22] Fitzgerald WF, Gill GA (1979) *Anal Chem* 51: 1714-1720
- [23] Yamamoto J, Kaneda Y, Hikasa Y (1983) *Intern J Environ Anal Chem* 16: 1-16
- [24] Horvat M, Byrne AR (1992) *Analyst* 117: 665-668
- [25] Fernández-Rivas C, Muñoz-Olivas R, Cámara C (2001) *Fres J Anal Chem* 371: 1124-1129
- [26] Río Segade S, Bendicho C (1999) *Ecotoxicol Environ Saf* 42: 245-252
- [27] Phillips GF, Dixon BE, Lidzey RG (1959) *J Sci Food Agric* 10:604-610
- [28] Dietz C, Madrid Y, Cámara C, Quevauviller P (1999) *J Anal At Spectrom* 14: 1349-1355
- [29] Chen YW, Tong J, D'Ulivo A, Belzile N (2002) *Analyst* 127: 1541-1546
- [30] Escribano A, Fernández RM, Sanz VF, Rucandio MI (2001) “Determinación de mercurio en sólidos medioambientales mediante espectrometría de absorción atómica con generación de vapor frío en un sistema continuo” Ref. CIEMAT PE-IA/QM-TEM-004.
- [31] SKOOG/LEARY “Análisis instrumental”, Cuarta edición, Mc Graw Hill, ISBN: 84-481-091-X, 1996.
- [32] EPA METHOD 3200 Revision 0, July 2005, pp. 27

4.1. DETERMINACIÓN DE MERCURIO TOTAL

4.1.1. Generalidades

La determinación cuantitativa de los elementos traza presentes en suelos y sedimentos mediante las técnicas analíticas más comúnmente utilizadas para este propósito, tales como FAAS, GF-AAS, CV-AAS, ICP-AES o ICP-MS, requiere que estos elementos se encuentren en disolución. Esto se consigue, por regla general, mediante la digestión de la muestra en una mezcla de ácidos minerales a elevada temperatura [1-3].

En el campo de la química analítica medioambiental la lixiviación ácida se ha convertido en un procedimiento común para extraer metales traza de diversas matrices. En general, los métodos de lixiviación que emplean HNO₃ o mezclas de HNO₃ y HCl no son capaces de extraer cuantitativamente los contenidos de metales presentes en materiales geológicos, debido a que estos ácidos son incapaces de disolver los aluminosilicatos [4-6]. Con el fin de conseguir la disolución completa de estos compuestos es necesario utilizar HF en la digestión, el cual no está exento de problemas debido a que el uso de este ácido impide que se pueda utilizar material de vidrio, haciendo necesario, por lo general, una etapa adicional de neutralización del exceso de HF mediante su reacción con H₃BO₃.

En muchos procedimientos de digestión, el calentamiento convencional en una placa de agitación magnética u otro dispositivo, es sustituido por un calentamiento en un horno microondas, máxime cuando es necesario determinar elementos que se volatilizan con cierta facilidad. La utilización de reactores presurizados en combinación con el calentamiento por microrondas ofrece una serie de ventajas tales como una reducción considerable del tiempo requerido para la digestión en numerosas matrices [7-9]. También en muchos casos, es posible el ajuste de las condiciones operatorias del horno microondas a fin de conseguir la digestión completa de las muestras en un tiempo óptimo. Por estos motivos, el uso de estos procedimientos se ha extendido rápidamente y son empleados por numerosos laboratorios para la digestión completa de muestras sólidas medioambientales.

Por otro lado, el uso de técnicas analíticas que permitan la determinación de los elementos traza en la propia muestra sólida está adquiriendo una importancia cada vez más relevante en los últimos años. En el caso del Hg, diversas compañías han desarrollado equipos basados en la combustión completa de la muestra y la determinación selectiva del Hg liberado. De esta forma, se evitan algunos de los inconvenientes más importantes del empleo de métodos de digestión, tales como el empleo de reactivos que pueden contaminar las muestras, a la vez que acortan de un modo considerable el tiempo de análisis y la manipulación de las muestras. Estos procedimientos suelen incluir una etapa de secado integrada en la secuencia de análisis, por lo que también es posible la determinación del Hg presente en muestras líquidas.

A lo largo de la presente tesis, para la determinación de los contenidos de Hg total en las muestras estudiadas, se emplearon métodos basados en procedimientos de digestión asistida por microondas, así como métodos basados en la determinación directa del Hg en muestras sólidas y líquidas mediante un analizador específico de Hg.

4.1.2. Procedimiento experimental de los métodos empleados para la determinación de Hg total a lo largo de la presente tesis

4.1.2.1. Determinación en muestras sólidas con digestión ácida

El contenido total de mercurio en muestras sólidas se determina mediante la digestión de las mismas con una mezcla de agua regia y HF en reactores de teflón cerrados en un horno microondas [10]. Según este procedimiento deben extraerse todas las especies de Hg presentes en las muestras. El procedimiento experimental se realiza en los siguientes pasos sucesivos:

1. Se pesan 0,25 g de cada muestra homogeneizada y se transfieren a un reactor de teflón.
2. Se añaden sucesivamente 10 ml de agua ultrapura, 10 ml de agua regia recién preparada y 4 ml de HF concentrado.
3. Se cierran los reactores y se introducen en el horno microondas donde se someten a la digestión en las condiciones dadas en la tabla 4.1.

4. Se enfrían los reactores a temperatura ambiente, con hielo o esperando el tiempo necesario.
5. Se filtra el contenido de los reactores, a través de filtros de papel de celulosa de 0,45 μm , lavándolos sucesivas veces con pequeñas cantidades de HNO_3 0,5N.
6. Se diluye con agua ultrapura y se afora a 50 ml.
7. Finalmente se realiza un tratamiento adicional con H_3BO_3 tomando una alícuota de 20 ml de la muestra, añadiendo 0,4 g de este ácido y disolviendo. El H_3BO_3 hace posible la destrucción del exceso de HF que pueda quedar sin reaccionar en la disolución y que puede dañar el material de vidrio en los equipos de medida.

Tabla 4.1. Programa del microondas empleado para la digestión de las muestras

Etapa	1	2	3
Potencia (%)	50	100	100
Presión (psi)	50	120	120
Tiempo (min)	30	60	60
TAP (min)	10	30	30
Ventilación (%)	100	100	100

8. Medida de las muestras mediante CV-AAS.

4.1.2.2. Determinación directa en muestras sólidas

El contenido total de Hg en muestras sólidas puede ser determinado de forma directa mediante su análisis empleando el equipo DMA-80. Los pasos a seguir son los siguientes:

1. Limpieza de navetas de níquel en el equipo DMA-80, empleando las condiciones indicadas en la tabla 4.2.
2. Pesada de las muestras sobre las navetas de níquel limpias. El peso de muestra puede oscilar entre 5 y 50 mg en función del contenido de Hg esperado.
3. Medida de las muestras en el equipo DMA-80 empleando las condiciones operatorias de la tabla 4.3.

Tabla 4.2. Condiciones operatorias para la limpieza de navetas en el equipo DMA-80

Temp. Secado	Tiempo Secado	Temp. Descomp.	Tiempo Descomp.	Tiempo de purga	Tiempo Amalgam.	Tiempo de registro
300 °C	10s	850 °C	120s	60s	12s	30s

Tabla 4.3. Condiciones operatorias para la determinación de mercurio en muestras sólidas en el equipo DMA-80

Temp. Secado	Tiempo Secado	Temp. Descomp.	Tiempo Descomp.	Tiempo de purga	Tiempo Amalgam.	Tiempo de registro
300 °C	60s	850 °C	120s	60s	12s	30s

4.1.2.3. Determinación directa en muestras líquidas

El contenido de Hg en una muestra líquida puede ser determinado directamente mediante su análisis en el equipo DMA-80. Para evitar problemas de efectos de memoria y oxidación y deterioro de las navetas, en lugar de utilizar navetas de níquel, las muestras se depositan en navetas de cuarzo, más inertes y resistentes al ataque ácido. De esta forma se pueden analizar de forma directa muestras medioambientales, por ejemplo aguas, con o sin tratamiento previo, muestras procedentes de procesos de digestión ácida, o bien extractos procedentes de la aplicación de métodos de extracción secuencial. Las condiciones para la determinación de Hg en este tipo de muestras son muy similares a las anteriores y se resumen en los siguientes pasos:

1. Limpieza de las navetas de cuarzo utilizando las condiciones descritas en la tabla 4.2.
2. Adición de 100 µL de muestra líquida a cada naveta.
3. Medida de las muestras en las condiciones descritas en la tabla 4.4.

Tabla 4.4. Condiciones operatorias para la determinación de mercurio en muestras líquidas en el equipo DMA-80

Temp. Secado	Tiempo Secado	Temp. Descomp.	Tiempo Descomp.	Tiempo de purga	Tiempo Amalgam.	Tiempo de registro
300 °C	120s	850 °C	120s	60s	12s	30s

Debido a la posibilidad de que se produzcan pérdidas de Hg por volatilización en las navecillas, no resulta conveniente cargar un número excesivo de ellas para su análisis consecutivo. En lugar de ello, con el fin de obtener resultados más reproducibles, es preferible cargar un número pequeño de navecillas, analizar y después volver a cargar y analizar otro pequeño lote. El número de navecillas dependerá de la estabilidad del Hg en las muestras, la cual puede ser muy variable, en función del tipo de muestra. De esta forma, el número de navecillas fijado para su análisis consecutivo en los estudios de la presente tesis fue de 4, suficiente para lograr resultados con una reproducibilidad aceptable.

4.2. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN SECUENCIAL

4.2.1. Generalidades

De la revisión de los factores que afectan a la distribución y a la asociación del mercurio en los suelos y sedimentos, es evidente que el mercurio, al igual que el resto de metales pesados presentes en suelos y sedimentos, no se encuentra asociado a una única fase del suelo o el sedimento (materia orgánica, óxidos de Fe y Mn, etc), sino que, por el contrario, puede estarlo a varias de ellas y la distribución entre unas u otras dependerá de los factores antes mencionados (pH, potencial redox, contenido de materia orgánica,...) y determinará su potencial toxicidad y movilidad dentro del medioambiente.

Con el fin de poder evaluar los riesgos medioambientales y la posible contaminación, es necesario el uso de metodologías analíticas y estrategias que proporcionen información acerca de la movilidad de los metales traza en suelos y sedimentos. En este sentido, el uso de métodos basados en extracciones químicas selectivas constituyen la aproximación más habitual, para entender y establecer las interacciones de los metales pesados con los componentes de los suelos y sedimentos, o para evaluar su movilidad y disponibilidad para las plantas [11].

Durante las últimas décadas, se han desarrollado y modificado varios métodos de extracción con diferentes propósitos en el campo de la geoquímica, química marina y ciencias agrícolas [12]. Dentro de los esquemas de extracción podemos distinguir dos

grupos principales: extracciones simples, empleadas principalmente en el estudio de suelos, y extracciones secuenciales, desarrolladas inicialmente para el estudio del fraccionamiento de metales pesados en sedimentos, pero que cada vez se emplean con más frecuencia en el estudio de suelos.

4.2.1.1. Extracciones simples

Por lo general, estos procedimientos están diseñados para disolver una fase cuyo contenido en un elemento se relaciona con la disponibilidad de dicho elemento para las plantas. De esta manera, estos esquemas se emplean con frecuencia para la determinación de mayores constituyentes y nutrientes en estudios de fertilización y calidad de las cosechas, para la predicción de toma de elementos esenciales, para la evaluación de exceso o deficiencia de un elemento en el suelo, para el estudio del comportamiento fisicoquímico de elementos en suelos y con propósitos de inspección [13-15].

Los disolventes empleados en los procedimientos de extracción simple pueden ser agentes extractantes suaves (CaCl_2 , NaNO_3) [16, 17], ácidos (CH_3COOH , HNO_3 , HCl) [16, 18] o agentes formadores de complejos (EDTA, DTPA) [16, 19].

4.2.1.2. Extracciones secuenciales

Los métodos de extracción secuencial se aplicaron empleando agentes extractantes con capacidad de extracción creciente. Algunos de estos esquemas han sido desarrollados para determinar las especies que se encuentran dentro de las distintas fases sólidas del suelo. Aunque inicialmente se pensó que era posible la diferenciación de formas químicas de los metales traza presentes [20, 21], en lugar de ello, estos métodos conducen a la obtención de fracciones operacionalmente definidas [22, 23], las cuales pueden relacionarse con las fracciones potencialmente móviles, biodisponibles o tóxicas asociadas a una muestra y más raramente con especies químicas concretas.

El uso de extracciones secuenciales, aunque generalmente consume bastante tiempo, puede proporcionar información detallada acerca del origen, modo de aparición, disponibilidad biológica y fisicoquímica, movilización y transporte de metales traza. Las experiencias en las cuales se han empleado extracciones secuenciales han

demostrado que se trata de un medio adecuado para la determinación de metales asociados con las principales fases presentes en suelos y sedimentos. El fraccionamiento de los metales traza se realiza mediante una secuencia de extracciones químicas selectivas, gracias a las cuales tiene lugar la extracción sucesiva de las distintas fases y sus metales asociados [24].

Son numerosos los métodos de extracción secuencial que han sido descritos en la bibliografía [25]. Uno de los primeros y también uno de los más utilizados fue el de *Tessier et al.* [20] que consiste en una extracción en cinco etapas, en las cuales los metales se distribuyen entre diferentes fracciones, cada una de ellas relacionada con fases presentes en la muestra. Desde entonces han sido numerosos los procedimientos de extracción simple o secuencial que se han aplicado al estudio de la movilidad y biodisponibilidad de metales en suelos y sedimentos, la mayoría de ellos basados en el procedimiento original de Tessier.

Pese a la innegable utilidad de estos métodos, uno de sus mayores inconvenientes es que no existe un acuerdo general sobre las disoluciones a emplear como agentes extractantes en un proceso de extracción secuencial de una muestra de suelo o sedimento. Esto es debido fundamentalmente a los efectos de matriz que tienen lugar en estos procesos químicos heterogéneos y que dan lugar a que no exista una homogeneidad respecto a los resultados que puedan obtenerse al aplicar métodos distintos a una misma muestra. En el estudio de la reactividad de las especies o de las formas químicas asociadas de los metales pesados en estas muestras se han empleado numerosos medios de extracción con distintos fines, como soluciones de electrolitos (CaCl_2 o MgCl_2), soluciones tampón de ácidos débiles (ácido acético o ácido oxálico), agentes quelatantes (EDTA o DTPA), agentes reductores (NH_2OH), ácidos fuertes (HCl , HNO_3 , HClO_4 , HF) o soluciones de reactivos básicos (NaOH , Na_2CO_3) [26-29]. Idealmente, la selección de estos agentes extractantes se realiza en función de su selectividad por determinada fase o fases asociadas del metal extraído, sin embargo, en la práctica, en la mayoría de los casos esta selectividad no suele ser completa y está influenciada por diferentes factores que deben ser evaluados de una manera crítica a la hora de elegir los agentes extractantes en una investigación específica. Algunos de los factores más importantes que influyen en la selección de un agente extractante se citan a continuación:

- Las propiedades químicas del agente extractante elegido.
- Los parámetros experimentales, tales como concentración, pH, proporción entre el volumen de agente extractante y el peso de muestra sólida, tiempo de extracción, tipo de agitación, etc...
- La secuencia de las extracciones individuales.
- Efectos de matriz específicos tales como la contaminación cruzada y readsorción de especies extraídas.
- La heterogeneidad, así como las posibles asociaciones físicas de las diferentes fracciones sólidas.
- La presencia en la muestra de otros compuestos que puedan promover o, en su caso, inhibir la solubilización de las especies metálicas en un determinado agente extractante.

Así, a la hora de diseñar un procedimiento de extracción secuencial adecuado para un propósito específico deberemos considerar los siguientes puntos:

- Agentes extractantes: La selección de los mismos deberá tener en cuenta las posibles interferencias físicas y químicas que puedan producirse, tanto en los procesos de extracción, como en las posteriores etapas de análisis de las fracciones obtenidas.
- Etapas de extracción: En este punto deberemos tener en cuenta aspectos tales como la selectividad y los posibles procesos de readsorción y redistribución que puedan tener lugar. Los agentes extractantes individuales pueden ser elegidos en función de su capacidad de intercambio iónico o de sus propiedades oxidantes o reductoras.
- Concentración de los reactivos empleados en las etapas de extracción: La eficacia de un agente extractante para disolver o desorber metales traza en muestras de suelos o sedimentos se incrementa, en general, al aumentar la concentración o la fuerza iónica de los agentes extractantes.
- pH de las disoluciones extractantes: Influirá de modo fundamental en la capacidad de extracción del agente. También debemos tener en cuenta la conveniencia o no de emplear disoluciones tampón.
- Proporción disolución/sólido: La cantidad relativa de agente extractante añadido a la muestra de suelo o sedimento tiene varias implicaciones respecto a la extracción de los metales. De acuerdo con las conclusiones del estudio de *Wenzel et al.* [30]

pueden ocurrir cuatro posibles interacciones entre la disolución extractante y la muestra sólida extraída: (i) la mera disolución de las especies metálicas en función de su producto de solubilidad, (ii) un simple intercambio iónico entre la muestra y soluciones salinas de concentración 0,1-1 mol L⁻¹ o (iii) intercambio iónico entre la muestra y agua o soluciones salinas altamente diluidas (concentración \ll 0,1 mol L⁻¹), y (iv) combinaciones de (i) y (ii) o (iii). Si la proporción disolución/sólido es suficientemente alta, la capacidad del agente extractante para disolver el metal presente en una fracción excederá la cantidad de éste presente y podrá ser extraído cuantitativamente. Idealmente un agente extractante no debería ser capaz de extraer una cantidad mayor de metal que la que corresponde a la fase extraída, aún a pesar de aumentar la proporción disolución/sólido, sin embargo, en la práctica debido a la falta de selectividad de los extractantes, con frecuencia éstos disuelven parcialmente los metales asociados a otras fases dando lugar a resultados engañosos. Por todo ello, a la hora de abordar el desarrollo de un método de extracción secuencial es fundamental realizar un estudio exhaustivo de optimización de la proporción relativa entre el volumen de disolución de agente extractante y el peso de muestra sólida empleados.

- Tiempo de extracción: En general un aumento del tiempo de extracción conlleva un aumento de la cantidad de metal extraído. El efecto del tiempo de extracción depende de la cinética de las reacciones que tienen lugar entre la muestra sólida y el agente extractante. Podemos decir que las extracciones químicas se basan fundamentalmente en reacciones de desorción o disolución. En los procesos de desorción de los metales en sistemas sólidos heterogéneos, Sparks [31] identificó cuatro etapas: (i) difusión de los cationes en la disolución, (ii) difusión en la superficie, (iii) difusión de las partículas, y (iv) reacción de desorción. De acuerdo con esto, la velocidad de la mayoría de las reacciones de intercambio iónico está controlada por la etapa de difusión en la superficie y/o por la etapa de difusión de las partículas. La mezcla y agitación vigorosas influye de un modo significativo en estos procesos. La difusión en la superficie normalmente predomina en el caso de partículas pequeñas, mientras que para partículas mayores la etapa limitante será la difusión de partículas. En las disoluciones diluidas, en general, se favorecen los procesos controlados por la difusión en la superficie. El tiempo necesario para alcanzar el equilibrio en procesos de intercambio iónico en suelos puede variar entre

unos pocos segundos y días, y también está afectado por las características de los suelos.

En los procesos de disolución, esencialmente existen tres pasos que controlan la velocidad [32]: (i) transporte del soluto fuera desde el cristal disuelto, (ii) reacción superficial donde los iones son separados de la superficie de los cristales, y (iii) combinación de ambos pasos. La agitación mecánica incrementa la velocidad de las reacciones controladas por los procesos de transporte (i), mientras que no afectan a aquellas controladas por los producidos en superficie (ii).

La influencia de todos estos factores hace que los métodos de extracción secuencial adolezcan de una “falta de armonización intrínseca”. En un esfuerzo por proporcionar un método estándar que permita la comparación e integración de resultados la “European Community Bureau of Reference (BCR)” ha desarrollado un protocolo de extracción secuencial en tres etapas para el estudio del fraccionamiento de los metales en suelos y sedimentos [18]. Las principales características de este método se muestran en la tabla 4.5.

Tabla 4.5. Método de extracción secuencial desarrollado por el BCR

Etapa de extracción	Extractante/ Concentración/ pH	Fase sólida
1	Ácido acético: CH ₃ COOH (0,11 mol L ⁻¹), pH 2,85	Fracción intercambiable, solubles en agua y ácidos (ej. Carbonatos)
2	Cloruro de hidroxilamonio: NH ₂ OH·HCl (0,1 mol L ⁻¹), pH 2	Fracción reducible (ej. Óxidos de hierro y manganeso)
3	Peróxido de hidrógeno: H ₂ O ₂ (8,8 mol L ⁻¹) seguido de acetato amónico: CH ₃ COONH ₄ (1,0 mol L ⁻¹) pH 2	Fracción oxidable (ej. Sustancias orgánicas y sulfuros)
Residual	Agua Regia: 3HCl + HNO ₃	Fracción residual, metales asociados a silicatos

4.3. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN SECUENCIAL APLICADOS AL ESTUDIO DEL Hg EN SUELOS Y SEDIMENTOS

4.3.1. Antecedentes

Debido a las características físicas y químicas únicas de muchas especies de mercurio, los métodos comúnmente usados para el estudio del fraccionamiento de otros metales pesados (Pb, Cu, Cd, Ni, Zn) en suelos y sedimentos [20, 33] no son apropiados para el estudio del mercurio, y por ello, rara vez se han aplicado con este fin. Por el contrario, en la bibliografía encontramos métodos de extracción desarrollados específicamente para el estudio del fraccionamiento y la movilidad del mercurio en muestras sólidas medioambientales. Los más importantes considerados en esta memoria de tesis son:

4.3.1.1. Método Revis

Este fue uno de los primeros métodos desarrollados para el estudio de la distribución del mercurio en suelos y sedimentos de zonas contaminadas [34]. Esencialmente el método tiene lugar en dos etapas de extracción, la primera de las cuales se basa en una extracción con HNO_3 12 N, capaz de extraer todas las especies de mercurio presentes en la muestra excepto el sulfuro mercúrico, y la segunda etapa que consiste en una extracción con una disolución saturada de Na_2S para disolver el sulfuro de mercurio presente en la muestra. Entre las ventajas de este método destaca sin duda su sencillez, ya que permite evaluar fácilmente el contenido de mercurio potencialmente disponible para su movilización. Sin embargo, no considera ciertos aspectos importantes, por ejemplo, los efectos de matriz y la posible presencia de especies en el suelo que puedan promover la solubilidad del sulfuro mercúrico en el medio nítrico empleado en la primera etapa, lo cual puede dar lugar a resultados engañosos acerca de la distribución del mercurio en las muestras. Estos autores aplicaron su método al estudio de 30 suelos y sedimentos procedentes de una zona contaminada por la emisiones de una planta de clorálcali [35], concluyendo que la mayoría del mercurio presente en las muestras (63-100%) se encontraba como HgS y que por tanto el Hg en estos suelos y sedimentos era escasamente bioaccesible.

4.3.1.2. Método Giulio y Ryan

Este método [36] se aproxima bastante a los métodos de extracción secuencial clásicos que se suelen aplicar al estudio del resto de metales pesados. Identifica 5 fracciones operacionalmente definidas, y en cada una de ellas, le asigna una fase asociada del mismo modo que ocurre en el método de Tessier y sus respectivas modificaciones. Las 5 fracciones operacionalmente definidas son: fracción soluble en agua, fracción intercambiable, fracción unida a ácidos húmicos y fúlvicos, fracción orgánica y de sulfuros y fracción residual. Al contrario que la mayoría de los métodos desarrollados para el estudio del fraccionamiento de mercurio en suelos y sedimentos, no considera ninguna especie de mercurio individual a extraer en ninguna de las etapas. Sin embargo, si bien a priori esto puede parecer una virtud, su semejanza con los métodos de extracción clásicos hace que este esquema adolezca de una falta de especificidad respecto a las características propias de las especies de mercurio en el medio ambiente. De este modo, en este método no queda claro en cual de las fracciones puede aparecer el mercurio elemental, que puede encontrarse como tal o bien amalgamado con otros metales pesados. Si bien el contenido de metal nativo puede ser despreciable para la mayoría de metales pesados, en el caso del mercurio esta fracción puede llegar a ser cuantitativamente muy significativa, especialmente en suelos procedentes de zonas mineras de mercurio u oro [37]. Además es vital dentro del ciclo del mercurio en suelos y sedimentos, ya que participa en procesos de metilación y otros procesos biogeoquímicos. Dentro de los méritos de este método, se encuentra el permitir realizar un subfraccionamiento sencillo de la tercera fracción para diferenciar entre el contenido de mercurio unido a ácidos húmicos y ácidos fúlvicos. Este método fue aplicado por los autores para el estudio del fraccionamiento de mercurio en suelos y sedimentos procedentes de una zona de turba, encontrando que la mayoría del mercurio se extraía en las fracciones húmica y fúlvica así como en la fracción orgánica y de sulfuros.

4.3.1.3. Método Sakamoto

Este método de extracción secuencial divide el contenido de mercurio en sedimentos en tres fracciones principales: mercurio orgánico, HgO y HgS [38]. Una particularidad de este método, que se repite en la mayoría de los esquemas de extracción secuencial desarrollados específicamente para el estudio del mercurio, es que trata de asignar

especies individuales a cada de las fracciones obtenidas de la aplicación de las sucesivas extracciones. De esta forma, en la primera etapa se extraen las especies orgánicas de mercurio más frecuentes en sedimentos (metilmercurio, etilmercurio y fenilmercurio), empleando como agente extractante un volumen de cloroformo. En la segunda etapa, el HgO se separa selectivamente del HgS empleando una disolución diluida de H₂SO₄. Finalmente, el HgS se extrae mediante una disolución HCl conteniendo NaCl y CuCl, que promueven la solubilización del HgS en medio ácido. Dejando al margen la etapa de extracción de Hg orgánico, la cual presenta el inconveniente de emplear un agente tan volátil como el cloroformo para la extracción, las dos etapas restantes constituyen un método de extracción de mercurio basado en la diferencia de solubilidad de sus especies en disoluciones ácidas, del mismo modo que ocurre en el método Revis. No tiene en cuenta la posible asociación de Hg con fases, como la materia orgánica, que son fundamentales en la movilidad del mismo y la presencia de especies que pueden ser coextraídas en la etapa sulfúrica como por ejemplo el HgCl₂. Los autores aplicaron el método a sedimentos marinos contaminados, tomados en distintas localizaciones en Japón, encontrando contenidos apreciables de mercurio orgánico en casi todos ellos, a la vez que la mayor parte del mercurio se distribuye en la etapa de extracción de HgS en todos los casos estudiados.

4.3.1.4. Método Bloom

El método Bloom [39] propone el fraccionamiento del mercurio presente en muestras sólidas medioambientales en cinco etapas, que incluyen fracción soluble en agua, fracción soluble en ácidos estomacales humanos, complejos orgánicos, mercurio elemental y sulfuro mercúrico. La diferencia más importante con los métodos anteriores, así como con el método EPA 3200 que veremos más adelante, estriba en que no establece una mera escala de solubilidades de las especies de Hg en disoluciones ácidas, sino que trata de dividir el contenido de mercurio en clases según sus fases asociadas y su diferente disponibilidad en el medioambiente. La viabilidad del método propuesto, así como de los diferentes agentes extractantes utilizados se comprueba mediante la aplicación de los mismos a muestras artificiales, preparadas mediante la adición de especies puras a una matriz inerte (caolín), encontrando que las especies más solubles aparecen en las primeras fracciones, los complejos orgánicos lo hacen en la etapa de lixiviación con KOH, mientras que las especies menos solubles se extraen en

las dos últimas etapas. De esta manera establece, de modo similar a los métodos tratados anteriormente, una serie de especies típicas de mercurio que son extraídas en cada una de las etapas sucesivas. Adicionalmente, estudia la capacidad de metilación de distintas especies de mercurio mediante su incubación en sedimentos, encontrando que, incluso en el caso de especies altamente insolubles como el HgS, con el paso del tiempo, el mercurio tiende a acumularse en la fracción correspondiente a los complejos orgánicos y que ésta es, precisamente, la fracción que mejor se correlaciona con el contenido de metilmercurio, el cual a su vez también aumenta con el tiempo de incubación del sedimento. El método se aplicó a muestras de suelos y sedimentos contaminados de diferente origen, encontrándose que el fraccionamiento de mercurio resultaba ser coherente con la presunta fuente de contaminación.

4.3.1.5. Método EPA 3200

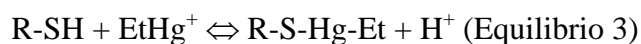
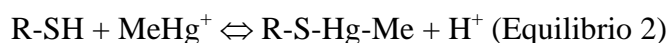
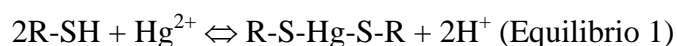
Este es un método muy reciente (2005) que divide el contenido de mercurio en muestras de suelos y sedimentos en tres fracciones operacionalmente definidas, de acuerdo con la solubilidad de las especies de mercurio en disoluciones ácidas [40, 41]. Trata de relacionar estas fracciones definidas operacionalmente, con especies de mercurio individuales solubles en las disoluciones extractantes y que presumiblemente puedan encontrarse en las muestras. La relación establecida en el método viene dada en la tabla 4.6.

Tabla 4.6. Fracciones definidas operacionalmente en el método EPA 3200. ^aCiertos complejos pueden existir en ambas fracciones

Fracciones operacionalmente definidas	Especies individuales de mercurio
Mercurio Móvil	MeHgCl EtHgCl HgCl ₂ Hg(OH) ₂ Hg(NO ₃) ₂ HgSO ₄ HgO Complejos de Hg ^{2+a}
Mercurio Semimóvil	Complejos de Hg ^{2+a} Hg(0) y amalgamas Hg ₂ Cl ₂ (minoritario)
Mercurio No Móvil	Hg ₂ Cl ₂ (mayoritario) HgS HgSe

Este método incluye como novedad, una etapa de subfraccionamiento de la fracción de mercurio móvil mediante la aplicación de un proceso de extracción en fase sólida.

La etapa de **extracción en fase sólida** consiste en hacer pasar a través de una columna de extracción, rellena con fibra de algodón de sulfidrilo, la disolución de mercurio móvil previamente acondicionada, donde las especies de mercurio presentes en la misma son retenidas en el algodón. Los grupos sulfidrilo (-SH) del relleno de la columna son suministrados por el ácido mercaptoacético empleado en la funcionalización de la fibra de algodón. Estos grupos tienen una gran afinidad por las especies de mercurio, especialmente cuando éstas pierden protones [42] y serán los responsables de la retención de éstas en el medio sólido. El mecanismo propuesto para explicar la retención de las especies de mercurio inorgánicas y orgánicas es el siguiente:



Como puede observarse en el equilibrio 1, el mercurio inorgánico es capaz de formar un complejo con dos átomos de S donadores y por tanto el complejo resultante es más fuerte que en el caso de las especies orgánicas (equilibrios 2 y 3), que sólo se enlazan con un átomo de S donador.

Teniendo en cuenta los equilibrios anteriores, la retención y desorción de las especies de mercurio pueden ser controladas alterando el pH del medio. Así, cuando la fibra de algodón de sulfidrilo es expuesta a un intervalo de pH entre 1 y 8, el grupo sulfidrilo pierde un protón (R-S^-) y se activa pudiendo capturar las especies de mercurio que pasen a través del medio. El equilibrio se desplaza entonces a la derecha facilitándose la formación de las especies complejadas. Cuando la fibra de algodón de sulfidrilo es expuesta a un ambiente fuertemente ácido, los equilibrios arriba indicados, se desplazarán hacia la izquierda y las especies de mercurio podrán ser eluidas del medio sólido. Debido a que las especies orgánicas de mercurio (MeHg y EtHg) están complejadas con un único grupo sulfidrilo, podrán ser eluidas en un medio moderadamente ácido, como puede ser $[\text{H}^+] = 1\text{-}2 \text{ M}$. Este medio es insuficiente para

producir la elución de las especies inorgánicas de mercurio. Si aumenta la acidez hasta una concentración $[H^+] = 6M$, las especies inorgánicas podrán ser eluidas de la fibra de algodón de sulfidrilo. Además, la elección del HCl como medio ácido proporciona además grupos Cl^- que ayudan a la elución de las especies de mercurio debido a su acción complejante.

Por tanto, mediante la retención y elución secuencial en la fibra de algodón de sulfidrilo, podemos separar y cuantificar las especies orgánicas e inorgánicas de mercurio (Figura 4.1).

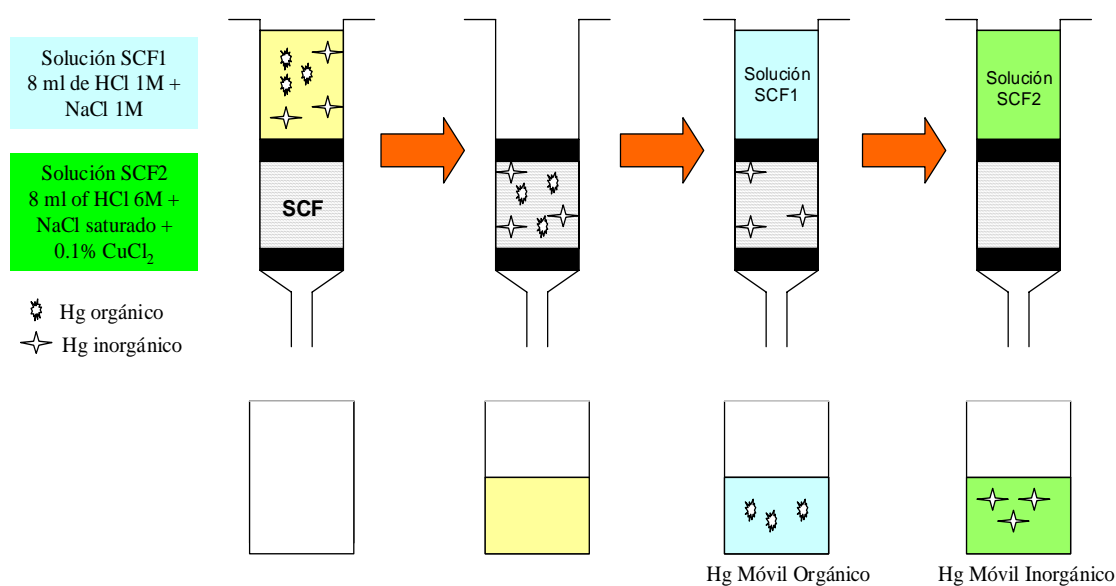


Figura 4.1. Separación de especies móviles de mercurio mediante un procedimiento de extracción en fase sólida.

4.3.2. Procedimiento experimental de los métodos de extracción aplicados a lo largo de la presente tesis

4.3.2.1. Método de Revis

Etapa 1: Lixiviación nítrica

En esta etapa se emplea HNO_3 12M como agente extractante y se espera, según *Revis* [34], que se extraigan todas las especies de Hg excepto el HgS.

1. Pesar aproximadamente 1 g de muestra sólida en un vaso de precipitados de 25 ml.

2. Añadir 4 mL de HNO₃ 12M.
3. Añadir un agitador magnético y mantener en agitación durante una noche (14 horas) a temperatura ambiente.
4. Traspasar el contenido de los vasos de precipitados a tubos de centrifuga de 50 mL, arrastrando el sólido con pequeñas porciones de disolución HNO₃ 12M y con ayuda de un frasco lavador.
5. Centrifugar las muestras a 4000 rpm durante 10 minutos.
6. Extracción de los sobrenadantes con pipetas Pasteur y transferencia de los mismos a un contenedor apropiado.
7. Lavado de las muestras con 4 mL de HNO₃ 12M: Adición del volumen de disolución al tubo de centrifuga, agitación vigorosa durante 1 minuto.
8. Centrifugación a 4000 rpm durante 10 minutos.
9. Extracción del sobrenadante y combinación del mismo con el anterior en el mismo contenedor.
10. Filtración de la disolución resultante a través de filtros de celulosa de 0,45 µm.
11. Dilución con agua ultrapura, aforado a 50 mL y almacenamiento de las muestras a 4 °C s la espera de su análisis.

Etapa 2: Lixiviación con Na₂S saturado

En esta etapa se emplea una disolución saturada de Na₂S para extraer el Hg asociado a sulfuro.

1. Transferencia del residuo que queda en la etapa 1 en los tubos de centrifuga a vasos de precipitados de 25 mL, adición de un agitador magnético.
2. Adición de 4 mL de disolución Na₂S saturada.
3. Agitación durante una noche (aprox. 14 h) con ayuda de un agitador magnético.
4. Traspaso del contenido de los vasos de precipitados a tubos de centrifuga de 50 mL.
5. Centrifugado de las muestras a 4000 rpm durante 10 minutos.
6. Extracción de los sobrenadantes con pipetas Pasteur y transferencia de los mismos a un contenedor apropiado.
7. Lavado de las muestras con 4 mL de Na₂S saturado: Adición del volumen de disolución al tubo de centrifuga, agitación vigorosa durante 1 minuto.
8. Centrifugación a 4000 rpm durante 10 minutos.

9. Extracción del sobrenadante y su combinación con el anterior en el mismo contenedor.
10. Filtración de la disolución resultante a través de filtros de celulosa de 0,45 μm .
11. Dilución con agua ultrapura, aforado a 50 mL y almacenamiento de las muestras a 4 °C a la espera de su análisis.

4.3.2.2. Método propuesto de determinación de Hg unido a sulfuro

Etapa 1: Lixiviación nítrica

En esta etapa se emplea HNO_3 al 50% v/v, esperando extraer selectivamente todas las especies de Hg presentes con excepción del HgS .

1. Pesar aproximadamente 0,25 g de muestra sólida en un tubo de centrifuga.
2. Añadir 10 mL de HNO_3 al 50% v/v.
3. Mezclar en vórtex durante 1 minuto.
4. Agitar de forma rotatoria a 35 rpm durante 21 horas a temperatura ambiente.
5. Centrifugar las muestras a 4000 rpm durante 10 minutos.
6. Extraer los sobrenadantes con ayuda de pipetas Pasteur y transferirlos a un contenedor apropiado.
7. Añadir 5 mL de HNO_3 al 50% v/v.
8. Mezclar en vórtex 1 minuto.
9. Introducir las muestras en baño de ultrasonidos durante 15 minutos a temperatura ambiente.
10. Centrifugar las muestras a 4000 rpm durante 10 minutos.
11. Extraer el sobrenadante y combinarlo con el anterior en el mismo contenedor.
12. Filtrar la disolución resultante a través de filtros de papel de celulosa de 0,45 μm y almacenar en el frigorífico a 4 °C a la espera de su análisis.

Etapa 2: Extracción con agua regia.

En esta etapa se emplea agua regia como agente extractante para extraer el Hg asociado a sulfuro que quedó sin disolver en la etapa anterior.

1. Añadir 3 mL de agua regia al residuo que queda de la etapa 1 en el tubo de centrifuga.
2. Agitar en vórtex hasta poner todo el residuo en suspensión y transferir el contenido del tubo a un reactor de PTFE.
3. Repetir los pasos 1 y 2 dos veces más, utilizando porciones de 3 y 2 ml de agua regia respectivamente.
4. Cerrar los reactores e introducirlos en el horno microondas donde se someten a la digestión en las condiciones dadas en la tabla 4.1.
5. Enfríar los reactores a temperatura ambiente.
6. Filtrar de las disoluciones a través de filtros de papel de celulosa de 0,45 μm .
7. Diluir con agua ultrapura, aforar a 50 ml y almacenar de las muestras a 4 °C a la espera de su análisis.

4.3.2.3. MÉTODO EPA 3200

Extracción de Mercurio Móvil

En esta etapa se emplea como agente extractante una disolución de HCl al 2% v/v en etanol al 10% v/v, y según los autores [40, 41], ésta será capaz de extraer las especies alquilméricas e inorgánicas solubles (ver tabla 3). Los pasos en esta etapa son los siguientes:

1. Pesar aproximadamente 1 g de muestra (suelo) en un tubo de centrifuga.
2. Añadir 2,5 mL de disolución de HCl al 2% y EtOH al 10%.
3. Mezclar en Vórtex durante 1-2 minutos.
4. Centrifugar las muestras a 3200 rpm durante 1 minuto.
5. Comprobar el pH: El sobrenadante debe tener un pH comprendido entre 1,5 y 3. Si el $\text{pH} > 3$ se añade HCl concentrado con ayuda de un cuentagotas y se repiten las etapas 3-5, hasta que se encuentre entre 1,5 y 3.
6. Mezclar en Vórtex las muestras durante 1 minuto.
7. Introducir las muestras en baño de ultrasonidos a 60 ± 2 °C durante 7 minutos.
8. Centrifugar las muestras a 3200 rpm durante 5 minutos.
9. Transferir el sobrenadante a un contenedor de PTFE u otro apropiado.
10. Repetir la extracción 3 veces más (pasos 2, 6, 7 y 8) y transferir los sobrenadantes al mismo contenedor.

11. Añadir al residuo 2,5 mL de agua bidestilada y repetir los pasos 6, 7 y 8. Combinar el lavado con los sobrenadantes anteriores en el mismo contenedor.

Eliminación de Cloruros Solubles

La presencia de iones cloruro en la muestra puede promover la solubilidad de las especies no móviles de mercurio (ej. HgS) a través de la formación de complejos cloromercuratos $[\text{HgCl}_4]^{2-}$ que son muy estables y solubles en disolución nítrica. Para evitar la solubilización de estas especies el método incluye una prueba de cloruros con objeto de eliminar la presencia de estos iones en la disolución. Los pasos a seguir son:

1. Añadir 5 mL de agua bidestilada al residuo que queda en el tubo de centrífuga tras la extracción del Mercurio Móvil.
2. Mezclar en vórtex durante 1 minuto.
3. Introducir las muestras en baño de ultrasonidos a 60 ± 2 °C durante 1 minuto.
4. Centrifugar a 3200 rpm durante 5 minutos y transferir el sobrenadante a un vial o vaso de precipitados pequeño (de 10 o 25 mL).
5. Añadir gota a gota una disolución de AgNO_3 0,1M. La formación de un precipitado blanco o turbidez blanca indica la presencia de cloruros en la disolución.
6. Repetir el proceso (pasos 1-5) hasta que la disolución decantada esté libre de cloruros, lo cual se pondrá de manifiesto por la ausencia de turbidez en la disolución al añadir AgNO_3 0,1 M.

Sin embargo, en el desarrollo de los ensayos experimentales, se comprobó que la repetida aplicación de este procedimiento implica el incremento del pH de la disolución sobrenadante, debido a la adición de agua sobre el suelo previamente acidificado en la anterior etapa de extracción de Mercurio Móvil. Como consecuencia de este aumento de pH, se observó la formación de precipitados de textura muy fina que presumiblemente corresponden a hidróxidos metálicos. Aunque en los ensayos se aumentó la velocidad y tiempo de centrifugación, la presencia de grandes cantidades de estos hidróxidos hizo muy difícil en algunos casos, el alcanzar una buena separación de los sobrenadantes. Además, a partir de la tercera aplicación de este procedimiento, no se podían obtener soluciones claras en los sobrenadantes (aparecían invariablemente precipitados en suspensión). Por ello, desde un punto de vista práctico y con objeto de no perder

mercurio con la pérdida de muestra sólida en suspensión en esta prueba, se redujo la aplicación de este procedimiento a un número máximo de tres veces. Se optimizaron las condiciones de centrifugación para cada una de las tres pruebas, de manera que en la primera, tal y como se propone en el método EPA 3200, se efectúe a 3200 rpm durante 7 minutos, mientras que para la segunda y tercera, si las hubiera, se emplearían condiciones más enérgicas: 4000 rpm durante 10 minutos y 5000 rpm durante 10 minutos, respectivamente.

Extracción de Mercurio Semimóvil

En esta etapa se emplea como extractante una disolución de HNO₃ al 33% v/v. Los pasos que tienen lugar son los siguientes:

1. Añadir 5 mL de disolución HNO₃:H₂O 1:2 v/v al residuo en el tubo de centrífuga.
2. Mezclar en Vórtex durante 1 minuto.
3. Calentar las muestras a 95 ± 2 °C durante 20 minutos (como puede formarse gas durante el calentamiento abrir las tapas de los tubos de centrífuga de vez en cuando).
4. Centrifugar las muestras a 3200 rpm durante 5 minutos.
5. Transferir el sobrenadante a un contenedor apropiado.
6. Volver a repetir los pasos 1-5.
7. Combinar ambos sobrenadantes en el mismo contenedor.
8. Añadir al residuo 5 ml de agua bidestilada.
9. Mezclar en Vórtex durante 1 minuto.
10. Centrifugar a 3200 rpm durante 5 minutos.
11. Combinar el lavado con los sobrenadantes anteriores en el mismo contenedor.
12. Filtrar la disolución resultante a través de filtros de papel de celulosa de 0,45 µm.

Extracción de Mercurio No Móvil

En esta etapa se extraen las especies menos móviles de mercurio presentes en la muestra. Por ello para su extracción se emplea un agente extractante más agresivo: una disolución HCl:HNO₃:H₂O 1:6:7 (v/v/v). El esquema de actuación es el siguiente:

1. Añadir al residuo procedente de la extracción de Hg semimóvil 5 mL de disolución HCl:HNO₃:H₂O 1:6:7 (v/v/v).
2. Cerrar cada tubo de centrifuga y mezclar en Vórtex durante 1 minuto.
3. Calentar a 95 ± 2 °C durante 20 minutos (como puede formarse gas durante el calentamiento abrir las tapas de los tubos de centrifuga de vez en cuando).
4. Centrifugar a 3200 rpm durante 5 minutos y transferir el sobrenadante a un contenedor apropiado.
5. Volver a añadir 5 mL de disolución HCl:HNO₃:H₂O 1:6:7 (v/v/v) y repetir los pasos 2, 3 y 4, transfiriendo el sobrenadante al mismo contenedor anterior.
6. Añadir al residuo 5 mL de agua bidestilada.
7. Mezclar en Vórtex durante 1 minuto.
8. Centrifugar a 3200 rpm durante 5 minutos.
9. Combinar el lavado con los sobrenadantes anteriores en el mismo contenedor.
10. Filtrar la disolución resultante a través de filtros de papel de celulosa de 0,45 µm.

Subfraccionamiento del Mercurio Móvil (Extracción en Fase Sólida)

Como ya se ha indicado antes, el método EPA 3200 incluye un subfraccionamiento de la fracción de Mercurio Móvil mediante la aplicación de un método de extracción en fase sólida, empleando como medio sólido de extracción fibra de algodón con grupos funcionales sulfhidrilo. El acondicionamiento de la disolución y la columna, así como la elución secuencial de las especies de mercurio retenidas en la misma tienen lugar según los siguientes pasos:

1. Ajustar el pH del extracto procedente de la extracción de Hg móvil a pH 5-7 con una disolución de NaOH 10 M.
2. Filtrar la disolución empleando una jeringa de 10 mL con filtro de jeringa de teflón (PTFE) de 10 µm de tamaño de poro.
3. Lavar las partículas retenidas en el filtro con 3 mL de una disolución de HCl al 0,1%.
4. Combinar el lavado y la disolución filtrada.
5. Ajustar el pH de la disolución resultante a un valor de pH de 3 ± 1 empleando una disolución HCl 6 M. Añadir la disolución gota a gota y comprobar el pH.

6. Pasar la disolución a través de la columna de Fibra de Algodón de Sulfidriolo (SCF) a velocidad de 1 mL min^{-1} .
7. Eluir los compuestos organomercúricos, haciendo pasar 8 mL de disolución SCF1, seguidos de 2 mL de agua bidestilada.
8. Eluir las especies inorgánicas de Hg, haciendo pasar 8 mL de disolución SCF2, seguidos de 2 mL de agua bidestilada.

4.3.2.4. Método propio de extracción secuencial de Hg

Etapa 1: Especies lábiles de Hg

En esta etapa se pretende extraer selectivamente el Hg asociado a las fracciones más solubles, incluyendo Hg soluble en agua, fracción intercambiable y especies inorgánicas solubles. Para ello se emplea como agente extractante una disolución HNO_3 0,2 N.

1. Pesar aproximadamente 0,5 g de muestra sólida en un tubo de centrifuga de 40 ml.
2. Añadir 20 mL de HNO_3 0,2N.
3. Mezclar en vórtex 1 minuto.
4. Agitación combinada: 2 horas en agitador rotatorio a 35 rpm, sumergido en baño de ultrasonidos a 50°C . Conexión de ultrasonidos en ciclos de 15 minutos cada media hora (tiempo total ultrasonidos: 1 hora).
5. Centrifugación a 4000 rpm durante 10 minutos.
6. Extraer los sobrenadantes con ayuda de pipetas Pasteur y transferirlos a un contenedor apropiado o vial.
7. Añadir al residuo 5 mL de agua ultrapura.
8. Meclar en vórtex 1 minuto.
9. Agitación en baño de ultrasonidos 15 minutos a temperatura ambiente.
10. Centrifugación a 4000 rpm durante 10 minutos.
11. Extracción de sobrenadantes con pipeta Pasteur y combinación con los anteriores en el mismo contenedor.
12. Filtración de las disoluciones a través de filtros de papel de celulosa de $0,45 \mu\text{m}$.
13. Dilución y aforado a 50 mL con HNO_3 0,5 N.
14. Almacenamiento de los extractos en el frigorífico a 4°C a la espera de su análisis.

Etapa 2: Hg unido a ácidos húmicos y fúlvicos

En esta etapa el objetivo es extraer la fracción de Hg asociada a materia húmica y fúlvica empleando como agente extractante una disolución $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1 M.

Adición de 10 ml de disolución al residuo procedente de la primera etapa.

1. Adición de 10 mL de disolución $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1M al residuo procedente de la primera etapa.
2. Mezclar en vórtex 1 minuto.
3. Agitación rotatoria a 35 rpm durante 16 horas.
4. Centrifugación a 4800 rpm durante 15 minutos.
5. Extracción de sobrenadantes con pipeta Pasteur y transferencia de los mismos a un contenedor apropiado o vial.
6. Filtración de las disoluciones a través de filtros de papel de celulosa de 0,45 μm .
7. Dilución con agua ultrapura.
8. Ajuste de pH: adición gota a gota de HCl concentrado hasta que el pH de la disolución se encuentre en el intervalo 2-4. Comprobar con papel indicador adecuado.
9. Aforado de las disoluciones a 50 mL con agua ultrapura.
10. Almacenamiento de los extractos en el frigorífico a 4 °C a la espera de su análisis.

Etapa 3: Hg asociado a oxihidróxidos amorfos de Fe y Mn

En esta etapa se trata de extraer el Hg presente asociado a óxidos e hidróxidos amorfos de Fe y Mn, empleando como agente extractante una disolución $\text{NH}_4\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 0,25 M.

1. Añadir 20 mL de disolución $\text{NH}_4\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 0,25M en CH_3COOH 25% v/v al residuo procedente de la segunda etapa.
2. Mezclar en vórtex 1 minuto.
3. Calentar en baño termostatzado durante 1 hora a 50 ± 2 °C.
4. Centrifugación a 4000 rpm durante 10 minutos.
5. Extraer los sobrenadantes con ayuda de pipetas Pasteur y transferirlos a un contenedor apropiado o vial.

6. Añadir al residuo 5 mL de agua ultrapura.
7. Mezclar en vórtex 1 minuto.
8. Agitación en baño de ultrasonidos 15 minutos a temperatura ambiente.
9. Centrifugación a 4000 rpm durante 10 minutos.
10. Extracción de sobrenadantes con pipeta Pasteur y combinación con los anteriores en el mismo contenedor.
11. Filtración de las disoluciones a través de filtros de papel de celulosa de 0,45 µm.
12. Dilución y aforado a 50 mL con agua ultrapura.
13. Almacenamiento de los extractos en el frigorífico a 4 °C a la espera de su análisis.

Etapa 4: Hg elemental

En esta etapa se pretende extraer el contenido de Hg elemental presente en la muestra, así como aquellas especies y fracciones solubles en el medio de extracción. Como disolución extractante se emplea HNO₃ 50% v/v.

1. Adición de 20 mL de disolución HNO₃ 50% v/v al residuo procedente de la tercera etapa.
2. Mezclar en vórtex 1 minuto.
3. Agitación rotatoria a 35 rpm durante 21 horas.
4. Centrifugación a 4000 rpm durante 10 minutos.
5. Extraer los sobrenadantes con una pipeta Pasteur y transferirlos a un contenedor adecuado o vial.
6. Adición de 10 mL de disolución HNO₃ 50% v/v al residuo que queda en el tubo de centrifuga.
7. Agitación en baño de ultrasonidos durante 15 minutos a temperatura ambiente.
8. Centrifugación a 4000 rpm durante 10 minutos.
9. Extracción de los sobrenadantes con pipetas Pasteur y combinación con los anteriores en los mismos contenedores.
10. Filtración de las disoluciones a través de filtros de papel de celulosa de 0,45 µm.
11. Dilución y aforado a 50 mL con agua ultrapura.
12. Almacenamiento de los extractos en el frigorífico a 4 °C a la espera de su análisis.

Etapa 5: Hg unido a sulfuro

En la etapa final del método se trata de extraer la fracción de Hg asociado a sulfuro y otras especies solubles en el medio de extracción. Como agente extractante se emplea una disolución KI 0,03 M en medio HCl 50% v/v.

1. Adición de 10 mL de disolución KI 0,03M en HCl al 50% v/v al residuo procedente de la cuarta etapa.
2. Mezclar en vórtex 1 minuto.
3. Calentar en baño de ultrasonidos 45 minutos a 70 ± 2 °C durante 30 minutos con agitación de 15 minutos a partir del comienzo de la extracción.
4. Centrifugación a 4000 rpm durante 10 minutos.
5. Extraer los sobrenadantes con una pipeta Pasteur y transferirlos a un contenedor adecuado o vial.
6. Adición de 5 mL de agua ultrapura al residuo que queda en el tubo de centrifuga.
7. Agitación en baño de ultrasonidos durante 15 minutos a temperatura ambiente.
8. Centrifugación a 4000 rpm durante 10 minutos.
9. Agitación en baño de ultrasonidos durante 15 minutos a temperatura ambiente.
10. Centrifugación a 4000 rpm durante 10 minutos.
11. Extracción de los sobrenadantes con pipetas Pasteur y combinación con los anteriores en los mismos contenedores.
12. Filtración de las disoluciones a través de filtros de papel de celulosa de 0,45 μm .
13. Dilución y aforado a 50 mL con agua ultrapura.
14. Almacenamiento de los extractos en el frigorífico a 4 °C a la espera de su análisis.

4.4. MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE MERCURIO ORGÁNICO

4.4.1. Método propio para la determinación de la fracción orgánica de Hg en muestras sólidas

Liberación y extracción simultánea de las especies orgánicas de Hg

1. Pesada aproximadamente de 0,5 g de muestra en un tubo de centrifuga de 40 mL.
2. Adición de 5 ml de disolución CuBr₂ 0,3M en HCl al 5% v/v y de 10 mL de CH₂Cl₂.
3. Agitación combinada: 2 horas en agitador rotatorio a 35 rpm, sumergido en baño de ultrasonidos a temperatura ambiente. Conexión de ultrasonidos en ciclos de 15 minutos cada media hora (tiempo total ultrasonidos: 1 hora).
4. Centrifugación a 4000 rpm durante 10 minutos.

Evaporación del disolvente y retención de las especies orgánicas de Hg

5. Adición a una cubeta de cuarzo, para la medida con el equipo DMA-80, de 100 µL de disolución de N-Acetil-L-cisteina (NAC) al 1% p/v.
6. Retirada con jeringa de HPLC de 200 µL de la fase orgánica de los tubos de centrifuga y transferencia de los mismos a la cubeta de cuarzo con la disolución de NAC.
7. Evaporación de la fase orgánica en campana de gases durante 25 minutos a temperatura ambiente.

Determinación analítica de la fracción orgánica de Hg en el equipo DMA-80

8. Adición a la cubeta de cuarzo de 200 µl de HNO₃ al 5% v/v.
9. Medida de las muestras en el equipo DMA-80.

4.3.2. Método propio para la determinación de la fracción orgánica de Hg en aguas

Liberación y extracción simultánea de las especies orgánicas de Hg

1. Adición a un embudo de decantación de 200 mL de muestra de agua.
2. Adición al embudo de decantación de 10 mL de HCl concentrado, 10 mL de disolución CuBr₂ 0,3M y 10 mL de CH₂Cl₂.
3. Agitación vigorosa durante 2 minutos.
4. Decantación de las fases presentes en el embudo.
5. Recogida de la fase orgánica y parte de la fase acuosa en un tubo de centrifuga de 40 mL.
6. Centrifugación a 3200 rpm durante 5 minutos.

Evaporación del disolvente y retención de las especies orgánicas de Hg

7. Adición a una cubeta de cuarzo de 100 µL de disolución de N-Acetil-L-cisteína (NAC) al 1% p/v.
8. Retirada de 200 µL de la fase orgánica en los tubos de centrifuga con jeringa de HPLC y transferencia de los mismos a la cubeta de cuarzo con la disolución de NAC.
9. Evaporación de la fase orgánica en campana de gases durante 25 minutos a temperatura ambiente.

Determinación analítica de la fracción orgánica de Hg en el equipo DMA-80

10. Adición a la cubeta de cuarzo de 200 µL de HNO₃ 5% v/v.
11. Medida de las muestras en el equipo DMA-80.

4.5. APARATOS, MATERIALES, REACTIVOS Y MATERIALES DE REFERENCIA

4.5.1. Aparatos empleados a lo largo de los estudios de la presente Tesis Doctoral

- Estufa de secado (Proeti S.A.) con una temperatura máxima ajustable de 200 °C.
- Homogeneizador automático (Spex Mixer/Mill Cat. 8000).
- Congelador Kelvinator modelo ACK-28.
- Dos morteros de ágata automáticos (Fischer Scientific Co., GA, USA).
- Agitador vórtex (Heidolph Reax 2000) con velocidad de agitación variable.
- Baño de agua equipado con un termostato de inmersión (Selecta Tectron-200) (ver figura 5.4).
- Baño de ultrasonidos (Selecta Ultrasons 9L) (ver figura 5.4).
- Agitador rotatorio tipo “end-over-end” (Bunsen ARR-8) con velocidad de agitación variable (ver figura 8.9).
- Placa calefactora de agitación magnética (Variomag Thermodul 40ST) equipada con controles independientes para el control de temperatura y agitación.
- Centrífuga (Eppendorf 5804) con velocidades de centrifugado programables.
- Horno Microondas (CEM MDS 2000).
- Sistema de extracción en fase sólida, que incluye una estación de procesamiento de muestras (IST Vacmaster) equipada con una válvula de control de vacío y acoplada a una bomba de vacío libre de aceite (Figura 4.2).



Figura 4.2. Equipo empleado para la extracción en fase sólida.

- Balanza analítica PRECISA 2200C.
- Balanza analítica Sartorius LP620S.
- Balanza analítica Sartorius BP210D.
- Electrodo de pH portátil de la casa Crison.
- Analizador de materia orgánica, modelo ST-OR 5020 LaMotte Company.

4.5.2. Materiales

- Tubos de centrifuga de vidrio de 50 mL de capacidad de la marca Alamo.
- Tubos de centrifuga de vidrio de dimensiones 16x100 mm de la firma Alamo.
- Viales de poliestireno de 25 y 50 mL de capacidad.
- Viales de vidrio Packard de 20 mL de capacidad.
- Vasos de precipitados de vidrio de diferentes volúmenes suministrados principalmente por la firma Alamo.
- Matraces aforados de vidrio de diferentes capacidades suministrados principalmente por la firma Afora.
- Embudos de vidrio de la firma Afora.
- Embudos de decantación de 250 mL de capacidad (Pobel).
- Filtros de celulosa de 0,45 μm de la firma Schleicher & Schuell.
- Filtros de jeringa de PTFE de 0,45 μm .
- Pipetas y micropipetas automáticas graduables y fijas Gilson.
- Pipetas “Pasteur” de 150 mm de la firma Brand.
- Jeringas de HPLC graduables de la firma SGE (ver figura 5.6).
- Jeringas hipodérmicas de 5 y 10 mL de capacidad (BD Plastipak).
- Reactores de teflón PFA (CEM ACV) de 100 mL de capacidad con una presión máxima de 200 psig y temperatura máxima de 200 °C.
- Papel indicador universal pH 1-10 (Merck).

4.5.3. Reactivos

Los principales reactivos utilizados a lo largo de los estudios de la presente Tesis Doctoral han sido:

- Ácido nítrico (65% p/v) de calidad analítica (Merck)
- Ácido clorhídrico (37% p/v) de calidad analítica (Merck).
- Ácido fluorhídrico (40% p/v) de calidad analítica (Merck).
- Ácido acético glacial (100% p/v) de calidad analítica (Merck).
- Disolución patrón certificada de Hg de concentración 1000 mg L^{-1} en HNO_3 al 5% v/v (Johnson Matthey GMBH Alpha).
- Disolución patrón certificada de cloruro de metilmercurio (CH_3HgCl) de concentración 1000 mg L^{-1} en HCl al 5% v/v (Johnson Matthey GMBH Alpha).
- Cloruro de Sn(II) dihidratado ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) de calidad analítica (Merck).
- Borohidruro sódico (NaBH_4) de calidad analítica (Merck).
- Sulfuro de sodio nonahidratado ($\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) de calidad analítica (Merck).
- Algodón comercial libre de mercurio.
- Etanol absoluto ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) de calidad analítica (Merck).
- Nitrato de plata (AgNO_3) de calidad analítica (Merck).
- Hidróxido de sodio (NaOH) de calidad analítica (Merck).
- Pirofosfato sódico decahidratado ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) de calidad analítica (Merck).
- Hidrocloruro de hidroxilamonio ($\text{NH}_4\text{OH} \cdot \text{HCl}$) de calidad analítica (Merck).
- Yoduro potásico (KI) de calidad analítica (Merck).
- Bromuro de Cu(II) (CuBr_2) de calidad analítica (Aldrich).
- Diclorometano (CH_2Cl_2) de calidad analítica (Merck).
- N-acetil-L-cisteína ($\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_3\text{S}$) de calidad analítica (Sigma).
- Cloruro de metilmercurio (CH_3Hg) de calidad analítica (Merck).
- Óxido de Si(IV) de calidad analítica (Carlo Erba).
- Nitrato sódico (NaNO_3) de calidad analítica (Merck).
- Cloruro de Hg(II) (HgCl_2) de calidad analítica (Merck).
- Sulfato de Hg(II) (HgSO_4) de calidad analítica (Merck).
- Nitrato de Hg(II) monohidratado ($\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) de calidad analítica (Merck).

- Óxido de Hg(II) rojo (HgO) de calidad analítica (Merck).
- Óxido de Hg(II) amarillo (HgO) de calidad analítica (Merck).
- Cloruro de Hg(I) (Hg₂Cl₂) de calidad analítica (Merck).
- Sulfuro de Hg(II) (HgS) de calidad analítica (Fluka).

4.5.4. Materiales de referencia

- BCR CRM 062 (Olea Europea).
- BCR CRM 146 (Sewage Sludge).
- BCR CRM 320 (River Sediment).
- NIST SRM 2710 (Montana Soil).

4.6. REFERENCIAS

- [1] Bock R (1979) “*A Handbook of Decomposition Methods in Analytical Chemistry*”, International Textbook Comp. London.
- [2] Sulcek Z, Povondra P (1989) “*Methods of decomposition in inorganic analysis*”, CRC Press, BocaRaton , Florida.
- [3] Smith FE, Arsenault EA (1996) *Talanta* 43: 1207-1268
- [4] Hewitt AD, Reynolds CM (1990) *At Spectrosc* 11: 187-192
- [5] Kingston HM, Walter PJ (1992) *Spectroscopy* 7: 20-27
- [6] Quevauviller P, Imbert JL, Ollé M (1993) *Mikrochim Acta* 112: 147-154
- [7] Saraswati R, Vetter TW, Watters RL Jr (1995) *Analyst* 120: 95-98
- [8] Lamble K, Hill SJ (1995) *Analyst* 120: 413-417
- [9] Oles PJ, Graham WM (1991) *J Assoc Off Anal Chem* 74: 812-814
- [10] Escribano A, Fernández RM, Sanz VF, Rucandio MI (2001) “*Determinación de mercurio en sólidos medioambientales mediante espectrometría de absorción atómica con generación de vapor frío en un sistema continuo*” Ref. CIEMAT PE-IA/QM-TEM-004.
- [11] Ure AM (1996) *Sci Total Environ* 178: 3-10
- [12] Tack FMG, Verloo MG (1995) *Int J Environ Anal Chem* 59: 225-228

- [13] Mülvachová G (2002) *Rostlinná Výroba* 48: 526-542
- [14] Karak T, Singh UK, Das DK (2004) *The Scientific World J.* 4: 1038-1045
- [15] Shumaker KL, Begonia G (2005) *Int J Environ Res Public Health* 2: 293-298
- [16] Novozamski I, Lexmon TM, Houba VJG (1993) *Int J Env Anal Chem* 51: 47-58
- [17] Gupta SK, Aten C (1993) *Int J Environ Anal Chem* 51: 25-46
- [18] Ure AM, Quevauviller Ph, Muntau H, Griepink B (1993) *Int J Environ Anal Chem* 51: 135-151
- [19] Lindsay WL, Norvell WA (1978) *Soil Sci Soc Am J* 42: 421-428
- [20] Tessier A, Campbell PGC, Bisson M (1979) *Anal Chem* 51: 844-851
- [21] Sposito G, Lund LJ, Chang AC (1982) *Soil Sci Soc Am* 46: 260-264
- [22] Beckett PHT (1989) *Adv Soil Sci* 9: 143-176
- [23] Hirner AV (1992) *Int J Env Anal Chem* 46: 77-85
- [24] Ure AM, Davidson CM (2001) “*Chemical Speciation in the Environment*”, Blackie, Glasgow, pp. 265-321.
- [25] Gleyzes C, Tellier S, Astruc M (2002) *Trends Anal Chem* 21: 451- 467
- [26] MacLaren RG, Crawford DV (1973) *J Soil Sci* 24: 172-181
- [27] Gibbs RJ (1977) *Geol Soc Am Bull* 88: 829-843
- [28] Meguellati N, Robbe D, Marchandise P, Astruc M (1983) *Proc Int Conf Heavy Metals in the Environment*, ed. Müller, G., CEP Consultants, Edimburgh.
- [29] Miller WP, Martens DC, Zelazny LW (1986) *Soil Sci Soc Am J* 50: 598-601
- [30] Wenzel WW, Brandstetter A, Pollak MA, Mentler A, Blum WEH (1995) “*Seasonal changes of organic matter, pH, nitrogen and some metals in forest topsoils in Austria: A case study of two soils with and without a litter layer*”, in “*Environmental Impacts of Soil Component Interactions, Part II, Toxic Metals, Other Inorganics and Microbial Activities*”, P.M. Huang, J. Berthelin, J.M.; Bollag, W.B.; McGill, A.L. Page (Eds.), Chap. 8, pp. 85–95, CRC Press, Boca Raton, FL USA.
- [31] Sparks DL (1989) “*Kinetics of Soil Chemical Processes*”, Academic Press, London.

- [32] Sposito G (1989) *"The Chemistry of Soils"*, p. 277, Oxford University Press, Oxford.
- [33] Quevauviller P, Rauret G, Muntau H, Rubio R, López-Sánchez JF, Fiedler H, Griepink B (1994) *Fresenius J Anal Chem* 349: 808-814
- [34] Revis NW, Osborne TR, Sedgley D, King A (1989) *Analyst* 114: 823-825
- [35] Revis NW, Osborne TR, Holdsworth G, Hadden C (1989) *Water Air Soil Pollut* 45: 105-113
- [36] Giulio RT, Ryan EA (1987) *Water Air Soil Pollut* 33:205-219
- [37] Slowey AJ, Rytuba JJ, Brown GE (2005) *Environ Sci Technol* 39: 1547 –1554
- [38] Sakamoto H, Tomiyasu T, Yonehara N (1992) *Anal Sci* 8: 35-39
- [39] Bloom NS, Preus E, Katon J, Hiltner M (2002) *Anal Chim Acta* 479: 233-248
- [40] Han Y, Kingston HM, Boylan HM, Rahman GMM, Shah S, Richter RC, Link DD, Bhandari S (2003) *Anal Bioanal Chem* 375: 428-436
- [41] EPA METHOD 3200 Revision 0, July 2005, pp. 27.
- [42] Dwyer FP, Mellor DP (1964) *Chelating Agents and Metall Chelates*; Academic Press: New York and London.

5.1. METILMERCURIO EN EL MEDIO AMBIENTE

El mercurio, de origen natural o antropogénico, depositado en suelos y sedimentos, es susceptible de sufrir transformaciones químicas, que dependen de la forma en la cual ha sido depositado, de las condiciones ambientales en el lugar de deposición y de la presencia de otras especies químicas y microorganismos que influyan sobre dichas transformaciones. Todas estas condiciones determinan el riesgo potencial del mercurio en el medio en el que se halle. Si este medio es favorable a la conversión de mercurio iónico en metilmercurio (CH_3Hg^+ ó MeHg) mediante un proceso de metilación, entonces el riesgo para el medio ambiente es importante. La mayoría de trabajos de investigación que se encuentran en la bibliografía sugieren que los sedimentos acuáticos representan el compartimento medioambiental con un mayor potencial de metilación del mercurio depositado en ellos. Algunos de los lugares que reúnen condiciones especialmente favorables a estos procesos son los pantanos, lagos con aguas de bajo pH y baja alcalinidad, áreas inundadas recientemente (por ejemplo estanques), sistemas ricos en ácidos orgánicos naturales (por ejemplo tierras bajas), arroyos donde ocurren fluctuaciones pronunciadas del nivel de agua y vías de agua donde van a verter residuos de minería de mercurio o vertidos procedentes de industrias en las que se emplea mercurio en el proceso.

La mayor parte del conocimiento científico del que se dispone sobre el ciclo del mercurio se deriva de las investigaciones llevadas a cabo en tierras interiores y en ecosistemas de agua dulce. En estuarios y ecosistemas marinos, los procesos de conversión de mercurio inorgánico en MeHg son menos conocidos. En éstos, se sabe que existen importantes relaciones entre los procesos de deposición atmosférica de mercurio, corrientes marinas, estuarios y sistemas marinos que pueden afectar la producción y acumulación de MeHg, incluso se ha sugerido que el mercurio puede ser metilado en las profundidades del océano [1]. Se cree que los pantanos, ciénagas costeras, marismas y estuarios son lugares con una producción significativa de MeHg, debido a que las condiciones en estas localizaciones son favorables al desarrollo de bacterias anaerobias que facilitan los procesos de metilación. Al margen de esta fuente principal, otras fuentes de MeHg en el medio ambiente pueden ser algunas industrias

productoras de plásticos, los compuestos organomercurícos usados como pesticidas y los suelos anóxicos ricos en materia húmica [3].

La mayoría de los investigadores coinciden en atribuir la responsabilidad de los procesos de metilación en el medio ambiente a algunos microorganismos específicos. En particular, las bacterias sulfato reductoras parece que tienen una influencia decisiva en los ciclos del azufre y el mercurio controlando los procesos de biometilación [2]. En algunos ecosistemas de agua dulce la biometilación está controlada por la disponibilidad de sulfatos, sin embargo, en estuarios y sedimentos marinos, debido a su gran disponibilidad, el sulfato nunca es un factor limitante.

Otros factores que afectan a la metilación pueden ser la concentración de carbono orgánico disuelto (COD) y el pH. Algunos estudios han demostrado que para la misma especie de pescado en la misma región, el incremento de la acidez y/o del COD se manifiesta en una mayor concentración de MeHg en los peces, lo cual indica un aumento neto de la metilación. Por tanto la acidificación y un mayor contenido del COD potencian la movilidad del mercurio en el medio ambiente, haciendo más probable que éste pase a la cadena trófica. En ambientes altamente contaminados, también puede ocurrir un proceso de metilación abiótica, como resultado de reacciones de transalquilación entre compuestos organometálicos y mercurio inorgánico [4]. Incluso, se ha demostrado que los ácidos fúlvicos, a elevadas temperaturas, tienen propiedades metilantes [5].

En el lado opuesto de la cuestión, la exposición a la luz del sol (concretamente luz ultravioleta) tiene un efecto global destoxicante. La luz solar UV puede romper la molécula de MeHg para dar Hg(II) o Hg(0) [6], los cuales pueden abandonar el ambiente acuático y volver a entrar en la atmósfera en forma gaseosa. Este tipo de procesos ocurren de modo más eficiente en la superficie de aguas marinas ricas en sal [7].

Uno de los aspectos más relevantes de la presencia de MeHg en el medio ambiente es que éste se magnifica al ir ascendiendo en la cadena trófica, encontrándose niveles de concentración más elevados en las especies depredadoras. El mecanismo específico de

entrada en la cadena trófica aún no es muy conocido, pero probablemente comienza con la toma de MeHg disuelto, procedente del agua y los sedimentos de los ecosistemas acuáticos. De este modo el MeHg, formado en aguas dulces poco profundas y estuarios costeros puede ser transportado mar adentro y acumularse allí.

Según el modelo propuesto por el “U.S. Geological Survey” (USGS) [8] (figura 5.1), la metilación es el resultado de un conjunto complejo de procesos que implican el movimiento y la transformación del mercurio. El mercurio depositado atmosféricamente puede encontrarse en cualquiera de sus tres formas principales (inorgánico, elemental u orgánico), sin embargo la forma inorgánica divalente (Hg(II)) será la principal. Una vez en la superficie del agua, el mercurio entra en un ciclo complejo en el cual una forma puede ser convertida en otra. El mercurio asociado a partículas puede ser fijado en los sedimentos, donde podrá ser difundido hacia la columna de agua, resuspendido, enterrado por otros sedimentos o metilado. El MeHg formado puede pasar a la cadena trófica o bien ser liberado de nuevo a la atmósfera por volatilización.

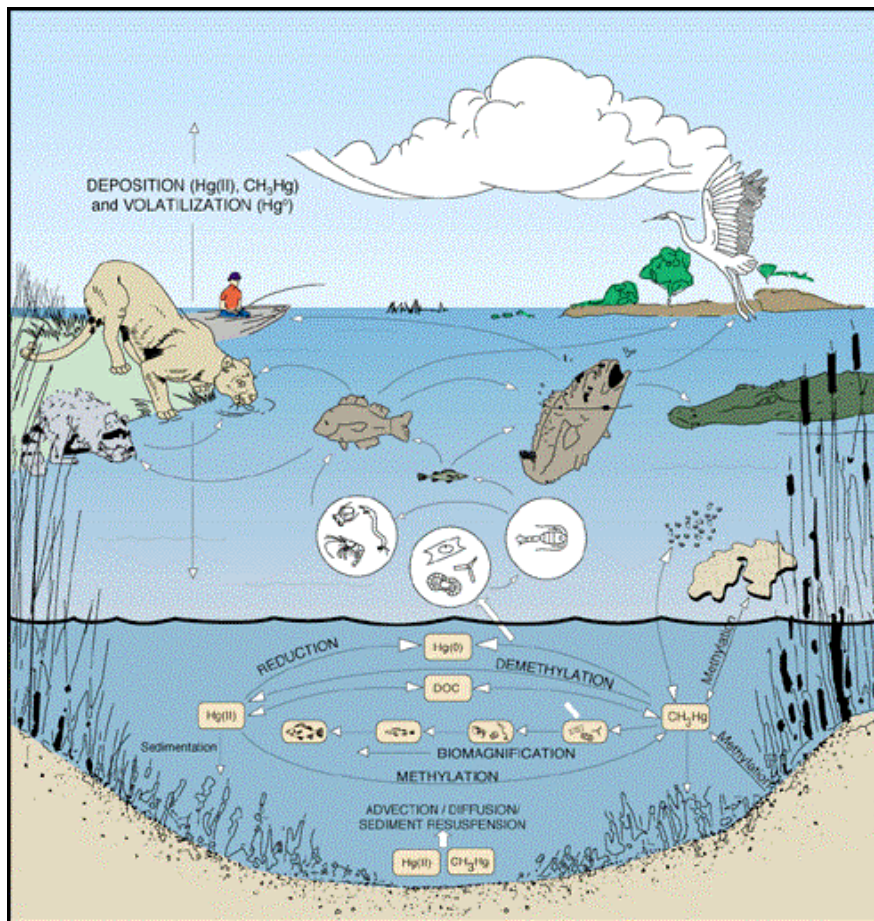


Figura 5.1. Modelo propuesto para el ciclo del MeHg en el medio ambiente por el USGS [8].

Históricamente ha habido algunos episodios de acumulación y contaminación del medio ambiente por MeHg. Entre ellos, el más importante fue el que ocurrió en la bahía de Minamata (Japón), en 1953, que dio lugar a la llamada “Enfermedad de Minamata” causada por el consumo de pescado con un alto contenido en MeHg, como consecuencia de la metilación de los residuos de mercurio vertidos en la bahía por una industria de producción de acetaldehído [9]. Otro episodio ha sido el de Niigata [10]. También destacan los diversos estudios detallados acerca de los niveles de MeHg en lagos y bosques [11], suelos [12], escombreras de minas [13], etc. Incluso en Europa se han estudiado con detalle los casos del río Elba [14-18] o el estuario del Sena.

5.2. ANTECEDENTES. MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE METILMERCURIO EN SUELOS Y SEDIMENTOS.

5.2.1. Métodos de extracción selectiva de la fracción orgánica de mercurio

Debido al singular riesgo que supone la presencia de MeHg en el medio ambiente, han sido y siguen siendo muy numerosos los métodos analíticos que se han desarrollado para su determinación cuantitativa en todo tipo de muestras. Como rasgo común a todos ellos, está la necesidad de separar los compuestos orgánicos de mercurio del resto de la muestra sin romper los enlaces C-Hg originales. La conservación de estos enlaces inalterados es esencial para poder conseguir el aislamiento conjunto de los compuestos organomercúricos empleando agentes apropiados, así como para poder separar y cuantificar posteriormente estos compuestos al aplicar un método cromatográfico.

Para liberar los compuestos organomercúricos de muestras sólidas, suelos y sedimentos principalmente, la gran mayoría de los métodos desarrollados en la bibliografía se basan en una etapa de extracción previa, en la cual la muestra original se pone en contacto con una disolución de un agente extractante, que teóricamente es capaz de liberar las especies organomercúricas sin alterar el enlace C-Hg original. Tras esta etapa, la disolución puede ser sometida a tratamientos posteriores, tales como preconcentración, reextracción, etc, con vistas a separar, aislar y cuantificar de forma apropiada las especies de interés.

Uno de los métodos más relevantes desarrollado para la determinación de MeHg en suelos y sedimentos fue el de Westöö [19], basado en una digestión ácida suave con HCl combinada con una extracción con benceno, seguida de una etapa posterior de reextracción para reducir el número de interferencias. Para este propósito se eligió la cisteína como agente reextractante debido a la gran afinidad del grupo -SH por los compuestos de mercurio. Finalmente, el mercurio asociado a la cisteína se extrae de la disolución acuosa con benceno y se analiza mediante cromatografía de gases. La mayoría de los métodos de extracción de MeHg basados en una extracción ácida derivan del método Westöö original, con algunas modificaciones, tales como el uso de NaCl [20, 21], KBr [22-24], ácido iodoacético [25], HgCl₂ [19, 26] o CuCl₂ [27] en el medio ácido para facilitar la liberación de los cationes CH₃Hg⁺ presentes en el sólido y que probablemente se pueden encontrar asociados a grupos sulfidrilo dentro del sólido.

Alternativamente a la extracción ácida, algunos autores han desarrollado procedimientos de extracción de especies orgánicas de mercurio empleando disoluciones alcalinas como KOH-metanol [28-30] o NaOH-cisteína [31]. Estos procedimientos son capaces de extraer el MeHg de los sedimentos sin romper los enlaces originales C-Hg y suelen proporcionar buenos resultados en la recuperación de MeHg de las muestras. Sin embargo, en comparación con los métodos de extracción ácida presentan algunas desventajas, tales como la dificultad de obtener disoluciones alcalinas de elevada pureza o que el manejo de este tipo de extractos suele hacer más complicadas las etapas de preconcentración, separación y detección. Además, en algunas muestras, pueden surgir problemas debido al elevado porcentaje de materia orgánica e ión férrico coextraídos con el MeHg [27].

La etapa de digestión, bien sea ácida o alcalina, no permite la separación de las especies organomercúricas del resto de especies de mercurio presentes en las muestras. Para separar estas especies se han desarrollado diferentes procedimientos, la mayoría de los cuales están basados en una extracción empleando un disolvente orgánico con el fin de separar las especies orgánicas de mercurio del mercurio inorgánico mayoritario. Como disolventes orgánicos, los más utilizados han sido el tolueno [32, 33], cloroformo [22, 34] y diclorometano [28, 35]. Todos ellos son selectivos a la hora de extraer el MeHg y el resto especies organomercúricas que puedan estar presentes en la muestra (etilmercurio,

fenilmercurio, etc). Entre ellos, el diclorometano presenta una serie de ventajas dada su volatilidad intermedia entre el cloroformo, excesivamente volátil, lo que hace difícil su manejo y dificulta la toma de volúmenes precisos, y el tolueno bastante menos volátil y más difícil de eliminar en una etapa posterior de reextracción. Otros esquemas de extracción ensayados por diferentes autores, tratan de evitar el empleo de disolventes orgánicos, mediante una destilación del extracto procedente de la digestión ácida [27], o bien mediante la propia volatilización del MeHg en una corriente de vapor de aire o nitrógeno [25, 27]. Estos procedimientos eliminan las interferencias negativas de matriz pero presentan otros problemas asociados como la formación de artefactos de MeHg durante la destilación. Incluso otras alternativas se basan en procesos de extracción en fase sólida posterior a la digestión ácida para separar, aislar y preconcentrar las especies orgánicas de mercurio [36, 37]. En estos, cabe destacar el empleo de fibra de algodón de sulfidrilo como medio adsorbente de especies organomercúricas que posteriormente pueden ser eluidas selectivamente mediante el paso por la columna de un agente eluyente apropiado [37].

En el caso de utilizar disolventes orgánicos para la extracción, las especies organomercúricas, una vez aisladas en ellos, pueden ser reextraídas a una fase acuosa para su posterior análisis o conservación. De esta forma, además, se suele conseguir una preconcentración de los analitos, necesaria en la mayoría de los casos debido al bajo nivel de concentración de mercurio orgánico habitualmente presente en las muestras de suelos y sedimentos. En esta etapa, el disolvente orgánico puede eliminarse, generalmente, mediante su evaporación, especialmente si se trata de cloroformo o diclorometano, y ésta a su vez puede lograrse por mero calentamiento o por arrastre con un gas inerte, que suele ser nitrógeno [27, 38, 39]. Algunos autores emplean en la reextracción simplemente agua en contacto con una alícuota de la fase orgánica y evaporan esta última [38, 39]. Otros emplean en su disolución acuosa agentes reextractantes, que por lo general suelen estar basados en el grupo sulfidrilo. Los más utilizados son el tiosulfato sódico y la cisteína [24, 40-42]. Un derivado de este último, la N-acetil-L-cisteína, tiene además un efecto estabilizador previniendo de forma efectiva pérdidas de alquilmercurio de las disoluciones aunque el mecanismo por el cual este reactivo inhibe las transformaciones de las especies orgánicas de mercurio aún no está claramente establecido [7].

Así pues, este esquema de digestión suave, extracción con disolventes orgánicos, seguida de reextracción es el más habitual en los métodos de determinación de MeHg en muestras de suelos y sedimentos.

Uno de los problemas asociados a la aplicación de métodos de extracción y determinación de MeHg en suelos y sedimentos es la posible formación de artefactos de MeHg, esto es, MeHg generado artificialmente durante la aplicación del método analítico [38, 43]. La formación de los artefactos se relaciona con la materia orgánica presente en la muestra y con la presencia de especies que puedan donar grupos metilo, tales como acetatos. El grado de metilación aumenta significativamente con la temperatura, mientras que la influencia del pH varía en función del tipo de material orgánico presente, de forma que, bajo condiciones ácidas, los ácidos fúlvicos, más ligeros y solubles, favorecerán la metilación y, en condiciones neutras y básicas, será la materia húmica la que ejerza un mayor efecto metilante del mercurio inorgánico [5]. Éste es un problema común a todos los métodos de extracción de MeHg, si bien se ha demostrado que afecta de forma más importante a aquellos que incluyen una etapa de destilación acuosa [38, 44]. Se puede establecer un orden de porcentaje de artefacto formado, respecto al mercurio total de la muestra se puede según los diversos métodos de extracción de la forma: Destilación > Digestión alcalina > Digestión ácida. De los métodos consultados en la bibliografía el que presenta un menor porcentaje de formación de artefacto de MeHg es el método de *Bloom et al.* [38]. Éste es un método basado en una digestión ácida suave de la muestra sólida en una disolución KBr/CuSO₄ en H₂SO₄, seguida de una extracción con diclorometano y reextracción en fase acuosa. De esta forma, se consigue aislar y extraer de forma cuantitativa las especies orgánicas de mercurio sin alterar los enlaces C-Hg y con un grado de metilación del mercurio inorgánico que se estima en torno al $2,5 \cdot 10^{-3}\%$.

5.2.2. Técnicas analíticas empleadas en la determinación de especies orgánicas de Hg.

Al igual que ocurre con los métodos de extracción, las técnicas propuestas por los diferentes autores para la determinación del MeHg y otras especies orgánicas de mercurio extraídas, son numerosas y variadas. Las más utilizadas en la separación y

cuantificación de estas especies son las técnicas cromatográficas, especialmente la Cromatografía Gaseosa acoplada a diferentes sistemas de detección, siendo los más comunes el de Detección de Captura Electrónica (GC-ECD) [23, 45], la Espectrometría de Emisión Atómica con fuente de Plasma inducido por Microondas (GC-MIP-AES) [2, 25, 34, 46], la Espectrometría de Masas con Fuente de Plasma Acoplado por Inducción (GC-ICP-MS) [47, 48] y, más recientemente, la Espectrometría de Fluorescencia Atómica con Generación de Vapor Frío (GC-CV-AFS) [24, 27]. También se ha utilizado con frecuencia la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) acoplada a diferentes sistemas de detección más o menos sensibles como la Espectrometría UV-visible (HPLC-UV) [49, 50], la Espectrometría de Masas con Fuente de Plasma Acoplado por Inducción (HPLC-ICP-MS) [51, 52], la Espectrometría de Absorción Atómica con Generación de Vapor Frío (HPLC-CV-AAS) [53, 54] o la Espectrometría de Fluorescencia Atómica con Generación de Vapor Frío (HPLC-CV-AFS) [55, 56]. Estos métodos cromatográficos permiten la especiación de los compuestos organomercurícos y ofrecen límites de detección bajos. El problema que presentan es la complicada instrumentación requerida y la necesidad de acoplamiento de las diferentes técnicas que, a veces, puede resultar demasiado dificultosa, como por ejemplo al tratar de hacer compatible el caudal a través de la columna de HPLC con el caudal utilizado en la nebulización de las muestras en un detector de plasma.

5.3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVO

Es evidente que la determinación de las especies orgánicas de Hg en muestras medioambientales presenta gran interés por su toxicidad. Dada la importancia que están adquiriendo los equipos para la determinación específica de Hg en muestras sólidas y líquidas, tales como el DMA-80 (Milestone, Sorisole, Italia), sería deseable el poder disponer una aplicación que permita la determinación cuantitativa de la fracción orgánica de Hg presente en muestras sólidas y líquidas.

El objetivo de este trabajo es proponer y desarrollar un nuevo método que permita la determinación rápida y sencilla de las especies orgánicas de mercurio en suelos y sedimentos. Para ello se propone la aplicación de un nuevo esquema basado en la combinación de una digestión ácida suave con una disolución inorgánica apropiada,

extracción con un disolvente orgánico, reextracción con una disolución acuosa y determinación en el equipo DMA-80.

El método propuesto para su desarrollo tiene como punto de partida una digestión ácida suave de la muestra con objeto de liberar las especies orgánicas de mercurio sin alterar los enlaces C-Hg.

De acuerdo con la bibliografía los métodos que presentan una menor formación de artefactos de MeHg son aquellos que emplean KBr en conjunción con una disolución ácida para extraer tanto las especies alquilmecúricas como sus correspondientes derivados bromados. En el método de *Bloom et al.* [38] se emplea además una disolución de CuSO₄, de forma que el Cu(II) compite con los iones CH₃Hg⁺ por los sitios de enlace en la superficie sólida desplazándolos y facilitando la liberación de los iones organomercuriales a la disolución.

Combinando los efectos del Br⁻ como formador de complejos [38] y del Cu(II) como liberador de los iones organomercuriales [27] se propone en estos estudios el empleo de CuBr₂ como reactivo en la etapa de digestión. Su concentración y volumen requiere una optimización de forma que se asegure la liberación cuantitativa de las especies orgánicas de mercurio del suelo, al tiempo que los enlaces C-Hg permanecen inalterados. En el citado método de *Bloom et al.* [37] el medio en el cual se disuelven el KBr y el CuSO₄ es H₂SO₄. En el método desarrollado y descrito en esta memoria de tesis, se propone el uso de HCl. Éste proporciona un ambiente menos oxidante que el H₂SO₄, al tiempo que por sí solo, es capaz de liberar gran parte del MeHg presente en suelos y sedimentos [57]. La concentración de este ácido también supone un punto importante a optimizar, así como, por supuesto, las condiciones experimentales en las cuales se desarrolle esta primera etapa del método.

Como segunda etapa, se encuentra la extracción propiamente dicha de los compuestos orgánicos de mercurio liberados en la primera etapa. Para esta etapa, se propone el empleo de un disolvente orgánico: el diclorometano (CH₂Cl₂). Las razones de esta elección son, por un lado, la elevada selectividad que presenta este reactivo por los compuestos alquilmecúricos [39] y, por otro lado, la volatilidad del mismo, que facilita

en gran manera la eliminación del disolvente por evaporación durante la etapa de reextracción [58]. Como parámetros a optimizar en esta etapa se consideran el volumen de agente extractante, así como las condiciones experimentales en que se ha de desarrollar, de manera que se consiga una extracción cuantitativa.

En principio, dado que la conservación de las muestras puede ser de interés y dado que la mayoría de las técnicas analíticas funcionan mejor cuando las disoluciones introducidas en los equipos de medida son acuosas, podemos considerar una etapa de reextracción en medio acuoso. Una forma rápida y sencilla de lograr la reextracción y eliminar el disolvente orgánico es la evaporación del mismo en contacto con una disolución acuosa que contenga algún reactivo que retenga las especies organomercuriales presentes. Para ello se va a emplear como agente reextractante una disolución de N-acetil-L-cisteína (NAC), que, por un lado, posee una elevada capacidad para formar complejos, debido al grupo sulfidrilo, que permite retener de forma efectiva los compuestos organomercúricos y, por otro, logra una estabilidad que permite la conservación de las muestras sin transformaciones posteriores del MeHg y los demás compuestos organomercúricos [7]. Entre los parámetros a optimizar en el desarrollo de esta etapa están todos los concernientes a las condiciones experimentales de la evaporación, así como la concentración y volumen de la disolución de NAC.

En la etapa final de determinación analítica se describe la optimización de las condiciones instrumentales, acorde con la naturaleza de las disoluciones que se van a analizar en el equipo DMA-80.

Finalmente el método deberá ser validado mediante su aplicación a suelos naturales que incorporen artificialmente concentraciones conocidas de especies organomercúricas.

5.4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

5.4.1. Preparación de muestras artificiales con MeHg añadido

El uso de muestras con adiciones sintéticas es habitual en el desarrollo de métodos de separación y determinación de MeHg en muestras de diferente naturaleza [27, 38, 42, 59, 60]. Este tipo de muestras resultan de gran utilidad en la optimización de las condiciones experimentales y en la validación de estos métodos. Además, su empleo supone un ahorro de materiales de referencia que suelen resultar bastante caros, además de permitir a su vez la utilización de pequeñas cantidades de muestras reales, no siempre disponibles en cantidad suficiente, o permitir trabajar con unos niveles de concentración de analitos que de otra forma no serían posibles con muestras convencionales.

Sin embargo, el uso de muestras con adiciones sintéticas ofrece siempre incertidumbres relacionadas con la diferente naturaleza y asociaciones de la especie adicionada respecto a la especie que se encuentra de forma natural en la matriz de la muestra. En el caso del MeHg adicionado, el comportamiento general muestra una mayor labilidad respecto al MeHg presente de forma natural en las muestras, de forma que puede ser extraído en condiciones más suaves [27]. Así pues, la información y conclusiones que se pueden obtener del uso de muestras adicionadas han de ser consideradas con cautela y siempre teniendo en cuenta que este tipo de experiencias no garantizan por sí solas la exactitud y validez de un método analítico.

Los procedimientos que se encuentran en la bibliografía para la adición de MeHg a una matriz sólida son muy variados. Los tipos de matrices utilizados también pueden ser muy diversos. Algunos autores emplean en sus experimentos matrices más o menos inertes como sílice o caolín [37, 61], otros emplean otras matrices más próximas a muestras reales como suelos y sedimentos [38, 59, 60] y otros incluso llegan a realizar las adiciones en materiales de referencia de suelos [42].

En el presente trabajo se han utilizado muestras con MeHg adicionado en el desarrollo del método analítico, en la optimización de las condiciones experimentales y en su

validación. El procedimiento utilizado para la preparación de estas muestras se basó en el método de *Vázquez et al.* ligeramente modificado [59]. El procedimiento consistió principalmente en los siguientes puntos:

1. Secado de la matriz sólida en una estufa durante cuatro días a 50 °C, pulverizado en un molino de bolas y homogeneización de la misma empleando un homogeneizador automático.
2. Pesada de unos 20 g de matriz sólida preparada en una cápsula de teflón y adición de 2 mL de disolución estándar de MeHg de 250 mg L⁻¹ preparada en metanol.
3. Secado de la muestra así adicionada en una estufa a 45 °C durante dos días.
4. Traspaso de la muestra a una duquesa de vidrio, adición de 5 bolitas de plexiglas y homogeneizado manual de la misma y en un homogeneizador automático durante dos periodos de 15 minutos.
5. Etiquetado de la muestra y conservación de la misma en un congelador a -18 °C.

Se emplearon diferentes matrices para preparar las distintas muestras adicionadas utilizadas a lo largo del desarrollo del método propuesto. Estas matrices fueron sílice, un suelo de bajo contenido en materia orgánica y un suelo con un contenido significativo en materia orgánica.

La concentración de MeHg adicionada en cada muestra se determinó mediante la diferencia de los valores de concentración de mercurio obtenidos para la muestra adicionada y la matriz sin adición, tomando un mínimo de 4 réplicas para obtener el valor medio de cada concentración.

5.4.2. Lavado de material

Debido a los niveles tan bajos de concentración de MeHg en muestras naturales es esencial el evitar cualquier posible contaminación previa al tratamiento de las muestras o durante el procesado de las mismas. Una de las fuentes más comunes de contaminación de las muestras es el propio material del laboratorio. Por tanto, en los procedimientos de lavado, especialmente del material de vidrio y teflón, las precauciones a tomar han de ser extremas con el fin de evitar contaminaciones.

Los procedimientos de limpieza diseñados para su aplicación al material que se ha de utilizar en los métodos de separación y determinación de MeHg se denominan con frecuencia “ultralimpios” debido a la rigurosidad y abundancia de etapas que suelen comprender.

Son varios los procedimientos de este tipo propuestos en la bibliografía. Entre ellos caben destacar los procedimientos de *Bloom* y *Creelius* [62] y el de *Logar* y *Horvat* [63]. El primero de ellos somete al material a un tratamiento completo con agentes ácidos y oxidantes. En él, el material de vidrio o teflón se sumerge en una mezcla de ácido nítrico, agente oxidante (mezcla de KMnO_4 y $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) y agua de mar, se calienta a elevada temperatura en un baño de agua y después de su enjuague se deja sumergido en ácido nítrico durante una semana. El procedimiento de *Logar* y *Horvat* es algo más convencional, se basa en la combinación de tratamientos ácidos evitando el uso de agentes oxidantes. En éste, el material primero se lava con un jabón convencional, tras lo cual se sumerge en una disolución de ácido nítrico durante dos días y finalmente, después de un minucioso enjuagado con agua ultrapura, se deja inmerso en ácido clorhídrico durante un día.

El procedimiento aquí propuesto, siendo más sencillo y rápido que los dos expuestos, es más próximo al segundo de ellos. Está basado en el empleo de ácido nítrico como agente de limpieza principal. Se ha demostrado su eficacia mediante el análisis de blancos y disoluciones de concentraciones conocidas de MeHg. Comprende las siguientes etapas:

1. Lavado minucioso del material con jabón convencional, con especial énfasis en los tubos de centrífuga que contendrán restos de las muestras sólidas empleadas en anteriores experiencias.
2. Enjuagado con abundante agua corriente y secado que puede ser acelerado si se realiza en una estufa a 105°C .
3. Lavado del material con HNO_3 al 25% v/v:

En esta etapa, la forma de aplicación varía en función del tipo de material.

- 3.1. Los tubos de centrífuga se rellenan con la disolución de lavado hasta aproximadamente la mitad de su volumen (unos 20 mL) y se colocan en el agitador rotatorio durante un día a 15 rpm.
- 3.2. El resto del material se sumerge en un vaso de precipitados conteniendo dicha disolución manteniéndolo así durante un día.
4. Enjuague del material con agua ultrapura tres veces. En el caso de los tubos de centrífuga, la etapa se realizará agitando en vortex para mejorar el efecto del enjuague.
5. Secado bien a temperatura ambiente o bien en estufa a 105°C.
6. Almacenado del material en un contenedor cerrado y apartado del resto de material de laboratorio para uso convencional.

El material empleado para la toma de volúmenes de disolventes y fases orgánicas, es decir, pipetas y jeringas de HPLC, deberá ser sometido a un ulterior tratamiento previo a su utilización consistente en su enjuague tres veces con una porción de diclorometano.

5.4.3. Optimización de las diferentes etapas del método

5.4.3.1. Elección de las condiciones iniciales

El desarrollo y optimización de las diferentes etapas que componen el método propuesto se realizó a través de estudios de recuperación de MeHg adicionado a diversas matrices sólidas, ya sea sílice o bien suelos reales.

Como punto de partida en la optimización de las diferentes etapas del método, partimos de las condiciones experimentales propuestas en el método de *Bloom et al.* [38]. Este método combina el uso de Br⁻ como agente formador de complejos y de Cu(II) a fin de desplazar los iones organomercuriales presentes en las muestras de suelos y sedimentos. Así las cantidades y concentraciones de muestra y reactivos empleadas en este método de referencia quedan como siguen: 0,5 g de muestra, 6 mL de una disolución ácida con concentraciones 1,26 M de KBr y 0,17 M de CuSO₄ en un medio H₂SO₄ al 5% v/v.

Tomando como referencia este método, se eligieron las siguientes condiciones de partida: 0,5 g de muestra, 5 mL de una disolución ácida de CuBr_2 0,5 M en medio HCl al 10% v/v. Respecto al modo de agitación, dado que todo el desarrollo del proceso se realiza en tubos de centrífuga, en principio optamos por combinar una primera agitación en vórtex para poner en contacto las fases presentes en el tubo con agitación en ultrasonidos. Para ello se eligieron unas condiciones iniciales de 1 minuto de agitación en vórtex seguido de 20 minutos de agitación en baño de ultrasonidos a 40°C.

5.4.3.2. Extracción selectiva de las especies orgánicas de Hg

Para optimizar esta primera etapa se estudió la recuperación de mercurio en el extracto inorgánico de una muestra preparada con sílice pura a la cual adicionamos una cantidad conocida de MeHg.

En un primer momento, se estudió el efecto de la concentración de HCl del medio y la temperatura para lograr una liberación completa del MeHg adicionado. Se ensayaron cuatro condiciones experimentales diferentes (tabla 5.1). Los resultados se muestran en la figura 5.2.

Tabla 5.1. Condiciones experimentales ensayadas para el estudio del efecto de la concentración de HCl y tiempo de agitación en ultrasonidos (U.S.).

Experiencia	Conc. CuBr_2	Vol. (mL)	Conc. HCl (% v/v)	Tiempo U.S. (min)	T (°C)
1	0,5 M	5	10	20	40
2	0,5 M	5	10	30	60
3	0,5 M	5	20	30	60
4	0,5 M	5	25	30	80

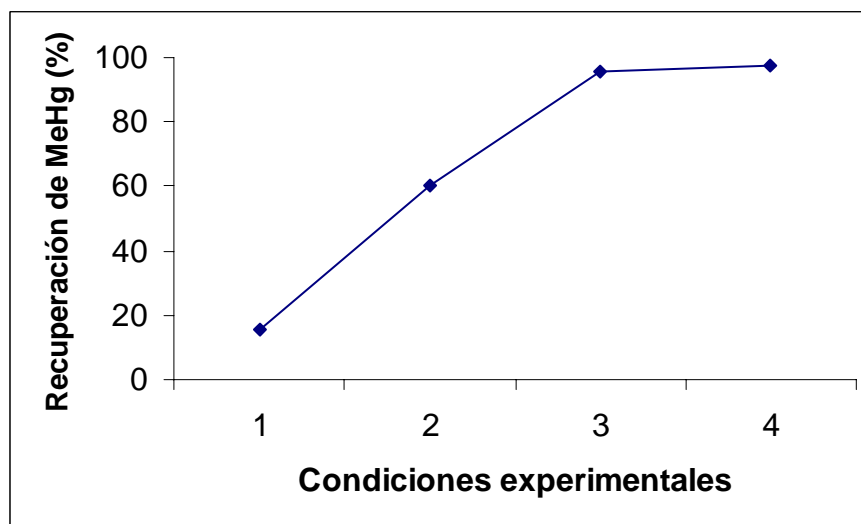


Figura 5.2. Recuperación de MeHg adicionado en las condiciones experimentales 1-4.

Como puede observarse en la gráfica, sólo en las condiciones experimentales 3 y 4 se consiguió una recuperación cuantitativa del MeHg adicionado. Estas condiciones son muy enérgicas, ya que emplean concentraciones más elevadas de HCl y alta temperatura. Si bien la concentración de HCl no debe suponer ninguna dificultad ni debe acarrear pérdidas o transformaciones de mercurio orgánico, sí es posible que las elevadas temperaturas puedan originar la formación de artefactos de MeHg o bien pérdidas del mismo por transformación mercurio inorgánico. Cuando menos, a nivel operativo resultan un inconveniente, ya que obligan a establecer un tiempo de enfriamiento de la disolución extraída para que al ponerla en contacto posteriormente con el CH_2Cl_2 , éste no se evapore debido a la temperatura de la misma. Además, y lo que es más importante, el uso de elevadas temperaturas, descarta la posibilidad de poder realizar la digestión y extracción de las muestras con el disolvente orgánico en una sola etapa, lo que le resta simplicidad y operatividad al método.

En un intento por tratar de conseguir una liberación cuantitativa del MeHg adicionado a temperatura ambiente, se procedió a una optimización del tiempo y modo de agitación. Se ensayaron nuevas condiciones experimentales (tabla 5.2). Los resultados se muestran en la figura 5.3.

Tabla 5.2. Condiciones experimentales ensayadas para la evaluación del efecto del modo y tiempo de agitación.

Expcia.	Conc. CuBr ₂	Vol. (ml)	Conc. HCl (% v/v)	Modo agit.	Tiempo agit. (min)	T (°C)
5	0,5 M	5	20	U.S.	60	t.a.
6	0,3 M	5	5	U.S.-Rot.	30	t.a.
7	0,3 M	5	5	U.S.-Rot.	60	t.a.
8	0,3 M	5	5	U.S.-Rot.	120	t.a.
9	0,3 M	5	5	U.S.-Rot.	180	t.a.

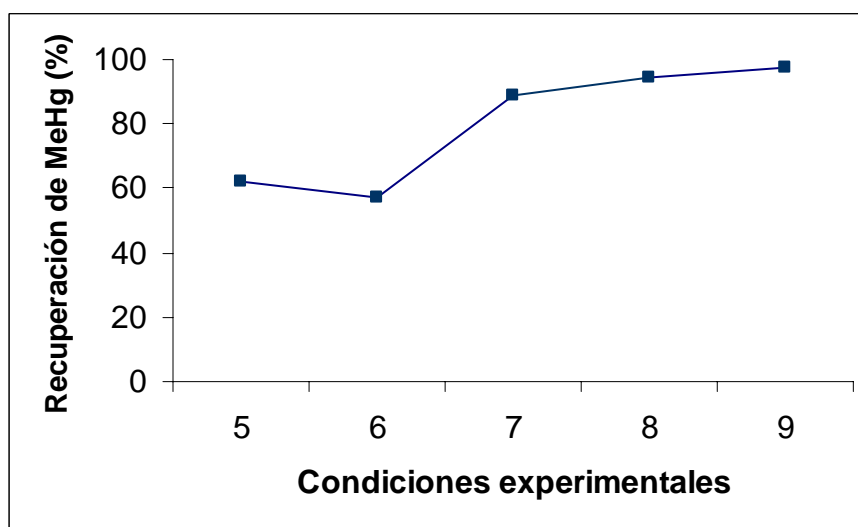


Figura 5.3. Recuperación de MeHg adicionado en las condiciones experimentales 5-9.

En un principio se trató de mantener la propuesta inicial de realizar la agitación por ultrasonidos, incrementando el tiempo hasta los 60 minutos. Esto resultó insuficiente, ya que no se lograban recuperaciones aceptables (figura 5.3). Entonces, se ensayó un modo de agitación en el cual se combinó la agitación rotatoria con la agitación por ultrasonidos. Esto se consiguió sumergiendo parcialmente un agitador rotatorio en el baño de ultrasonidos tal y como se muestra en la figura 5.4., y realizando la extracción a diferentes tiempos. En el procedimiento de agitación combinado, la agitación rotatoria es continua a unas 35 rpm, mientras que el baño de ultrasonidos se conecta en ciclos de 15 minutos cada media hora, de forma que para un tiempo de agitación de 2 horas, el tiempo total de ultrasonidos será de 1 h en 4 ciclos alternados de 15 minutos cada uno. De este modo, se consigue un mejor contacto entre las fases aún en el caso de realizar la digestión y extracción simultánea. Se ensayaron diferentes tiempos de agitación, a la vez que se suavizaron las condiciones en cuanto a concentración de CuBr₂ y HCl.

Finalmente con tiempos de agitación de 2 horas se consiguieron recuperaciones de alrededor del 95%, eligiéndose por tanto este modo y tiempo de agitación para un volumen de 5 ml de disolución CuBr_2 0,3 M en HCl al 5% v/v.



Figura 5.4. Montaje experimental para el procedimiento de agitación combinada rotatoria-ultrasonidos.

5.4.3.3. Eliminación del disolvente orgánico y estabilización de la muestra

Una vez elegidas las condiciones experimentales para la etapa de digestión con CuBr_2 , el siguiente paso fue optimizar la segunda etapa, consistente en la extracción del MeHg liberado de la matriz sólida mediante un disolvente orgánico. El disolvente a emplear es el CH_2Cl_2 , por su idoneidad para extraer selectivamente compuestos orgánicos de mercurio [38, 39]. El volumen de CH_2Cl_2 elegido fue de 10 ml, al igual que el empleado en el método de *Bloom et al.* [38] y que se considera apropiado para el peso de muestra de 0,5 g.

En esta etapa el principal problema a resolver fue la conveniencia de realizarla conjuntamente con la etapa anterior o bien realizarla de forma independiente. El propósito, en base a la rapidez y operatividad del método, fue tratar de conseguir realizarla simultáneamente a la digestión (primera etapa). Para dilucidar esto, se aplicaron las condiciones elegidas para la digestión a la realización simultánea de digestión y extracción añadiendo 10 ml de CH_2Cl_2 a cada tubo de centrifuga conteniendo la muestra sintética y la disolución de CuBr_2 . Los resultados se contrastaron con los obtenidos de una experiencia en la cual ambas etapas se realizaban

sucesivamente. Las condiciones de estos ensayos así como las recuperaciones obtenidas se muestran en la figura 5.5.

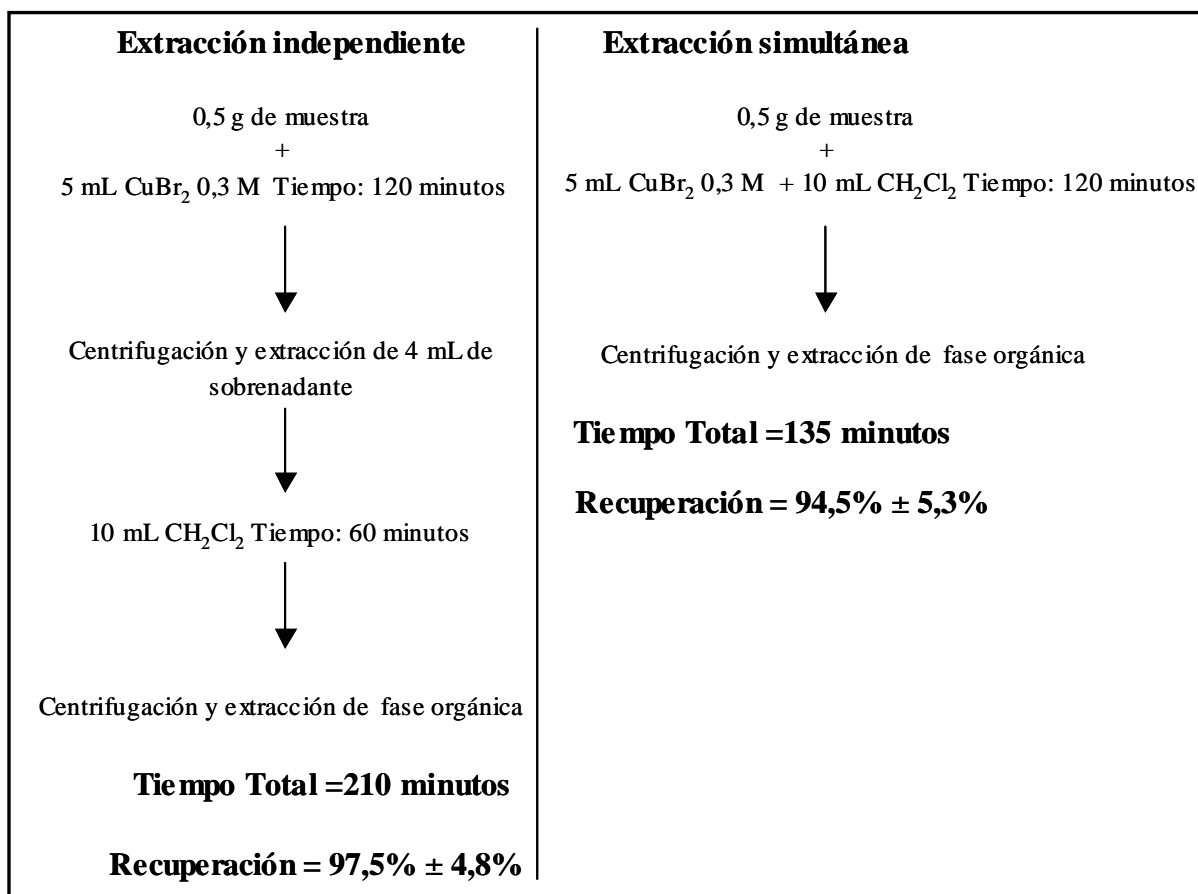


Figura 5.5. Comparación de los procedimientos de extracciones independientes y simultáneas.

Como puede verse, las recuperaciones obtenidas son igualmente aceptables en ambos casos. Sin embargo, en el primero el tiempo necesario para extraer el MeHg es considerablemente superior al que se requiere si realizamos la extracción de forma simultánea. Por ello y una vez demostrada su viabilidad, se optó por realizar las dos etapas de forma conjunta en las condiciones dadas en la figura 5.5.

Una vez extraído el MeHg de forma selectiva, es necesario eliminar el disolvente orgánico, que queda en la parte inferior del tubo de centrifuga, para poder determinar el mercurio orgánico en el equipo DMA-80. Para lograr esto, en el desarrollo del método se ensayó un abanico de posibilidades que podríamos resumir en los siguientes puntos:

1. Toma de 8 mL de fase orgánica y evaporación de la misma en vasos de precipitados calentando en placa calefactora a unos 60 °C durante 30 minutos. Adición posterior de 1 mL de HNO₃ al 50% v/v y se aforó a 5 mL con agua ultrapura.
2. Toma de 8 mL de fase orgánica con pipeta y evaporación de la misma en vasos de precipitados a los cuales se añadieron 2 mL de disolución de NAC al 0,5% p/v, calentando en placa calefactora a unos 60 °C durante 30 minutos. Aforado a 5 mL con agua ultrapura.
3. Toma de 8 mL de fase orgánica y evaporación de la misma en vasos de precipitados con 2 mL de disolución de NAC al 0,5% p/v, en los cuales se hacía burbujear N₂ durante 1 hora.
4. Toma de 200 µL de fase orgánica con jeringas de HPLC y evaporación de la misma en cubetas de cuarzo del equipo DMA-80 en campana de gases a temperatura ambiente.
5. Toma de 200 µL de fase orgánica con jeringas de HPLC y evaporación en cubetas de cuarzo con 50 µL de disolución de NAC al 0,5% p/v, en campana de gases a temperatura ambiente.
6. Toma de 200 µL de fase orgánica con jeringas de HPLC y evaporación en cubetas de cuarzo a las cuales se añadieron previamente 100 µL de disolución de NAC al 1% p/v, en campana de gases a temperatura ambiente. Una vez finalizado el período de evaporación se añadieron a cada cubeta 200 µL de HNO₃ al 5% v/v.

Las recuperaciones obtenidas en cada uno de los procedimientos ensayados se muestran en la tabla 5.3.

Tabla 5.3. Recuperación de mercurio en los diferentes procedimientos de evaporación ensayados. Los resultados representan el valor medio \pm tres veces la desviación estándar ($n = 4$).

Procedimiento	1	2	3	4	5	6
Recuperación (%)	56,9 \pm 14,7	87,6 \pm 0,4	111,6 \pm 9,7	4,0 \pm 1,8	60,9 \pm 13,4	95,8 \pm 3,3

En las primeras condiciones ensayadas (procedimiento 1) se observó que al añadir el HNO₃ para redissolver el MeHg, se producía la formación de precipitados blancos a modo de estrías que no pudieron ser completamente disueltos al añadir el agua y aforar. La recuperación obtenida por este procedimiento fue muy baja y además la reproducibilidad tampoco fue satisfactoria con lo cual hubo que descartarlo. Las

recuperaciones fueron mayores al tratar de ensayar la evaporación mediante el paso de una corriente de N₂ a través de las muestras. La adición de NAC parece favorecer la retención de las especies orgánicas de mercurio en la fase acuosa. En este procedimiento también se observó la formación durante la evaporación de precipitados blancos muy voluminosos que iban desapareciendo al eliminarse el disolvente. En el procedimiento 3, que combina una evaporación convencional en placa con el uso de NAC como agente reextractante se obtuvieron recuperaciones muy altas, al tiempo que la reproducibilidad obtenida fue superior al 5% (RSD). Éste procedimiento se consideró en principio satisfactorio y se trató de ensayar con sedimentos, encontrándose que al centrifugar y tratar de recoger la fase orgánica con pipetas convencionales, la fase sólida se removía y no podía realizarse una extracción limpia del sobrenadante orgánico. Para superar estas dificultades se propuso un procedimiento alternativo, en el cual se emplearon jeringas de HPLC (figuras 5.6 y 5.7) para recoger alícuotas de la fase orgánica. Mediante el empleo de estas jeringas se evita que la fase sólida se remueva, pudiendo tomar un volumen exacto de fase orgánica en cada alícuota y, además, se permite que la evaporación pueda realizarse en las propias cubetas de medida del equipo DMA-80, lo cual supone una ventaja en términos de tiempo y simplicidad del método. Se eligió un volumen estándar para las alícuotas de la fase orgánica de 200 µL, adecuado para el volumen máximo de las cubetas de cuarzo del equipo DMA-80. Dada la volatilidad de la fase orgánica y el bajo volumen a evaporar se pudo realizar la evaporación a temperatura ambiente, lo que evitó la formación de precipitados como ocurría en los 3 procedimientos anteriores. En el procedimiento 4 se realizó la evaporación sin adición de ningún agente reextractante, procediéndose a la medida directa en las cubetas, obteniéndose unas recuperaciones extremadamente bajas, lo que implica, que el MeHg en ausencia de algún agente o fase acuosa se evapora junto al CH₂Cl₂. La adición previa de disolución NAC a las cubetas mejoró sustancialmente la recuperación del MeHg (procedimiento 5). Sin embargo, al analizar réplicas de la misma muestra, se observaba una disminución gradual de la absorbancia en cada una de las medidas (figura 5.8), lo cual quiere decir que las disoluciones no son estables en el interior de las cubetas y se va perdiendo MeHg durante el procesado de las muestras en el equipo, probablemente como consecuencia de las altas temperaturas generadas en el mismo. Este problema finalmente se solventó mediante la adición a cada cubeta de 200 µL de HNO₃ al 5% v/v de forma inmediatamente posterior a la finalización de la evaporación (procedimiento

6). La adición de este reactivo permitió la obtención de recuperaciones cuantitativas del MeHg extraído, a la vez que mejoró de forma sobresaliente la reproducibilidad de las medidas (figura 5.9).



Figura 5.6. Jeringas de HPLC usadas para la toma de alícuotas de la fase orgánica

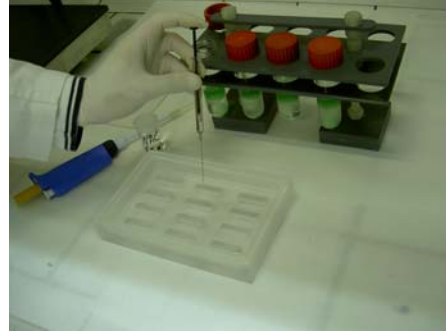


Figura 5.7. Deposición de una alícuota de fase orgánica en una cubeta de cuarzo

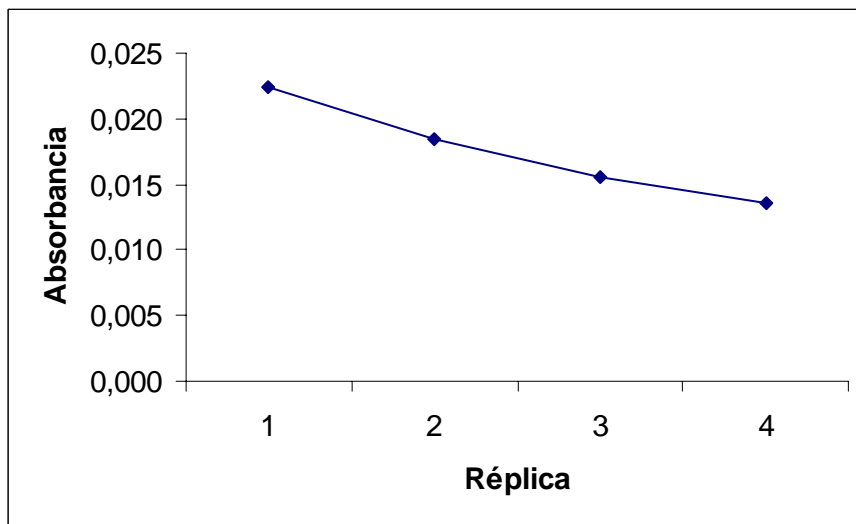


Figura 5.8. Descenso de la absorbancia durante el análisis en muestras sin adición de ningún agente estabilizante

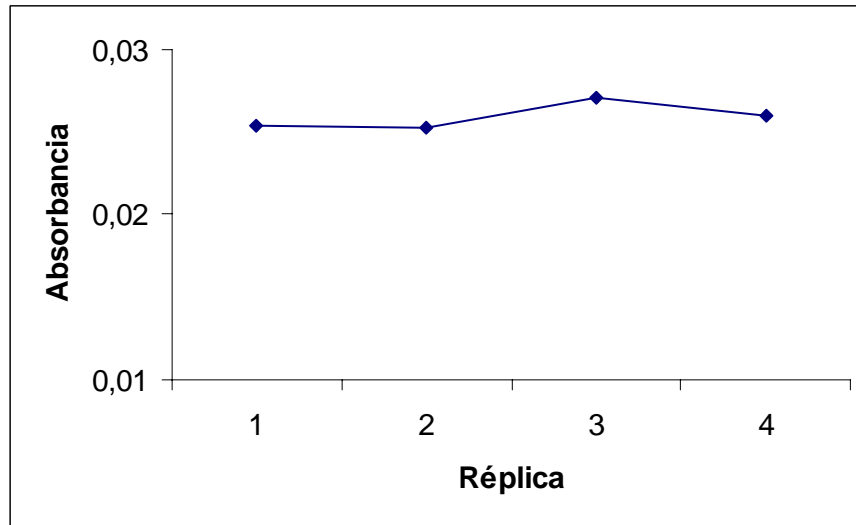


Figura 5.9. Efecto de la adición de HNO₃ al 5% v/v sobre la absorbancia

Estas últimas condiciones, expuestas en el procedimiento 6, fueron las seleccionadas finalmente para la etapa de evaporación. El tiempo inicial 30 minutos se evaluó y contrastó con otros inferiores para tratar de optimizar en lo posible esta etapa. Los resultados de esta optimización se muestran en la figura 5.10. A partir de 20 minutos la recuperación de MeHg es superior al 95%. Finalmente se estableció un tiempo de evaporación de 25 minutos.

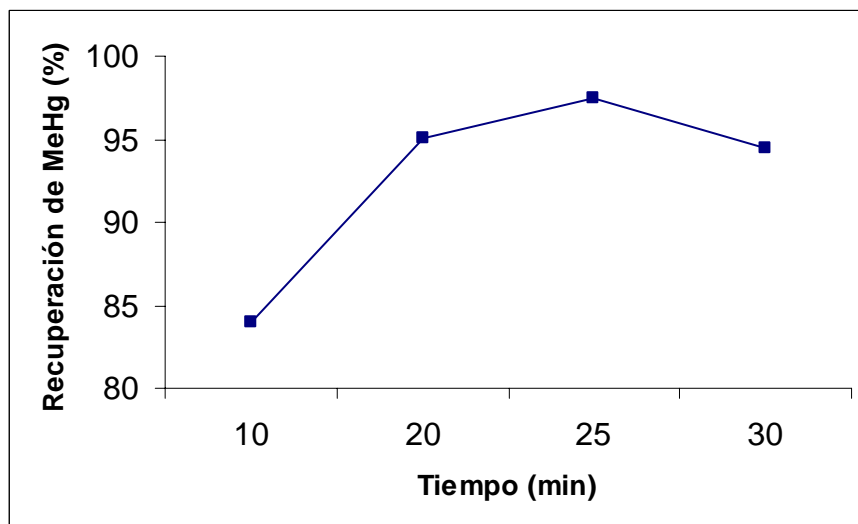


Figura 5.10. Efecto del tiempo de evaporación en la recuperación de MeHg adicionado.

5.4.3.4. Determinación analítica del Hg orgánico extraído

La última etapa del método consiste en la medida del mercurio orgánico extraído, en el equipo DMA-80. La optimización de los parámetros instrumentales se realizó a partir de la medida de patrones de cloruro de MeHg de diferentes concentraciones partiendo de las condiciones instrumentales recomendadas por el fabricante para la medida de muestras líquidas. Estos parámetros se optimizaron teniendo en cuenta el volumen estándar seleccionado de 200 μL para la alícuota de fase orgánica y para la adición posterior de HNO_3 al 5% v/v. Las condiciones finalmente seleccionadas se muestran en la tabla 5.4.

Tabla 5.4. Condiciones operatorias del equipo DMA-80.

Parámetro	Valor
Flujo de Oxígeno	4 bar
Temperatura de Secado	300 °C
Tiempo de Secado	180 s
Temperatura de Descomposición	850 °C
Tiempo de Descomposición	180 s
Tiempo de Purga	60 s
Tiempo de Amalgamación	12 s
Tiempo de Registro	30 s

En general, se emplearon las condiciones propuestas por el fabricante en el manual del equipo, salvo en lo que respecta al tiempo de secado. Inicialmente se emplearon 60 segundos, pero los resultados obtenidos no fueron satisfactorios (figura 5.11) y se amplió estableciéndose un tiempo óptimo para lograr el secado total de las muestras de 180 segundos.

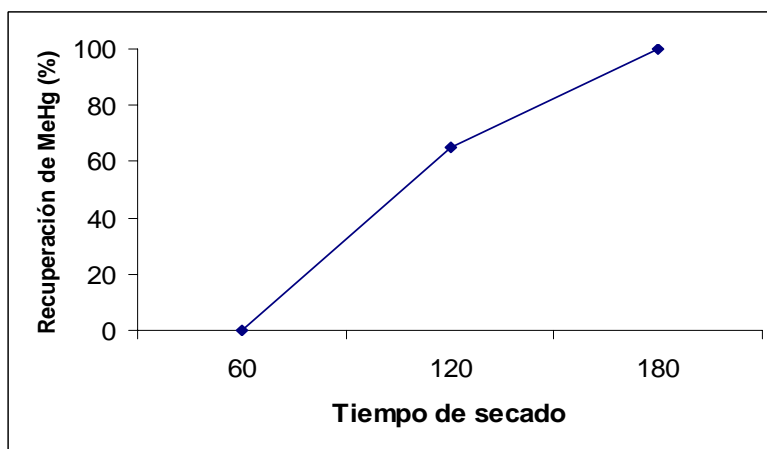


Figura 5.11. Efecto del tiempo de secado en el análisis de disoluciones patrón de MeHg en el equipo DMA-80.

Con la optimización de los parámetros instrumentales finalizó la optimización del método propuesto, que de forma esquemática puede verse en el siguiente diagrama de flujo.

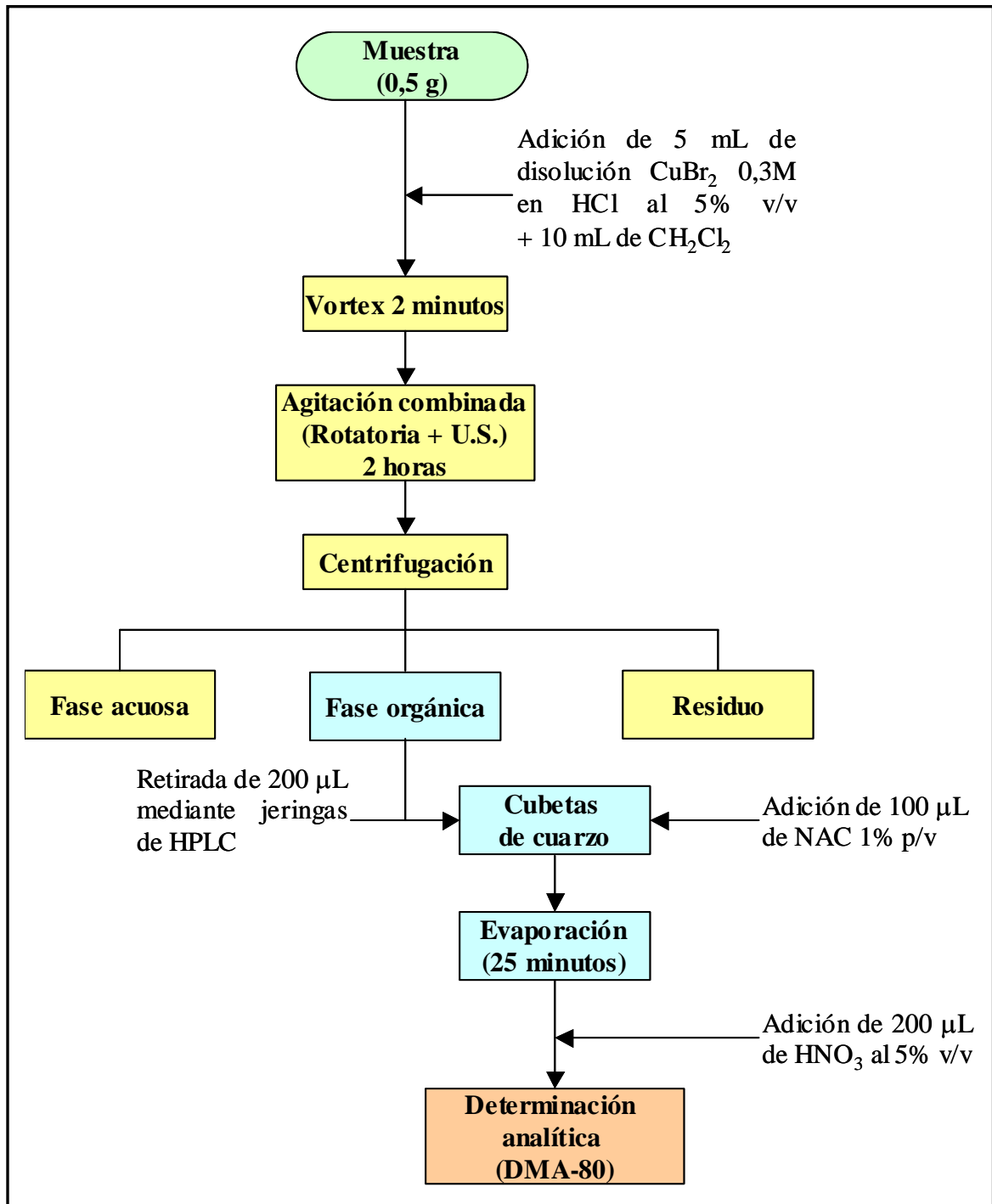


Figura 5.12. Diagrama de flujo del método propuesto para la determinación de la fracción de mercurio orgánico en muestras sólidas

5.5. VALIDACIÓN DEL MÉTODO

De modo similar al proceso seguido en la optimización, la validación del método se realizó a través de estudios de recuperación de MeHg adicionado en diferentes matrices. Se estudió la recuperación de MeHg en sílice (matriz inerte) y dos matrices de suelos recogidos en los alrededores del laboratorio. Uno de ellos, con un contenido en C orgánico total de 0,87%, corresponde a un suelo sin vegetación y se denominó suelo con bajo contenido en materia orgánica (SBMO). El otro tomado en un lugar con abundante vegetación presentó un horizonte orgánico extenso (contenido en C orgánico total de 4,20%) y fue denominado genéricamente como suelo con alto contenido en materia orgánica (SAMO). El propósito de esta elección fue estudiar la influencia de la materia orgánica en la extracción de especies orgánicas de mercurio según el esquema de extracción propuesto, dado que éste es uno de los factores más importantes que influyen en los procesos de metilación de mercurio en los diversos compartimentos medioambientales. Son numerosos los trabajos que describen que la metilación se produce de forma efectiva en ambientes ricos en materia orgánica, donde el MeHg es acumulado debido a la retención que sobre él ejerce la materia húmica del horizonte orgánico [64].

Tabla 5.5. Recuperación de MeHg adicionado en diferentes matrices sólidas. Los resultados representan el valor medio \pm tres veces la desviación estándar (n = 4).

Muestra	MeHg adicionado (ng g ⁻¹)	MeHg recuperado (ng g ⁻¹)	MeHg recuperado (%)
Sílice	81.3 \pm 3.0	86.2 \pm 3.4	106.0 \pm 4.2
SBMO	113.8 \pm 3.9	104.9 \pm 9.1	91.9 \pm 8.0
SAMO	130.5 \pm 8.4	129.1 \pm 1.8	98.9 \pm 1.3

Los resultados del estudio de validación se muestran en la tabla 5.5., mostrando que el método funciona bien con todas las matrices ensayadas. Se obtuvieron recuperaciones por encima del 90% del MeHg adicionado en todos los casos. En particular, en el suelo con un contenido elevado en materia orgánica la recuperación fue excelente (98,9%) así como la precisión obtenida (1,3%), indicando que la presencia de materia orgánica en niveles habituales a los encontrados en suelos donde se desarrolla vegetación no supone ningún inconveniente a la hora de aplicar el método. Estos resultados demuestran que el método propuesto puede ser empleado para la evaluación del contenido de MeHg y por extensión del mercurio orgánico en suelos de características muy diferentes en cuanto a

humedad, materia orgánica y otros parámetros fundamentales de los mismos, lo cual es indicativo de la versatilidad del esquema propuesto.

5.6. APLICACIÓN A AGUAS

5.6.1. Justificación y Objetivo

En aguas naturales se pueden identificar dos especies de Hg principales: Hg inorgánico (Hg^{2+}) y MeHg (CH_3Hg^+) [65]. Aunque los niveles usuales de Hg y MeHg en aguas superficiales son muy bajos (alrededor de 1 ng L^{-1} de Hg total y $0,05 \text{ ng L}^{-1}$ de MeHg) [66], el elevado potencial de biomagnificación de las especies metiladas de Hg en organismos acuáticos y peces (con factores de bioconcentración de hasta 10^7) [67-69] hace que la determinación de estas especies sea de una gran importancia a la hora de valorar los riesgos que implica para el ecosistema su presencia en las aguas. La química del agua es un factor muy importante que controla la bioacumulación y concentración de MeHg y otras especies organomercuríicas en los peces. Las concentraciones de Hg, MeHg, oxígeno disuelto, carbono orgánico disuelto, nitrógeno orgánico particulado, sulfatos y temperatura del agua son variables que influyen tanto en la metilación del Hg como en la toma y acumulación del MeHg por los peces. Por otra parte, las características físicas de los alrededores de las vías fluviales, influyen decisivamente en la cantidad de Hg disponible para su biometilación [70]. En concreto, en áreas mineras, donde las concentraciones de Hg en suelos y sedimentos pueden ser muy elevadas, los procesos de metilación pueden dar lugar a una elevada transferencia de MeHg y otras especies organomercuríicas desde los suelos y sedimentos a las vías de agua del entorno [71].

La mayoría de los métodos analíticos empleados para la determinación de las especies organomercuriales en aguas se derivan de aquellos empleados para su determinación en sedimentos y muestras biológicas. El aislamiento y preconcentración del MeHg presente en la muestra de agua suele conseguirse por medio de una resina [72], un disolvente extractante [73, 74] o un adsorbente basado en el grupo sulfidrilo [75]. Las técnicas para su determinación incluyen principalmente técnicas cromatográficas (GC, HPLC) acopladas con diversos equipos de detección (CV-AAS, CV-AFS,...). Estos métodos,

al igual que los empleados para el estudio de sedimentos y muestras biológicas, no están exentos de dificultades. Algunos trabajos señalan que el Hg inorgánico puede extraerse conjuntamente con el Hg orgánico mediante formación de complejos con iones yoduro [76]. También se han observado transformaciones de especies alquilmecúricas (tanto metil como etilmercurio) a mercurio inorgánico en presencia de altas concentraciones de Fe(III) bajo condiciones fuertemente ácidas [37]. Estas transformaciones pueden alterar significativamente la especiación del Hg en aguas, y su efecto se incrementa con el tiempo de extracción, habiéndose observado que empiezan a ser importantes cuantitativamente al cabo de 8 horas desde la acidificación de las muestras [37]. Finalmente, algunos autores sostienen que el ritmo de producción y la concentración final de MeHg es proporcional a la concentración de sulfato y al tiempo [77]. Esto da lugar a que los métodos convencionales empleen etapas adicionales con vistas a reducir o eliminar estas interferencias, lo que hace que aumente considerablemente el tiempo necesario para el análisis de las muestras.

El objetivo de este estudio fue desarrollar una modificación del método de determinación de Hg orgánico en suelos para su aplicación a muestras de agua, con la premisa principal de mantener la simplicidad del método propuesto y su compatibilidad con el equipo de determinación DMA-80 empleado.

5.6.2. Desarrollo experimental

5.6.2.1. Toma de muestras

Con el fin de estudiar el comportamiento del MeHg en matrices reales procedentes de áreas mineras de Hg, se escogieron 3 puntos (punto 2, 6 y 8) pertenecientes a un programa de muestreo realizado en el área minera de Asturias, cada uno localizado en un distrito minero diferente. El punto 2, está localizado aguas abajo de la escombrera e instalaciones metalúrgicas de la mina de “La Soterraña”. Por su parte el punto 6, fue establecido en el Río San Tirso, aguas abajo de la antigua planta metalúrgica y de la escombrera de la mina de “El Terronal” y que actualmente se haya encapsulada. Finalmente el punto 8 corresponde a un pantano cercano a la mina de “Los Ruedos”, donde se acumulan los lixiviados ácidos de la mina.

5.6.2.2. Preparación de muestras artificiales

Se prepararon muestras artificiales mediante la adición de concentraciones conocidas de MeHg a diferentes tipos de aguas. Por otro lado, con el fin de comprobar la idoneidad del método propuesto para extraer selectivamente las especies orgánicas de Hg, se añadió una concentración mayor de Hg^{2+} . Se seleccionó una proporción $\text{Hg}^{2+}/\text{MeHg}$ de 10:1. En primer lugar, el método se desarrolló empleando una disolución de MeHg en agua ultrapura. En una segunda experiencia, se prepararon muestras adicionadas de MeHg en matrices reales de aguas recogidas en el área minera mencionada.

Las muestras artificiales se prepararon añadiendo el volumen correspondiente de una disolución patrón certificada de cloruro de MeHg de 1000 mg L^{-1} (Merck, Darmstadt, Alemania) y de Hg(II) (Johnson Matthey GmbH Alpha, Karlsruhe, Alemania) a la muestra de agua correspondiente hasta completar un volumen de 1 L. Las concentraciones adicionadas de las especies de Hg fueron $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de MeHg y $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} .

5.6.2.3. Procedimiento experimental. Adaptación a su empleo para muestras de agua

Las modificaciones introducidas en el procedimiento experimental del método para suelos fueron mínimas con vistas a mantener la simplicidad de éste. Teniendo en cuenta esta premisa, los pasos para lograr la extracción selectiva y la determinación de las especies orgánicas de Hg vienen reflejados en el diagrama de flujo de la figura 5.13.

En primer lugar, las muestras de agua se filtraron con el fin de poder diferenciar entre el contenido de MeHg disuelto en el agua y el asociado a materia particulada. Debido al bajo contenido de MeHg en aguas, los volúmenes de muestra con los que se trabaja suelen ser relativamente elevados. En este caso se eligió un volumen de muestra de 200 mL, lo cual descarta la posibilidad de realizar la extracción en tubos de centrífuga que tienen una capacidad menor (50 mL). Por ello se realizó la extracción en embudos de decantación de un volumen adecuado (250 mL) que además permiten obtener un contacto óptimo entre las fases implicadas en el proceso de extracción. Por otra parte,

con el fin de lograr la extracción de los compuestos orgánicos de Hg, se aciduló el medio mediante la adición de HCl concentrado.

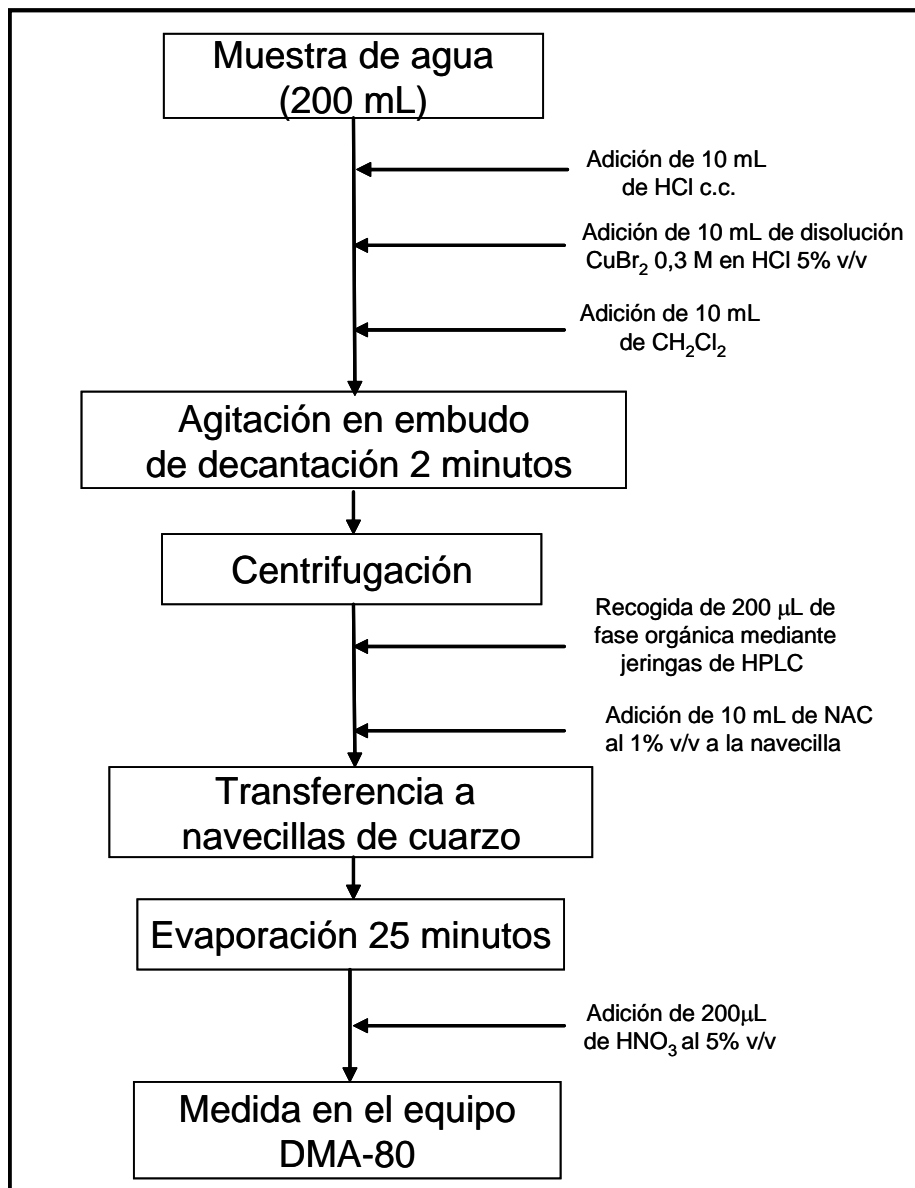


Figura 5.13. Diagrama de flujo del método de determinación de la fracción de Hg Orgánico en aguas.

5.6.3. Discusión

Los resultados de la aplicación del método a las muestras artificiales preparadas se muestran en la tabla 5.6.

Tabla 5.6. Recuperación de MeHg en muestras de agua artificiales. Los resultados representan el valor medio \pm tres veces la desviación estándar.

Matriz	MeHg adicionado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Hg ²⁺ adicionado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	n	Hg total recuperado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	MeHg recuperado (%)
Agua ultrapura	10	100	6	9,46 \pm 0,27	94,6 \pm 2,7
Punto 2	10	100	3	9,21 \pm 0,49	92,1 \pm 4,9
Punto 6	10	100	3	9,43 \pm 0,25	94,3 \pm 2,5
Punto 8	10	100	3	10,11 \pm 0,43	101,1 \pm 4,3

De estos resultados, parece deducirse que el MeHg se extrae casi cuantitativamente, pues las recuperaciones obtenidas fueron superiores al 92% para todas las matrices ensayadas. Al mismo tiempo, dado que las concentraciones de Hg recuperadas no exceden a las correspondientes añadidas de MeHg, no parece ocurrir una coextracción de Hg(II) inorgánico (Hg²⁺), lo que demuestra la selectividad del CH₂Cl₂ para extraer las especies organomercuríicas.

Por otra parte, con el fin de estudiar la influencia de la matriz sobre la extracción de especies organomercuriales, se realizó una caracterización de las aguas en cuanto a algunos de los parámetros más importantes que afectan a estas especies. Por estos motivos, se analizaron los contenidos de I⁻, Fe(III) y SO₄²⁻ en las tres matrices estudiadas. Los resultados se muestran en la tabla 5.7.

Tabla 5.7. Datos fisicoquímicos significativos de las muestras estudiadas

Muestra	I ⁻ (mgL ⁻¹)	Fe(III) (mgL ⁻¹)	SO ₄ ²⁻ (mgL ⁻¹)
Punto 2	< 0.02	0.12	41
Punto 6	< 0.02	0.04	206
Punto 8	< 0.02	788	115

Los resultados muestran que ninguna de las tres matrices presenta una concentración significativa de I⁻ capaz de promover la extracción del Hg inorgánico. Respecto al contenido de Fe(III), los puntos 2 y 6 no presentaron una concentración relevante. En cambio, el punto 8 contiene una elevada concentración y en consecuencia, es predecible que pudieran ocurrir pérdidas de MeHg por transformación a Hg inorgánico. Sin embargo, la recuperación de MeHg en esta matriz fue cuantitativa (tabla 5.6), de lo que se infiere que estas transformaciones no tienen lugar. Esto puede ser debido probablemente, al corto tiempo necesario para extraer las especies orgánicas de Hg, que

posiblemente impide que puedan darse en una extensión significativa. Algo similar debe ocurrir en el caso de la influencia del contenido en SO_4^{2-} . Todos los puntos mostraron concentraciones significativas de este parámetro, especialmente los 6 y 8, y sin embargo, los porcentajes de recuperación de MeHg obtenidos (tabla 5.7) no reflejan la posibilidad de que haya podido producirse una transformación no deseada. Nuevamente, la velocidad del tratamiento y análisis parecen ser las razones de la carencia de interferencias de este parámetro.

5.7. CONCLUSIONES DEL ESTUDIO

- Se ha desarrollado una nueva metodología rápida y sencilla que permite la determinación de la fracción de mercurio orgánico presente en muestras de suelos.
- Una de las principales ventajas del procedimiento desarrollado es su rapidez, pues permite la determinación de mercurio orgánico en un tiempo ligeramente inferior a 3 horas.
- El uso de CuBr_2 , que combina los efectos del Br^- como formador de complejos y del Cu(II) que desplaza a los iones organomercuriales, demostró ser adecuado para la extracción cuantitativa de las especies orgánicas de mercurio en este tipo de muestras.
- La realización simultánea de las etapas de digestión y extracción con CH_2Cl_2 permite acortar el tiempo de desarrollo del proceso y mejorar la operatividad del mismo, al tiempo que no resta eficacia al rendimiento de la extracción
- De la misma forma, la etapa de evaporación se optimizó mediante el uso de jeringas de HPLC para la retirada de fase orgánica y cubetas de cuarzo para evaporarla, haciéndola plenamente compatible con la posterior determinación en el equipo DMA-80.
- El equipo DMA-80 demostró ser adecuado para la medida de MeHg en las condiciones e intervalo de concentración estudiados.
- La utilización de muestras con MeHg añadido demostró ser apropiada para la optimización de las diferentes etapas del procedimiento, así como para la validación del mismo.
- El método propuesto demostró ser apropiado para muestras de suelos de diferente naturaleza, en particular para suelos ricos en materia orgánica que son los más

susceptibles a procesos de metilación. Se obtuvieron recuperaciones de mercurio orgánico por encima del 90% para todas las matrices estudiadas.

- Gracias a su rapidez y simplicidad, es posible suponer que el método propuesto puede ser utilizado para evaluar el grado de metilación del Hg en un suelo. Esto podría emplearse, por ejemplo, para la monitorización periódica del contenido en mercurio orgánico de una zona, pudiéndose estimar, de una forma rápida y sencilla, la evolución de la fracción orgánica de mercurio en los suelos y por tanto el riesgo que conlleva para el medioambiente.
- Finalmente, el método modificado para su aplicación a muestras de aguas permite la extracción selectiva de las especies organomercuriales estudiadas, presentes en este tipo de muestras. Su principal ventaja es la alta velocidad de aplicación y análisis, ya que por un lado permite analizar un número considerable de muestras por día y por otro, permite mantener la simplicidad del método, minimizando los efectos de matriz, haciendo innecesaria la aplicación de etapas adicionales con el fin de evitar la influencia de factores que afectan habitualmente a otros métodos de especiación de Hg. Por tanto, el método desarrollado parece ser adecuado para su aplicación al estudio del contenido de especies organomercuriales en aguas de áreas mineras.

5.8. REFERENCIAS

- [1] Kraepiel AML, Keller K, Chin HB, Malcolm EG, Morel FMM (2003) *Environ Sci Technol* 37: 5551-5558.
- [2] Porvary P, Verta M (1995) *Water Air Soil Pollut* 80: 765-773.
- [3] Wiener JG, Krabbenhoff DP, Heinz GP, Scheuhammer AM (2003) Ecotoxicology of Mercury, Chapter 16 in D.J. Hoffman, B.A. Rattner, G.A. Burton, Jr., and J. Cairns, Jr. (editors). *Handbook of Ecotoxicology, 2nd edition*. CRC Press, Boca Raton Florida, USA, pp. 407-461.
- [4] Ebinghaus R, Wilken R D (1993) *Appl Organomet Chem* 7:127-135.
- [5] Nagase H, Ose Y, Sato T, Ishikawa T (1982) *Sci Total Environ* 25: 133-142
- [6] Inoko M (1981) Studies on the photochemical decomposition of organomercurial-methylmercury (II) chloride. *Environ Pollut (Series B)* 2: 3-10.
- [7] Suda I, Suda M, Hirayama K (1993) *Arch Toxicol* 67: 365-368

- [8] USGS (2000) “*Mercury in the Environment*” Fact Sheet 146-00
- [9] Kudo A, Turner R R *Mercury contamination of Minamata Bay: Historical Overview and Progress Towards Recovery* in Ebinghaus R, Turner R R, Lacerda L D, Vasiliev O, Salomons W (Eds.) *Mercury Contaminated Sites*, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 1999; 143-158.
- [10] Purves D, *Fundamental aspects of pollution control and environmental sciences*, in: *Trace Elements Contamination of the Environment*, vol. 7, Elsevier, New York, 1987, p. 17.
- [11] Guimaraes JRD, Meili M, Hylander LD, Castro Silva E, Roulet M, Narvaez JB, Alves Lemos R (2000) *Sci Total Environ*, 261: 99-107
- [12] Guimaraes JRD, Roulet M, Lucotte M, Mergler D, *Sci Total Environ* (2000) 261: 91-98.
- [13] Heaven S, Ilyushchenko M A, Kamberov K (2000) *Sci Total Environ* 260:45-55
- [14] Biester H, Gosar M, Muller G (1999) *J Geochem Explor* 65: 195-204
- [15] Wallschläger D, Desai MVM, Splenger M, Wilken RD (1998) *J Environ Qual* 27: 1034-1044.
- [16] Wilken RD, Hintelmann H (1999) *Water Air Soil Pollut* 56: 427-437
- [17] Wallschläger D, Hintelmann H, Evans RD, Wilken RD (1995) *Water Air Soil Pollut* 80: 1325-1329.
- [18] Hintelmann H, Wilken RD (1995) *Sci Total Environ* 166:1-10
- [19] Westöö G (1968) *Acta Chem Scand* 22: 2277-2280
- [20] Padberg S, Burow M, Stoepler M (1993) *Fres J Anal Chem* 346: 686-688
- [21] Bulska E, Baxter DC, Frech W (1991) *Anal Chim Acta* 249: 545-554
- [22] Rezende MCR, Campos RC, Curtius A J (1993) *J Anal Atom Spectrom* 8: 247-251
- [23] Horvat M, Byrne AR, May K (1990) *Talanta* 37: 207-212
- [24] Alli A, Jaffe R, Jones R (1994) *J High Resolut Chromatogr* 17: 745-748
- [25] Lansens P, Baeyens W (1990) *Anal Chim Acta* 228: 93-99
- [26] Cela R, Lorenzo RA, Rudi E, Botana A, Valino M, Casals C, García MS, Mejuto MC, Bollain MH (1992) *Environ Technol* 13: 11
- [27] Horvat M, Bloom NS, Liang L (1993) *Anal Chim Acta* 281: 135-152

- [28] Bloom NS (1989) *Can J Aquat Sci* 46: 1131-1140
- [29] Magos L (1971) *Analyst* 86: 847-853
- [30] Ramalhosa E, Río Segade S, Pereira E, Vale C, Duarte A (2001) *Anal Chim Acta* 448: 135-143
- [31] Oda CE, Ingle JD (1981) *Anal Chem* 53: 2305-2309
- [32] Hempel M, Hintelmann H, Wilken R D (1992) *Analyst* 117: 669-672
- [33] Beauchemin P, Siu KWM, Berman S S (1988) *Anal Chem* 60: 2587-2590
- [34] Telmi Y, Norwell VE (1976) *Anal Chim Acta* 85: 203-210
- [35] Thibaud Y, Cossa D (1989) *Appl Organomet Chem* 3: 257-266
- [36] Lee YH, Mowrer J (1989) *Anal Chim Acta* 221: 259-268
- [37] Yan Y, Kingston HM, Boylan HM, Rahman GMM, Shah S, Richter RC, Link DD, Bhandari S (2003) *Anal Bioanal Chem* 375: 428-436.
- [38] Bloom NS, Colman JA, Barber L (1997) *Fresenius J Anal Chem* 358: 371-377
- [39] Liang L, Horvat M, Cernichiari E, Gelein B, Balogh S (1996) *Talanta* 43: 1883-1888
- [40] Lorenzo RA, Vázquez MJ, Carro AM, Cela R (1999) *Trends in Anal Chem* 18: 410-416
- [41] Canário J, Antunes P, Lavrado J, Vale C (2004) *Trends in Anal Chem* 23: 799-806
- [42] Emteborg H, Bjorklund E, Odmand F, Karlsson L, Mathiasson L, Frech W, Baxter DC (1996) *Analyst* 121: 19-29
- [43] Hintelmann H, Falter R (1997) *Fresenius J Anal Chem* 358: 363-370
- [44] Hintelmann H (1999) *Chemosfere* 39: 1093-1105vb
- [45] High SC (1987) *J Assoc Off Anal Chem* 70: 667-674
- [46] Emteborg H, Baxter DC, Sharp M, Frech W (1995) *Analyst* 120: 69-77
- [47] Hintelmann H, Evans RD, Villeneuve JY (1995) *J Anal Atom Spectrom* 10: 619-624
- [48] Prange A, Jantzen E (1995) *J Anal At Spectrom* 10: 105-109

- [49] Langseth W (1986) *Fresenius Z Anal Chem* 325: 267-271
- [50] Camman K, Robecke M, Bettmer J (1994) *Fresenius J Anal Chem* 350: 30-33
- [51] Bushee B S (1988) *Analyst* 113: 1167-1170
- [52] Sum SCK, Pangand H, Houk RS (1992) *Anal Chem* 64: 2444-2450
- [53] Sanz-Medel A, Aizpun B, Marchante JM, Segovia E, Fernández M L, Blanco E (1994) *J Chromatogr A* 683: 233-243
- [54] Aizpun B, Fernández ML, Blanco E, Sanz-Medel A (1996) *J Anal At Spectrom* 9: 1279-1284
- [55] Cai Y, Jaffe R, Jones R (1997) *Environ Sci Technol* 31: 302-305
- [56] Falter R, Ilgen G (1997) *Fresenius J Anal Chem* 358: 407-410
- [57] Liang L, Horvat M, Bloom NS (1994) *Talanta* 41: 371-379
- [58] Meites L (1963) (ed) *Handbook of analytical chemistry*. McGraw-Hill, New York
- [59] Vazquez MJ, Carro AM, Lorenzo RA, Cela R (1997) *Anal Chem* 69: 221-225
- [60] Gaona X, Valiente M (2003) *Anal Chim Acta* 480: 219-230
- [61] Bloom NS, Preus E, Katon J, Hiltner M (2002) *Anal Chim Acta* 479: 233-248
- [62] Bloom NS, Crecelius EA (1983) *Mar Chem* 14: 49-59
- [63] Logar M, Horvat M, Akagi H, Pihlar B (2002) *Anal Bioanal Chem* 374: 1015-1021
- [64] Roulet M, Guimaraes JRD, Lucotte M (2001) *Water Air Soil Pollut* 128: 41-60
- [65] Martínez Blanco R, Tagle Villanueva M, Sánchez Uría JE, Sanz-Medel A (2000) *Anal Chim Acta* 419: 137-144.
- [66] Horvat M, Liang L, Bloom NS (1993) *Anal Chim Acta* 282: 153-168
- [67] Bloom NS, Watras CJ (1989) En Vernet JP (Ed.) *Heavy Metals in the Environment*, Vol. 2, CEP Consultants p. 349
- [68] Znovariv T, Horvat M, Stegnar P (1987) En Vernet JP (Ed.) *Heavy Metals in the Environment*, Vol. 2, CEP Consultants p. 461
- [69] Craig PJ (1986) En Craig PJ (Ed.) *Organometallic Compounds in the Environment*, Wiley, New York, pp. 65-10

- [70] Mason RP, Laporte JM, Andres S (2000) *Arch Environ Contam Toxicol* 38: 283-297
- [71] Gray JE, Hines M, Higuera PL, Adatto I, Lasorsa BK (2004) *Environ Sci Technol* 38: 4285-4292
- [72] Minagawa K, Takisawa Y, Kifune I (1979) *Anal Chim Acta* 115: 103-110
- [73] Chiba K, Yoshida K, Tanabe K, Haraguchi H, Fuwa K (1983) *Anal Chem* 55: 453-460
- [74] Paudyn A, Van Loon JC (1986) *Fresenius Z Anal Chem* 325: 369-376
- [75] Lee YH (1987) *Int J Environ Anal Chem* 29: 263-276
- [76] Decadt G, Baeyens W, Bradley D, Goeyens L (1985) *Anal Chem* 57: 2788-2791
- [77] Gilmour CC, Henry EA, Mitchell M (1992) *Environ Sci Technol* 26: 2281-2287

6.1. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVO

Como ya se ha mencionado en el capítulo 4 dedicado a la descripción de métodos de extracción, las extracciones secuenciales se emplean con frecuencia para evaluar la movilidad del Hg en suelos y sedimentos. Los agentes extractantes utilizados pueden ser muy variados según la fracción que se desea extraer selectivamente, existiendo incluso distintos agentes que, en principio, pueden lixiviar una misma fracción [1]. A pesar de la gran variedad de agentes extractantes, un rasgo común a los métodos de extracción empleados en el estudio del Hg, es que la mayoría de ellos incluyen una etapa de lixiviación ácida con disoluciones fuertemente concentradas de HNO₃ o HCl [2-6], previa a la extracción o digestión de la fracción menos disponible de Hg. Ambos ácidos, en principio son capaces de lixiviar la mayoría de especies de Hg más solubles con la excepción del cinabrio (HgS) y otras formas de Hg más refractarias como aquellas ocluidas en las redes de los silicatos. El empleo de uno u otro ácido, sin embargo, suele hacerse con propósitos diferentes. El HCl suele emplearse para disolver selectivamente diferentes fases de Fe y Mn (óxidos y sulfuros) en suelos y sedimentos, conjuntamente con los metales traza asociados a estas fases [4]. También se puede utilizar para determinar el grado de piritización de metales traza [7], para estudiar la movilización del Hg tras la exposición de sedimentos anóxicos a ambientes oxidantes [8] o incluso para predecir la toxicidad de suelos y sedimentos [9]. El HNO₃, por su parte, se ha empleado para determinar “mercurio móvil” (lábil, asociado a carbonatos y elemental) en sedimentos costeros [10, 11]. Revis utilizó HNO₃ 12M para extraer todas las especies de Hg (óxidos, cloruros, amalgamas y especies orgánicas) con excepción del HgS en suelos contaminados [2]. También se ha utilizado para extraer el Hg asociado a materia orgánica refractaria en sedimentos [12] y otros autores lo utilizan para extraer la fracción de Hg elemental una vez extraídas otras fracciones más lábiles [5, 6].

En todos los casos mencionados, es de esperar, en principio, que en muestras procedentes de suelos mineros, el cinabrio, que forma la fracción más insoluble del mercurio y no se incluye en ninguna de las fases extraídas por ambos ácidos, no se vea afectado por ninguno de ellos, ni siquiera a concentraciones elevadas. Sin embargo, y dado que la interacción entre las especies de Hg y las disoluciones extractantes están afectadas de manera decisiva por las características de la matriz sólida en la que se

encuentran, esta última afirmación puede no ser correcta en todos los casos. Al contrario, la presencia de determinadas especies y grupos de compuestos puede promover la extracción del HgS, la especie más estable e insoluble de Hg, aumentando su solubilidad en uno u otro ácido. De manera similar, las condiciones experimentales, como concentración, temperatura y tiempo de extracción también pueden afectar a la solubilización del cinabrio presente en los suelos. Por tanto, la elección de uno u otro ácido como agente extractante en un proceso de extracción secuencial, previo a la etapa de lixiviación de la fracción de Hg unido a sulfuro, puede influir de manera decisiva en los resultados que se obtengan en esta última fracción y en las conclusiones que se extraigan acerca de la geoquímica y movilidad del Hg en los suelos.

Con el fin de evaluar de manera más profunda la capacidad de extracción del Hg en HCl y HNO₃, con vistas a la posible utilización de uno de estos ácidos en un esquema de extracción secuencial propio, se realizó un estudio detallado, tanto bibliográfico como experimental, para dilucidar cómo influye la presencia de determinadas especies en la solubilización del cinabrio en suelos de áreas mineras. De esta forma, se planificaron y llevaron a cabo una serie de tareas que, a grandes rasgos, se pueden resumir en los siguiente puntos:

1. Ensayos de solubilidad de las especies de Hg más comunes en disoluciones concentradas de ambos ácidos.
2. Estudio bibliográfico y experimental de la solubilidad del HgS en presencia de compuestos potencialmente capaces de promover su solubilidad en ambos ácidos.
3. Ensayos de extracción de Hg en un suelo de un área minera al que previamente se le adicionaron concentraciones diferentes de HgS para estudiar la influencia del contenido del mismo en la capacidad de extracción del Hg con uno u otro ácido.
4. Ensayos de extracción de Hg con ambos ácidos, en un suelo de un área minera al que previamente se le adicionaron cantidades fijas de los posibles compuestos interferentes encontrados en la bibliografía.

6.2. ENSAYOS DE SOLUBILIDAD DE ESPECIES DE Hg EN DISOLUCIONES CONCENTRADAS DE HCl y HNO₃

6.2.1. Objetivo

El propósito de estos ensayos es evaluar la solubilidad, en disoluciones concentradas de ambos ácidos, de algunas de las especies de Hg más comunes presentes en suelos y otras muestras medioambientales que pueden encontrarse tanto de forma natural como antropogénica.

6.2.2. Procedimiento experimental

Se seleccionó una concentración para ambos ácidos del 50% v/v en un compromiso entre ser lo suficientemente concentrada como para disolver cantidades significativas de los reactivos de Hg, y lo suficientemente diluida como para no provocar un gran deterioro del material de laboratorio empleado y permitir su utilización de una forma segura y fiable.

Los compuestos elegidos para estos ensayos fueron reactivos comerciales de HgCl₂, HgO en sus dos variedades amarillo y rojo, HgS, Hg₂Cl₂, HgSO₄ y Hg(NO₃)₂. Adicionalmente se evaluó la solubilidad de una muestra de cinabrio natural procedente de la mina de Almadén previamente pulverizada a un tamaño de grano adecuado. La totalidad de ellos, al igual que el HNO₃ (65%) y el HCl (37,5%) fueron suministrados por la firma Merck (Darmstadt, Alemania). En estos estudios se empleó agua ultrapura procedente de un sistema Milli-Q (Millipore Bedford, MA, EEUU).

Los ensayos se realizan por triplicado de la forma siguiente: una muestra de 0,1 g del compuesto de Hg correspondiente se pesa en un vaso de precipitados de 25 mL. A continuación, en una campana de gases, se añaden lentamente 10 mL de una disolución HNO₃ al 50% v/v o HCl al 50% v/v, según el ensayo se realice para uno u otro ácido. La muestra así preparada se mantiene en agitación magnética durante una noche a temperatura ambiente. Se filtran las disoluciones resultantes a través de filtros de celulosa de 0,45 µm, se diluyen con agua hasta un volumen final de 50 mL y finalmente

se analizan mediante ICP-AES empleando las condiciones operatorias descritas en la tabla 3.3.

6.2.3. Resultados y discusión

Los resultados de estos ensayos se muestran en la tabla 6.1. En ellos podemos observar como la mayoría de las especies de Hg se disuelven cuantitativamente en ambas disoluciones, con la excepción del HgS y Hg₂Cl₂. Aunque algunos autores han encontrado cantidades apreciables de calomelanos (Hg₂Cl₂) en residuos de tostación de cinabrio en áreas mineras [13] e incluso en suelos de plantas de clorálcali [14], en general, ésta no es una especie común en muestras medioambientales. Por el contrario, el HgS es una de las formas más comunes de Hg en suelos y sedimentos, especialmente aquellos procedentes de áreas mineras, donde incluso puede llegar a suponer más del 90% del Hg total presente en el suelo [15, 16]. El ensayo adicional con la muestra de cinabrio natural procedente de la mina de Almadén, demostró que éste presenta un comportamiento similar al HgS comercial en términos de solubilidad, es decir, no se disuelve de forma significativa en ninguno de los ácidos ensayados.

Tabla 6.1. Porcentajes de disolución de especies de Hg en HNO₃ al 50% v/v y HCl al 50% v/v. Los resultados representan el valor medio \pm desviación típica (n = 3)

Especie	HNO ₃	HCl
HgCl ₂	93.5 \pm 0.4	95.4 \pm 0.5
HgO amarillo	97.7 \pm 1.0	101.2 \pm 1.2
HgO rojo	95.0 \pm 0.8	97.8 \pm 0.7
HgS	0.10 \pm 0.08	0.10 \pm 0.04
Hg ₂ Cl ₂	0.60 \pm 0.20	4.7 \pm 0.9
HgSO ₄	97.6 \pm 7.4	95.6 \pm 2.5
Hg(NO ₃) ₂	103.2 \pm 1.3	98.7 \pm 0.5
Cinabrio	0.40 \pm 0.10	0.30 \pm 0.03

A la vista de estos resultados, es lógico suponer que las diferencias que se encuentran en la capacidad de extracción del Hg en muestras de suelos empleando uno u otro ácido, sólo pueden ser explicados a través de la influencia de la matriz sobre la solubilidad del Hg asociado al sulfuro presente en el suelo, puesto que constituye la fracción más insoluble. De esta forma, los estudios y ensayos posteriores se enfocaron hacia la investigación de la extracción del HgS en ambos ácidos, con vistas a evaluar los

factores que pueden determinar y limitar su empleo en un procedimiento de extracción secuencial.

6.3. ESTUDIO BIBLIOGRÁFICO Y EXPERIMENTAL DE LA SOLUBILIDAD DEL HgS EN PRESENCIA DE COMPUESTOS POTENCIALMENTE CAPACES DE PROMOVER SU SOLUBILIDAD EN AMBOS ÁCIDOS

6.3.1. Objetivo

El propósito de este estudio es investigar la solubilidad del HgS en disoluciones concentradas de HNO₃ y HCl en presencia de cantidades significativas de diferentes compuestos potencialmente capaces de promover la solubilidad del HgS en HNO₃ o HCl. Con este fin se ha realizado un estudio bibliográfico previo, para establecer cuales pueden ser estos compuestos. Posteriormente, se han realizado ensayos de solubilidad de HgS en presencia de cantidades significativas de los mismos para evaluar y comprobar su influencia sobre la solubilidad del HgS en ambos ácidos. Los ensayos experimentales se han llevado a cabo a dos temperaturas diferentes: baja temperatura (temperatura ambiente) y alta temperatura (aproximadamente 70°C), con objeto de evaluar la influencia de la temperatura sobre la acción de estas especies.

6.3.2. Estudio bibliográfico de compuestos capaces de promover la solubilidad del HgS en HNO₃ y HCl

Algunos estudios indican que ciertos compuestos pueden promover la solubilidad del HgS en disoluciones ácidas. El HgS se disuelve en disoluciones fuertemente ácidas de KI por formación de complejos HgI₄²⁻ [17]. Se ha observado un efecto similar en presencia de disoluciones ácidas de cloruros alcalinos [18]. Mikac *et al.* encontraron que tanto el cinabrio como el metacinabrio, se disolvían en HNO₃ concentrado en presencia de disoluciones de cloruro, pudiendo conseguirse incluso una disolución cuantitativa de ambas formas de HgS empleando concentraciones de 0,01 mol L⁻¹ de NaCl [19]. Los sulfatos y sales alcalinas de metales en su estado de valencia más elevado, como Cu(II)

o Fe(III) pueden disolver parcialmente el HgS en disoluciones de HCl [18]. También se ha investigado el comportamiento del HgS en presencia de disoluciones ácidas de Fe(II) [18]. Se ha demostrado que el Fe y Mn disueltos aumentan la solubilidad del HgS y otras especies de Hg bajo condiciones ácido-reductoras [4]. Adicionalmente, es predecible que, en presencia de nitratos solubles, pueda disolverse el HgS en disoluciones altamente concentradas de HCl a través de la formación de agua regia. Finalmente, otros estudios señalan que la presencia de Fe(III) en aguas ácidas de lixiviación de minas (pH < 2) puede liberar Hg(II) a través de la oxidación del cinabrio [20].

De acuerdo con la bibliografía citada, se seleccionaron los compuestos KI, KCl, FeCl₃, Fe₂O₃, CuSO₄, FeSO₄, MnO₂ y NaNO₃ como posibles compuestos cuya presencia en un suelo puede promover la solubilidad del HgS en HNO₃ o HCl, y que a partir de ahora denominaremos genéricamente como compuestos potencialmente interferentes. La razón para esta denominación, es que su presencia en un suelo o sedimento, puede producir la solubilización parcial del HgS presente en el suelo al aplicar un método de extracción secuencial que emplee HNO₃, o en su caso HCl, induciendo a errores en la cuantificación de la fracción de Hg unido a sulfuro y, por tanto, en la estimación de la movilidad del Hg presente en los suelos.

6.3.3. Procedimiento Experimental

Los reactivos sólidos de cada uno de los compuestos seleccionados fueron suministrados por la firma Merck (Darmstadt, Alemania) con excepción del FeCl₃ (Probus, Barcelona, España). Además se prepararon dos disoluciones patrón de Fe(III) de 5 g L⁻¹ de concentración, cada una de ellas preparada a través de la dilución de sendas disoluciones patrón de 10 g L⁻¹ de concentración en medio HNO₃ y HCl.

Para la realización de los ensayos se pesaron aproximadamente 0,1 g de HgS y 0,5 g del reactivo correspondiente en un vaso de precipitados. Se añadieron 10 mL de HNO₃ al 50% v/v o HCl al 50% v/v según correspondiera. Se agitaron todas las muestras en una placa de agitación magnética durante una noche. En el caso de las muestras correspondientes a los ensayos a alta temperatura se ajustó la temperatura de la placa

para que las disoluciones tuviesen una temperatura aproximada de 70 °C. Las disoluciones resultantes se filtraron a través de filtros de celulosa de 0,45 µm, se diluyeron con agua ultrapura hasta un volumen final de 50 mL y se analizaron mediante ICP-AES empleando las condiciones operatorias descritas en la tabla 3.3. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

6.3.4. Resultados y discusión

Los resultados de los ensayos de solubilidad para ambos ácidos se muestran en las figuras 6.1 y 6.2. En estas se representan los porcentajes de recuperación de Hg expresado como HgS a temperatura ambiente y a alta temperatura.

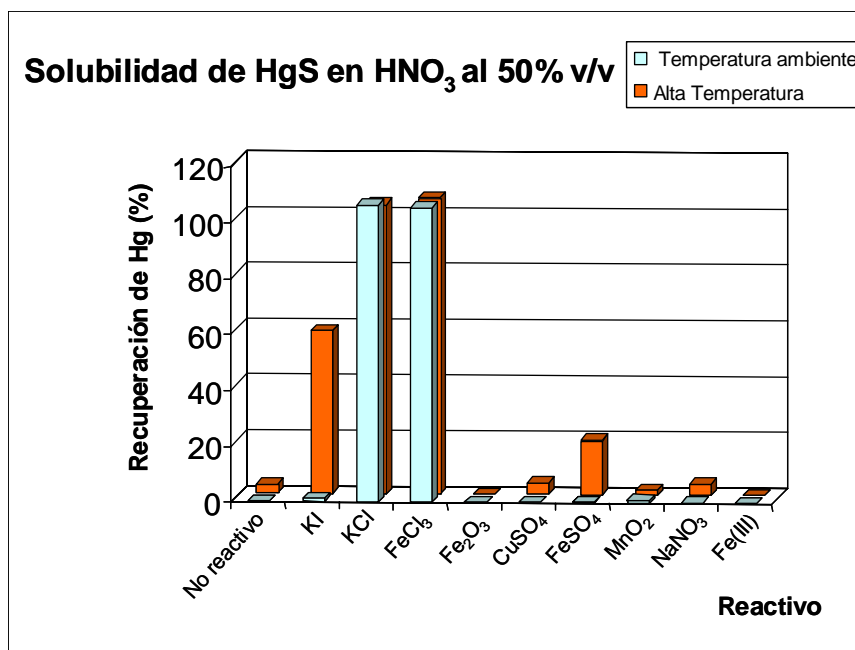


Figura 6.1. Solubilidad de HgS en presencia de compuestos potencialmente interferentes en HNO₃ al 50% v/v.

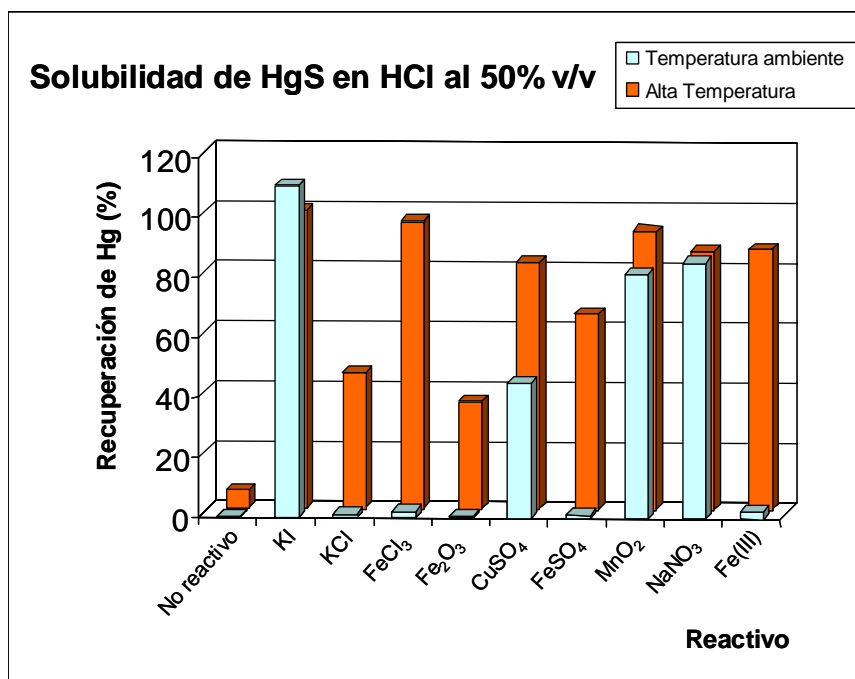


Figura 6.2. Solubilidad de HgS en presencia de compuestos potencialmente interferentes e HCl 50% v/v.

6.3.4.1. Solubilidad del HgS en HNO₃

Cuando se emplea una disolución de HNO₃ al 50% v/v (figura 6.1) en las condiciones establecidas, el KI es incapaz de promover la solubilidad del HgS a temperatura ambiente, pero puede obtenerse una disolución parcial a alta temperatura. Por el contrario, la presencia de KCl y FeCl₃ a temperatura ambiente promueve en gran medida su solubilidad, llegando a disolverse de forma cuantitativa. Por su parte, no se observó un incremento de la solubilidad del HgS en presencia de Fe₂O₃ a ninguna temperatura ensayada, ya que este reactivo fue incapaz de disolverse en ninguna de las condiciones propuestas. Estos resultados indican que el cloruro es el principal factor que promueve la solubilidad del HgS cuando se emplea una disolución de HNO₃ como agente extractante, mientras que el Fe(III) parece no tener una influencia significativa sobre la extracción del HgS en este ácido. Para dilucidar la acción de este último sobre la solubilidad del HgS, se llevó a cabo una experiencia adicional de solubilidad, consistente en el tratamiento de una cierta cantidad de HgS (aproximadamente 0,1 g) con una disolución de HNO₃ al 50% v/v conteniendo 5 g L⁻¹ de Fe(III). Como puede verse en la figura 6.1, no se observó ninguna solubilización significativa de HgS ni siquiera a temperatura elevada, lo que significa que el Fe(III) no debe ejercer una influencia importante sobre la solubilidad del HgS en medio HNO₃. El resto de reactivos ensayados, fueron incapaces de incrementar la solubilidad del HgS y sólo en el caso del FeSO₄ a alta temperatura tuvo lugar una solubilización significativa.

6.3.4.2. Solubilidad de HgS en HCl

En el caso de emplear HCl al 50% v/v (Figura 6.2), el KI, MnO₂ y NaNO₃ ejercieron un efecto muy claro sobre la solubilidad del HgS, permitiendo disolverlo casi cuantitativamente a temperatura ambiente en las condiciones ensayadas. También a esta temperatura, pudo obtenerse una disolución parcial del HgS en presencia de CuSO₄. En consecuencia, estas especies deberían considerarse como los compuestos interferentes más críticos cuando se emplea HCl como agente extractante en un esquema de extracción secuencial de Hg. Para el resto de compuestos ensayados, no fue posible observar un incremento de la solubilidad del HgS a temperatura ambiente. Por el contrario, de los resultados obtenidos es evidente que la solubilidad del HgS se

incrementa notablemente con la temperatura para todos los reactivos ensayados, alcanzando su máxima intensidad en el caso del FeCl₃ y MnO₂ con disoluciones de HgS casi cuantitativas. De la misma forma que para el estudio en HNO₃, se llevó a cabo una experiencia adicional de solubilidad para esclarecer el efecto del Fe(III) sobre la solubilidad del HgS en HCl. Se puso en contacto HgS (0,1 g) con una disolución de HCl al 50% v/v que contenía 5 g L⁻¹ de Fe(III). Como puede observarse en la figura 6.2, el efecto del Fe(III) no es relevante a temperatura ambiente. Sin embargo, a alta temperatura pudo lograrse una solubilización cuantitativa. Esto significa que la oxidación del HgS mediante el Fe(III) en disoluciones de HCl depende fuertemente de las condiciones experimentales.

En el caso de la influencia de los óxidos de Fe y Mn merece la pena realizar algún comentario adicional dada la importancia de los mismos, pues son fases comunes habitualmente presentes como constituyentes mayoritarios en los suelos. Mientras el Fe₂O₃ debido a su elevada insolubilidad causa un efecto mínimo en ambos agentes extractantes a temperatura ambiente (figuras 6.1 y 6.2), el MnO₂ se disuelve muy fácilmente en HCl, liberando especies de Hg asociadas a esta fase y promoviendo la solubilidad del HgS (figura 6.2). Este efecto no se detecta en el caso del HNO₃ (figura 6.1).

6.4. ESTUDIO DE LA EXTRACCIÓN DEL Hg EN UN SUELO DE UN ÁREA MINERA. INFLUENCIA DEL CONTENIDO DE HgS

6.4.1. Objetivo

El propósito de estos ensayos es investigar la influencia del contenido de cinabrio presente en el suelo sobre la extracción del Hg. Algunos estudios han señalado que el contenido de cinabrio puede afectar de manera importante la concentración de Hg extraída en un proceso de extracción. Al aumentar la cantidad de cinabrio presente en el suelo se incrementa, no sólo el área superficial disponible para los procesos de oxidación y liberación de Hg por parte del suelo, sino que además, también se favorece la readsorción del Hg(II) liberado a través de la oxidación [20-22].

6.4.2. Procedimiento experimental

Para estudiar el efecto que ejerce el contenido de cinabrio en un suelo sobre la extracción del Hg con HNO₃ o HCl, empleamos un suelo de un área minera de cinabrio. Como muestra representativa de un suelo minero se ha elegido una muestra denominada P9 procedente de una parcela previamente seleccionada de Almadén en el programa de muestreo del proyecto Biorrenew. Esta parcela corresponde al área de actividad minera y metalúrgica más reciente [23] y sus características se describen detalladamente en el capítulo correspondiente al estudio de suelos de Almadén (capítulo 8, apartados 8.5.1 y 8.6.2). Considerando esta muestra como un suelo típico de un área minera de cinabrio, se añadieron sobre ella concentraciones crecientes de HgS comercial. Las adiciones preparadas fueron de 1, 10, 25 y 100 µg g⁻¹. El procedimiento de preparación de las adiciones se realiza a través de la dilución de una cantidad conocida de HgS comercial en el suelo P9 y su adecuada homogeneización en un homogeneizador automático. A partir de esta muestra dopada, se obtienen por diluciones sucesivas las empleadas en este estudio. Para comprobar la validez de estas adiciones, se determina el Hg total en todas ellas, comparándolo con el contenido del mismo en la muestra sin adicionar. En la tabla 6.2 se resumen los resultados de estas determinaciones. Como puede comprobarse, los resultados obtenidos son bastantes concordantes con las concentraciones a añadir previamente calculadas.

Tabla 6.2. Concentraciones de Hg en las adiciones preparadas. Los resultados representan el valor medio ± desviación típica (n = 3).

Adición	Hg Total (µg g ⁻¹)	Hg adicionado (µg g ⁻¹)
Suelo P9	77,4 ± 0,3	0
Suelo P9 + 1 µg g ⁻¹	78,6 ± 0,5	1,2
Suelo P9 + 10 µg g ⁻¹	88,3 ± 0,4	10,9
Suelo P9 + 25 µg g ⁻¹	102,3 ± 0,6	24,9
Suelo P9 + 100 µg g ⁻¹	185,3 ± 0,8	107,9

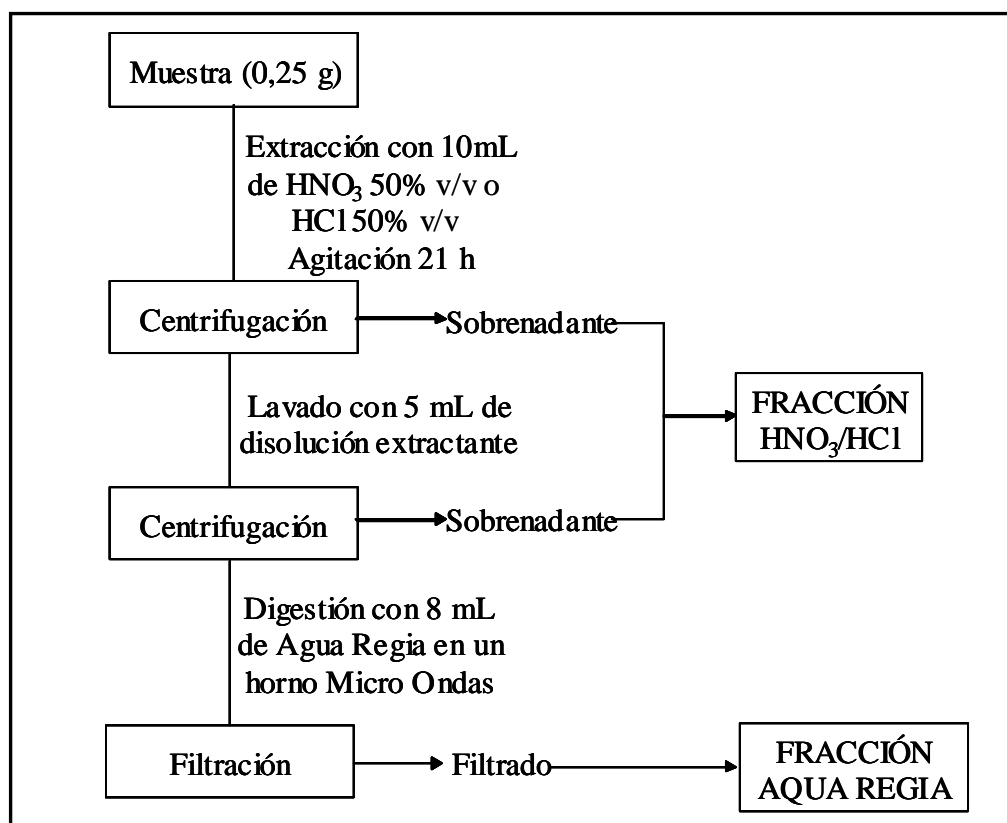


Figura 6.3. Diagrama de flujo del método de extracción empleado.

Se somete a la muestra P9, sola y dopada con concentraciones crecientes de HgS, a un método de extracción secuencial en dos etapas. El método aplicado se describe en el diagrama de flujo de la figura 6.3, y es similar al desarrollado para la determinación del contenido de Hg unido a sulfuro en suelos de Almadén [3]. Con vistas a comparar y evaluar la capacidad de extracción del Hg en ambos ácidos, se emplean alternativamente como agentes extractantes en la primera etapa del método, sendas disoluciones de HNO₃ o de HCl al 50% v/v, en las mismas condiciones experimentales. Todos los experimentos de extracción se llevan a cabo a temperatura ambiente (aproximadamente 20 °C) y por triplicado. La cuantificación del Hg recuperado en los extractos se realiza mediante la técnica CV-AAS con las condiciones operatorias descritas en la tabla 3.1.

6.4.3. Resultados y Discusión

En todos los casos la suma de las recuperaciones de Hg obtenidas en las dos etapas del método aplicado fueron cercanas al 100%. Los resultados de la aplicación de la primera etapa del método de extracción secuencial a la muestra P9 sola y con las adiciones de HgS se muestran en la figura 6.4. en las dos etapas del método aplicado fueron cercanas al 100%. En lo que respecta a la extracción del Hg en la muestra de suelo seleccionado, ésta se comporta de manera muy diferente para los dos ácidos estudiados. Cuando se empleó una disolución de HNO₃, las recuperaciones obtenidas, expresadas como porcentaje de Hg extraído en esa fracción con respecto al Hg total (Hg presente en la muestra + Hg adicionado), son muy bajas, en torno al 4% del Hg total presente en la muestra. Sin embargo, en el caso del HCl, las recuperaciones resultan muy superiores, por encima del 50%, lo que significa que el Hg es liberado y movilizado de una forma mucho más intensa en presencia de HCl.

En un intento de explicar este comportamiento la muestra de suelo seleccionada (P9) se ha sometido a una caracterización química en relación con los compuestos potencialmente interferentes establecidos en el estudio bibliográfico del punto anterior. Los resultados de esta caracterización se muestran en la tabla 6.3.

Tabla 6.3. Concentraciones de compuestos potencialmente interferentes en la muestra P9.

Compuesto	I ⁻	Cl ⁻	NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	Cu	Fe	Mn
Concentración (µg g ⁻¹)	<20	<20	<20	25	15	26580	6000

Como puede verse, el contenido de haluros solubles es muy bajo, lo cual podría explicar la baja recuperación de Hg con HNO₃. De la misma manera, los contenidos de sulfatos, nitratos y Cu(II) parecen ser insuficientes para promover la solubilidad del cinabrio en HCl. Sin embargo, esta muestra de suelo presenta contenidos muy elevados de Fe y Mn. El análisis mineralógico de la muestra mediante Difracción de Rayos X, pone de manifiesto que el Fe se encuentra predominantemente como hematita (Fe₂O₃). De los ensayos de solubilidad anteriores, se desprende que el Fe₂O₃, es un compuesto bastante insoluble y sólo promueve la solubilización del HgS bajo condiciones enérgicas. Sin embargo, los óxidos de Mn se disuelven fácilmente en HCl y pueden promover la extracción del Hg por medio de la reducción del HgS presente en el suelo. Otros

experimentos adicionales han demostrado que existe una buena correlación entre el contenido de Hg recuperado en la extracción con HCl y la concentración de Mn en el suelo.

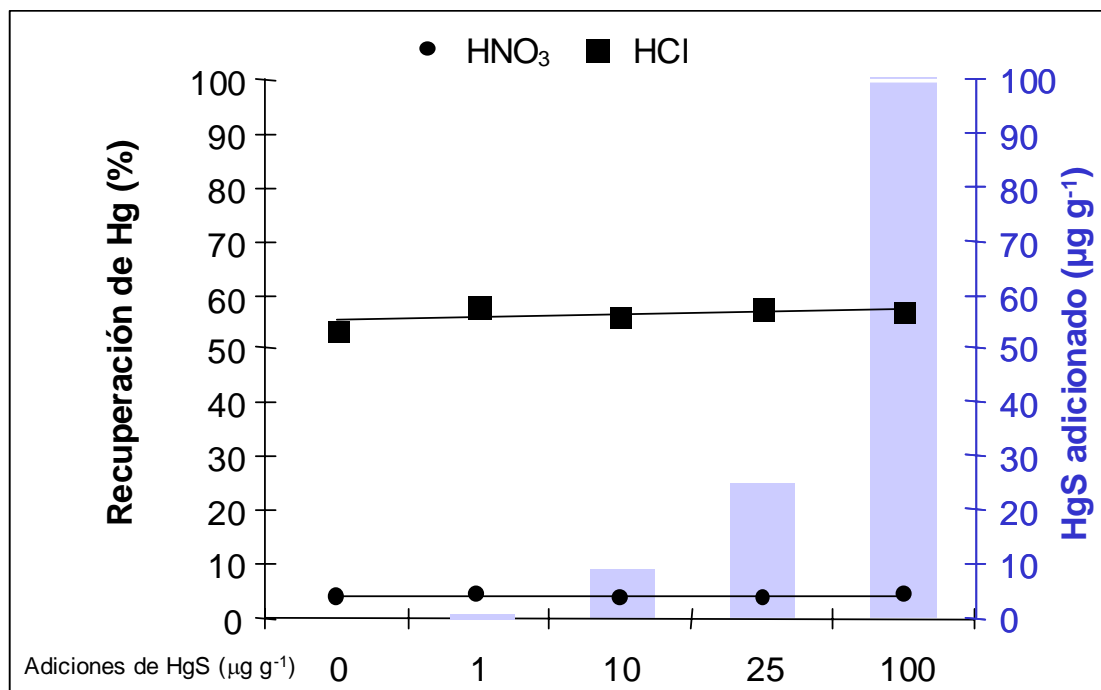


Figura 6.4. Extracción con HNO₃ y HCl al 50% v/v de la muestra de suelo P9 y sus correspondientes adiciones de diferentes concentraciones de HgS.

Respecto al estudio de la influencia del contenido de HgS en el suelo, las recuperaciones que se obtienen con ambos ácidos son similares para todas las adiciones preparadas (Figura 6.4). Estos resultados sugieren que la influencia de la matriz sobre la capacidad de extracción del Hg no depende del contenido de HgS presente en el suelo.

6.5. ESTUDIO DE LA EXTRACCIÓN DEL Hg EN SUELOS CON COMPUESTOS POTENCIALMENTE INTERFERENTES ADICIONADOS.

6.5.1. Justificación y objetivo

La incapacidad de los agentes extractantes ensayados en este estudio para lixiviar Hg unido a sulfuro en suelos ha sido descrita por algunos autores [2, 3, 5, 6]. Sin embargo, en estos estudios no se consideró que la presencia de algunos compuestos en el suelo (por ejemplo, yoduros, cloruros, Fe(III), óxidos de Mn, sulfatos o nitratos), puede

resultar crítica, al promover la solubilidad del Hg unido a sulfuro en HNO₃ o HCl, como se desprende de los resultados obtenidos en los ensayos de solubilidad con estos compuestos (apartado 6.3). Por tanto, la extracción del Hg en suelos con un contenido elevado de HgS, como pueden ser suelos de áreas mineras de cinabrio, puede estar fuertemente afectada por la interacción entre la disolución extractante y los compuestos potencialmente interferentes presentes en el suelo. Como consecuencia de esta interacción, puede producirse una lixiviación parcial del Hg unido a sulfuro y, de esta manera, alterar las conclusiones acerca de la distribución y movilidad del Hg en los suelos.

El objetivo de estos ensayos es evaluar la posible promoción de la extracción del Hg en un suelo real de un área minera de cinabrio en presencia de los compuestos potencialmente interferentes, establecidos previamente en el estudio de solubilidad.

6.5.2. Procedimiento experimental

Empleando el mismo procedimiento que en los ensayos anteriores, se realizaron adiciones de KI, KCl, FeCl₃, Fe₂O₃, CuSO₄, FeSO₄, MnO₂ y NaNO₃ de concentración 10% en peso sobre la muestra P9 procedente de Almadén. A estas adiciones se les aplicó el procedimiento de extracción secuencial descrito en el apartado anterior, empleando en la primera etapa alternativamente HNO₃ o HCl al 50% v/v. La determinación de Hg en los extractos se realizó mediante la técnica CV-AAS.

6.5.3. Resultados y discusión

Los resultados obtenidos en las extracciones con HNO₃ y HCl se muestran en las figuras 6.5 y 6.6.

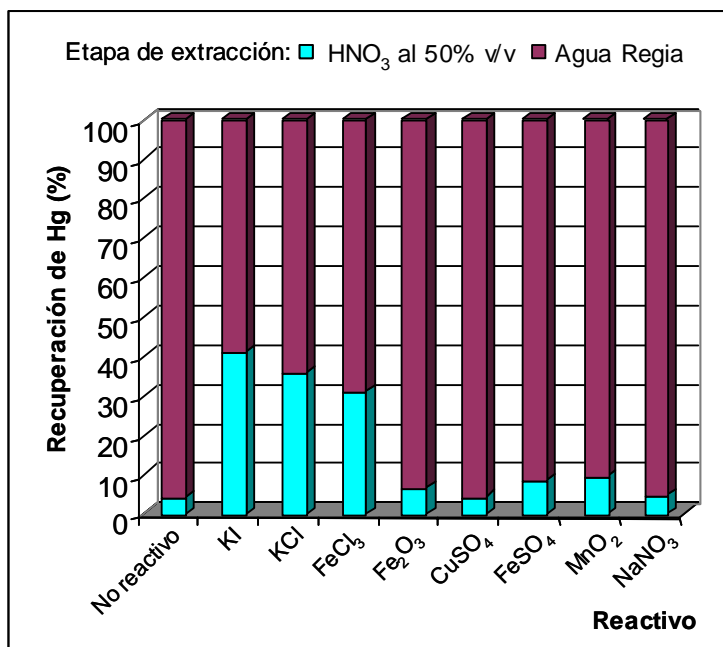


Figura 6.5. Estudio de la influencia de la adición de un 10% de cada uno de los compuestos potencialmente interferentes sobre la extracción del Hg en la muestra de Almadén P9 con HNO₃ al 50% v/v.

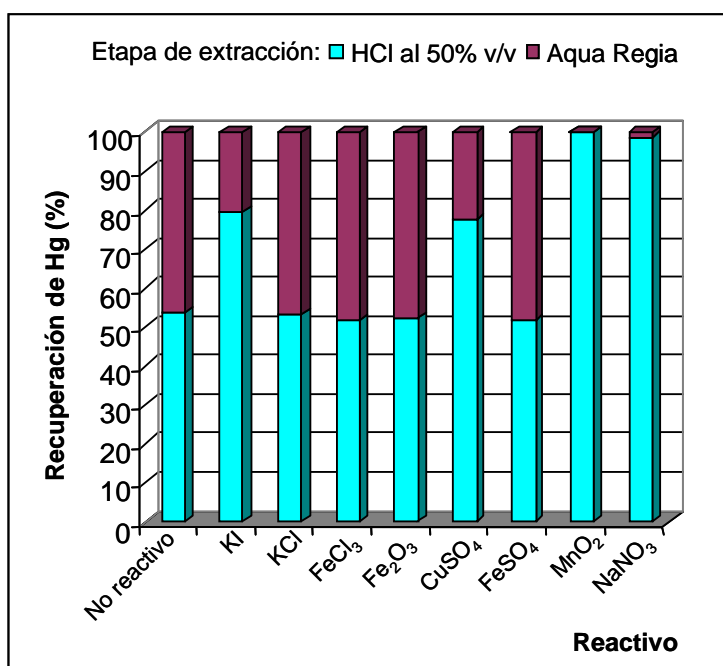


Figura 6.6. Estudio de la influencia de la adición de un 10% de cada uno de los compuestos potencialmente interferentes sobre la extracción del Hg en la muestra de Almadén P9 con HCl al 50% v/v.

6.5.3.1. Extracción con HNO₃

Los resultados de las extracciones con HNO₃ en la muestra P9 y en las adiciones preparadas sobre ella se resumen gráficamente en la figura 6.5. En éstos puede observarse que la extracción de Hg se incrementa notablemente en presencia de KCl y FeCl₃ con respecto a la muestra sin adición, lo cual era predecible atendiendo a los resultados obtenidos en los ensayos de solubilidad a temperatura ambiente (figura 6.1). Sin embargo, al contrario de lo que ocurrió en estos ensayos previos, con el KI se logró la mejor recuperación de Hg, ligeramente superior a la lograda en presencia de KCl y FeCl₃. Por su parte, la presencia de Fe y Mn, así como de CuSO₄ y NaNO₃ tuvo una escasa influencia sobre la recuperación de Hg en la primera etapa.

6.5.3.2. Extracción con HCl

En los resultados que se muestran en la figura 6.6, puede observarse que la extracción con HCl al 50% v/v se ve mucho menos afectada cuando se añaden compuestos potencialmente interferentes. Al contrario de lo que cabía esperar de las experiencias de solubilidad, los compuestos KCl, FeCl₃, Fe₂O₃ y FeSO₄ no afectaron a la extracción del Hg en el suelo estudiado en comparación con la extracción de la muestra sin adición en este ácido. En cambio, en presencia de KI y CuSO₄, la recuperación de Hg aumentó de manera significativa. Algunos autores han señalado que el Cu(II) compite con el Hg(II) por los sitios activos en suelos y otras matrices sólidas, liberando de esta forma especies de Hg(II) a la disolución [21]. Sin embargo, el efecto más importante sobre la extracción del Hg se produjo en el caso del MnO₂ y NaNO₃ con los que se obtuvieron recuperaciones cuantitativas. Como puede observarse, el efecto del Mn es claramente mayor que aquél observado para el Fe. Algunos estudios han demostrado que, bajo condiciones reductoras, los óxidos y oxihidróxidos de Fe y Mn presentes en sedimentos son reducidos, liberando el Hg adsorbido o coprecipitado en su superficie [23]. En los ensayos de solubilidad previos, se demostró que la oxidación del HgS en presencia de Fe(III) sólo ocurre cuando las condiciones experimentales son muy enérgicas, como por ejemplo al aumentar la temperatura del ensayo. Otros autores han demostrado que los óxidos de Mn son extraídos con más facilidad que los óxidos de Fe [24, 25], lo cual podría explicar la mayor recuperación de Hg observada en presencia de MnO₂ bajo las

condiciones experimentales utilizadas en estos ensayos de extracción. Por otro lado, son numerosos los trabajos que pueden encontrarse en la bibliografía en los cuales se emplea el agua regia para disolver HgS (cinabrio) [3, 5, 6, 18]. Por tanto parece lógico pensar que en presencia de concentraciones significativas de nitratos alcalinos el HgS puede ser extraído cuando se emplea una disolución de HCl como extractante.

6.6. CONCLUSIONES DEL ESTUDIO

- En relación con la extracción del HgS, los resultados obtenidos de la aplicación de ambos ácidos (HNO₃ y HCl) como agentes extractantes, demuestran que ninguno de ellos se encuentra totalmente exento de efectos de matriz por parte de los constituyentes más comunes de los suelos, pudiendo estos promover la solubilidad de este compuesto en ambos ácidos.
- En el suelo procedente del área de Almadén, la disolución del Hg fue mucho mayor cuando se empleó una disolución de HCl como agente extractante, lo que indica que para estos suelos, el HCl presenta unos efectos de matriz muy pronunciados, probablemente como consecuencia de la oxidación del cinabrio por parte de los óxidos de Mn presentes en el suelo (ver con mayor detalle en el capítulo 8). Por el contrario, el HNO₃ presentó unos efectos de matriz mucho menores en las condiciones ensayadas, demostrando ser más adecuado como extractante de especies de Hg en base a que no promueve de forma tan intensa la solubilidad del HgS.
- Los ensayos de solubilidad y extracción demostraron que la presencia de algunos compuestos en el suelo puede resultar crítica a la hora de disolver parcialmente la fracción de Hg unido a sulfuro. Los haluros promueven la solubilidad del HgS cuando se emplea una disolución de HNO₃. Por tanto no debería emplearse este ácido como agente extractante en suelos con un elevado contenido de éstos, a menos que sean eliminados previamente en las etapas anteriores. Por su parte, en el caso del empleo de HCl, la disolución del HgS es promovida en presencia de KI, CuSO₄, MnO₂ y NaNO₃. En consecuencia, el uso de este ácido como extractante en suelos con elevadas concentraciones de estos compuestos debería ser descartado.

- El contenido en HgS (cinabrio) en un suelo no parece influir sobre la extracción del mismo en ninguno de ambos ácidos.
- Asimismo, para la mayoría de los compuestos ensayados, la solubilización del HgS se incrementa notablemente a alta temperatura. Esto sugiere que la intensidad de los efectos producidos por estos compuestos sobre la solubilidad del cinabrio, depende fuertemente de las condiciones experimentales. Por tanto, con vistas a su empleo en un hipotético procedimiento de extracción secuencial, no deberían emplearse altas temperaturas en las etapas en las que se emplee uno u otro ácido.
- Finalmente, si bien ambos ácidos se emplean comúnmente en el estudio de la movilidad del Hg a través de métodos de extracción secuencial, los resultados que se obtienen no son comparables y la elección de uno u otro debe depender de propósitos específicos. En este sentido, para realizar una selección apropiada y poder prever la posible solubilización parcial de las fases más inertes de Hg, se recomienda realizar previamente una apropiada caracterización de las muestras que incluya la determinación de los componentes mayoritarios, minoritarios y elementos traza.

6.7. REFERENCIAS

- [1] Sladek C, Gustin MS (2003) *Appl Geochem* 18: 567-576.
- [2] Revis, N.W., Osborne, T.R., Sedgley, D., King, A. (1999): Quantitative Method of Determining the Concentration of Mercury(II) Sulphide in Soils and Sediments. *Analyst* 114, pp. 823-825.
- [3] Fernández-Martínez, R., Rucandio, M.I. (2003) *Anal Bioanal Chem* 375: 1089-1096.
- [4] Gagnon, C, Pelletier E, Mucci, A (1997) *Mar Chem* 59:159-176.
- [5] Han Y, Kingston H M, Boylan H M, Rahman G M, Shah S, Richter R C, Link D C, Bhandari S, (2003) *Anal Bioanal Chem* 375:428-436
- [6] Bloom N S, Preus E, Katon J, Hiltner J (2003) *Anal Chim Acta* 479:233-248
- [7] Huerta-Díaz MA, Morse JW (1992) *Geochim Cosmochim Acta* 56: 2681-2702.

- [8] Morse JW (1994) *Mar Chem* 46: 1-6.
- [9] Di Toro DM, Mahony JD, Hansen DJ, Scout KJ, Carlsin AR, Ankley GT (1992) *Environ Sci Technol* 34: 1871-1876.
- [10] Fabbri D, Lombardo M, Trombini C, Vassura I, Zavoli E, Horvat M (2001) *RMZ – Mater Geoenviron* 48: 186-192.
- [11] Fabbri D, Gemelli S, Lagnone L, Misericocchi S, Trombini C, Vassura I (2000) *Annali di Chimica* 91: 563-575.
- [12] Rodríguez Matín-Dimeadios RC, Wasserman JC, García Bermejo LF, Amouroux D, Berzas Nevado JJ, Donard OFX (2000) *J Environ Monitor* 2: 360-367.
- [13] Gray JE (2004) Geological Society of America, *Abstracts with Programs*, Vol. 36, No. 5, p. 125.
- [14] Carvalinho Winmöller C, Wilken RD, Figueiredo Jardim W (1996) *Water Air Soil Pollut* 89: 399-416.
- [15] Davis A, Bloom N S, Que Hee S S, (1997) *Risk Analysis* 17:557-569.
- [16] CDM (Camp Dresser & McKee) (1992) *Risk Assesment, Almaden Quicksilver County Park: Final Report*. (CDM, Denver, CO).
- [17] Vasiliev et Vorobeva, (1939) *J Gen Chem (U.S.S.R)*, 9:1764
- [18] Band P, Brusset H, Jousset-Dubien J, Lamure J, Pascal P (1962) *Nouveau Traité de Chemie Minerale*, Masson et Cie Editeurs, Paris
- [19] Mikac N, Foucher D, Niessen S, Lojen S, Fischer J C (2003) *Anal Bioanal Chem* 377:1196-1201
- [20] Burkstaller J E, McCarthy P L, Parks G A (1975) *Environ Sci Technol* 9:676-678
- [21] Horvat M, Bloom N S, Liang L (1993) *Anal Chim Acta* 281:135-152
- [22] Gilliam F S, Richter D D (1988) *J Soil Sci* 39:209-214
- [23] Chao T T (1972) *Soil Sci Soc Amer Proc* 36:764-768
- [24] Gobeil C, Cossa D (1993) *Can J Fish Aquatic Sci* 50:1794-1800
- [25] Tessier A, Campbell P G C, Bisson M (1979) *Anal Chem* 51:844-851

7.1. OBJETIVO

La mayoría de los métodos de extracción clásicos, empleados para el estudio de otros metales, no son apropiados para la evaluación de la movilidad y disponibilidad del Hg en suelos y sedimentos, debido a las propiedades físicas y químicas únicas que presentan numerosas especies de Hg. Por otra parte, los métodos de extracción desarrollados específicamente para el estudio del Hg, suelen conducir a resultados contradictorios, o en ocasiones la información que proporcionan es insuficiente para evaluar la geoquímica del Hg de forma apropiada.

En este estudio se desarrolla un método de extracción secuencial específico para la evaluación de la geoquímica del Hg en muestras sólidas, estableciendo un esquema de extracciones selectivas con el fin de cuantificar el Hg asociado a fases relevantes dentro de las muestras. Las fracciones operacionalmente definidas son: “especies lábiles de Hg”, “Hg asociado a ácidos húmicos y fúlvicos”, “Hg asociado a óxidos e hidróxidos amorfos de Fe y Mn”, “Hg elemental” y “Hg asociado a sulfuro”.

Se realizan numerosos ensayos experimentales con el fin de optimizar las condiciones experimentales de cada extracción y mejorar, en la medida de lo posible, la operatividad del método para facilitar su aplicación en el laboratorio. Igualmente se evalúa la selectividad y viabilidad de cada agente extractante a través de ensayos de extracción, en muchos de los cuales se emplearon muestras con especies añadidas representativas de la fase de Hg a extraer. Se estudia la interacción entre las diferentes etapas de extracción, comparando los resultados obtenidos mediante la aplicación individual y secuencial de las diferentes etapas establecidas en el esquema desarrollado. Finalmente el método se contrasta y valida a través de su aplicación a materiales de referencia de diferente naturaleza.

A continuación se explica el desarrollo y optimización de las diferentes etapas de extracción establecidas.

7.2. PRIMERA ETAPA : ESPECIES LÁBILES DE Hg

7.2.1. Justificación y Objetivo

El Hg, al igual que otros metales presentes en suelos y sedimentos, puede encontrarse débilmente adsorbido en la superficie de los mismos [1] o asociado a ligandos formando complejos débiles y altamente solubles [2]. De forma menos frecuente, también es posible encontrar especies libres de Hg (II), que algunos autores denominan “especies reactivas” [3, 4]. Todas estas formas de Hg constituyen la fracción más móvil y potencialmente disponible de Hg. Esta fracción, además, suele estar estrechamente relacionada con los procesos de biometilación, ya que estos tienen lugar a través de la acción bacteriana sobre el Hg(II) disponible en el suelo en condiciones preferentemente anaerobias [5, 6]. Por tanto, la determinación de esta fracción en una muestra medioambiental es muy importante para estimar la concentración de Hg más disponible y propenso a su liberación por lixiviación u otros fenómenos ambientales.

Algunos autores han desarrollado métodos de extracción secuencial que incluyen una o varias etapas, con el fin de determinar esta fracción de Hg. Habitualmente, siguiendo el esquema de los métodos de extracción clásicos establecido por Tessier *et al.* [7], el contenido más disponible de Hg y otros metales, suele diferenciarse en dos fracciones operacionalmente definidas que se denominan genéricamente “Fracción Soluble en Agua” y “Fracción Intercambiable” [7-9]. La primera de ellas se obtiene sometiendo la muestra de suelo o sedimento a una lixiviación con agua desionizada o bidestilada con tiempos de extracción que pueden variar entre 1-18 horas [2, 8-10]. La muestra sólida puede haber sido o no secada previamente. Dentro de la “Fracción Soluble en Agua”, serán lixiviadas las especies iónicas solubles en agua o complejos con materia orgánica soluble u otros constituyentes [11]. Por su parte, la “Fracción Intercambiable” suele obtenerse sometiendo la muestra sólida a una extracción con un electrolito en disolución acuosa. Los reactivos utilizados para este propósito suelen ser sales de ácidos y bases fuertes o sales de ácidos y bases débiles a pH 7 [1], lixivando los metales traza adsorbidos sobre la superficie sólida a través de débiles interacciones electrostáticas, así como aquéllos que pueden ser liberados por procesos de intercambio iónico y que pueden ser coprecipitados con carbonatos [11]. Estas dos fracciones constituyen una medida de la concentración de metales traza que puede liberarse de forma más

inmediata al medio ambiente. Este es el caso más habitual en la distribución del Hg en suelos y sedimentos. En los métodos de extracción de Hg publicados, la suma de ambas fracciones no suele suponer un porcentaje significativo del Hg total presente en la muestra, encontrándose con frecuencia el contenido de este por debajo del límite de detección de la técnica empleada en su determinación.

Teniendo en cuenta la baja proporción de Hg presente en las fracciones obtenidas mediante los métodos de extracción “clásicos” y que en ambos casos éstas representan su contenido más móvil y potencialmente más disponible, parece lógico pensar que esta fracción pueda ser extraída en una sola etapa de extracción que incluya todas las fases de Hg más solubles. Esta “fusión” de ambas etapas en una sola, además, desde un punto de vista operativo ofrece la ventaja de permitir la simplificación del procedimiento de extracción secuencial, disminuyendo así el tiempo de análisis y las posibles contaminaciones y pérdidas de analito, a la vez que la información obtenida es prácticamente idéntica a la que pudiera derivarse de la aplicación de sendas etapas de extracción.

En el presente estudio, a la hora de abordar la selección de un posible agente extractante para la fracción más móvil de Hg, se ha tenido en cuenta que, en principio, en esta fracción se incluyen, no sólo aquellas especies de Hg solubles en agua o que se liberan a través de procesos de intercambio iónico a pH neutro, sino además, aquellas especies inorgánicas de Hg(II) que puedan encontrarse en forma libre en suelos y sedimentos, tales como cloruros, sulfatos, nitratos u óxidos, que pueden ser fácilmente movilizadas y transportadas por procesos naturales, sirviendo como substrato a procesos de metilación. Estas especies pueden ser especialmente relevantes en muestras muy concretas, tales como residuos de calcinación de mineral de Hg (cinabrio) y otros suelos de áreas mineras, donde los procesos de reducción de Hg elemental a compuestos de Hg(II) pueden jugar un papel muy importante en la movilización del Hg [3, 12]. Al conjunto de todas estas especies se le denominó genéricamente como “Especies Lábil de Hg” o “Fracción Lábil” y así será denominada esta fracción operacionalmente definida en lo sucesivo en el desarrollo y aplicación del método de extracción secuencial propio. Una extracción apropiada de la “Fracción Lábil” deberá emplear un disolvente capaz de disolver todas estas especies en un grado aceptable. La lixiviación de estos compuestos

puede llevarse a cabo, en general, empleando como extractantes disoluciones diluidas de ácidos fuertes [13]. Teniendo en cuenta los resultados del estudio de extracción del Hg desarrollado en el capítulo anterior, el mejor candidato para su utilización como agente extractante es el ácido nítrico. Éste es capaz de disolver todas las posibles especies presentes en la “Fracción Lábil”, tal y como ha sido definida más arriba, a la vez que presenta menos interferencias con los componentes más habituales de los suelos. Por este motivo, se seleccionó el ácido nítrico para la extracción de esta fracción.

El objetivo en esta etapa es optimizar y poner a punto una extracción basada en el empleo de HNO₃ como reactivo selectivo capaz de disolver todas las especies incluidas en la “Fracción Lábil”. Dado que son numerosos los estudios que demuestran que el HNO₃ es capaz de disolver aquellas especies incluidas en las dos primeras fracciones de los “métodos clásicos”: “soluble en agua” e “intercambiable” [14, 15], el estudio se centra en la lixiviación de las especies inorgánicas de Hg(II) más lábiles que puedan encontrarse presentes en suelos y sedimentos, y que según algunos estudios son cloruros, nitratos, sulfatos y óxidos [16]. Para ello, en primer lugar se realizaron experiencias de solubilidad de compuestos puros en una disolución diluida de HNO₃, tras lo cual se llevaron a cabo experiencias de extracción en muestras, previamente preparadas, de los compuestos puros de Hg a extraer añadidos sobre una matriz inerte (sílice). A través de estas experiencias fueron optimizados los parámetros que afectan a la extracción de estas especies. Los parámetros estudiados y optimizados fueron: concentración de HNO₃, volumen de disolución extractante, número de extracciones, modo de agitación y tiempo de extracción.

7.2.2. Desarrollo Experimental

7.2.2.1. Ensayos de Solubilidad de compuestos puros de Hg en HNO₃ 0,2 N

7.2.2.1.1. Objetivo

Teniendo en cuenta la bibliografía consultada, todas las especies de Hg incluidas en este estudio presentan una elevada solubilidad en HNO₃ [13]. Entre ellas, el HgO, en sus variedades roja y amarilla, es la especie que presenta una menor solubilidad, oscilando según diversos estudios entre $2,4 \cdot 10^{-4}$ y $1,6 \cdot 10^{-1}$ moles L⁻¹ HgO [17]. Con el propósito

de evaluar y comprobar la solubilidad de estas especies en una disolución diluida de HNO₃ se llevaron a cabo experiencias con compuestos puros de Hg de los denominados anteriormente como “lábilés”. Las condiciones experimentales en estos ensayos fueron fijadas de acuerdo con aquellas previamente seleccionadas para los posteriores ensayos de extracción, partiendo de una cantidad definida del correspondiente compuesto puro.

7.2.2.1.2. Procedimiento experimental

A 10 mg de los compuestos HgCl₂, Hg(NO₃)₂, HgSO₄ y HgO en sus dos variedades roja y amarilla, se añaden 10 mL de una disolución HNO₃ 0,2 N en vasos de precipitados de 25 mL. Las disoluciones se tratan con agitación magnética durante 3 horas. Se realizan sendas experiencias a temperatura ambiente (aproximadamente 20 °C) y temperatura elevada (50 °C). Las disoluciones resultantes se filtran a través de filtros de celulosa de 0,45 µm, se aforan con HNO₃ 0,5 N hasta un volumen de 50 mL y finalmente se analizaron mediante la técnica ICP-AES empleando las condiciones operatorias descritas en la tabla 3.3.

7.2.2.1.3. Resultados

Los resultados de estos ensayos se muestran en la tabla 7.1. A temperatura ambiente puede lograrse la disolución cuantitativa de todas las especies de Hg con excepción del HgO en sus dos variedades, para las cuales sólo se consiguió parcialmente. El porcentaje de solubilización mejoró notablemente al aumentar la temperatura, logrando obtenerse recuperaciones por encima del 80% para ambas variedades en las condiciones ensayadas.

Tabla 7.1. Porcentajes de recuperación de compuestos puros de Hg en HNO₃ 0,2 N a temperatura ambiente (T.a.) y 50 °C. Los resultados representan el valor medio ± desviación típica (n = 3).

Compuesto	Recup. Hg (%) - T.a.	Recup. Hg (%) - 50 °C
HgCl ₂	98,5 ± 1,3	97,4 ± 1,5
Hg(NO ₃) ₂	96,2 ± 2,1	96,9 ± 1,1
HgSO ₄	94,1 ± 1,9	100,2 ± 2,4
HgO rojo	51,9 ± 3,2	82,9 ± 1,2
HgO amarillo	64,5 ± 2,8	89,8 ± 3,4

7.2.2.2. Ensayos de Extracción: Optimización de las condiciones experimentales

7.2.2.2.1. Objetivo

El objetivo de estos ensayos es evaluar la extracción de las especies lábiles de Hg con una disolución diluida de HNO₃, optimizando los parámetros experimentales que afectan a esta etapa.

7.2.2.2.2. Procedimiento experimental

Los experimentos realizados para establecer las condiciones de extracción de los compuestos denominados “lábiles” se efectúan sobre muestras artificiales preparadas por adición de estos compuestos a una matriz sólida inerte, como es la sílice. El procedimiento de preparación de estas muestras artificiales es similar a aquel descrito en el capítulo anterior (apartado 6.4.2.), empleándose reactivos comerciales de los compuestos a extraer. De esta forma, se preparan adiciones de HCl₂, Hg(NO₃)₂, HgSO₄ y HgO rojo, mediante diluciones y homogeneizaciones sucesivas hasta la obtención de una concentración final aproximada de 500 ng g⁻¹. Las concentraciones finales de Hg en las muestras preparadas se determinan mediante el método de determinación de Hg total en muestras sólidas ya descrito (ver capítulo 4, aptdo. 4.1.2) mostrando sus resultados en la tabla 7.2.

Tabla 7.2. Concentración de Hg en las muestras artificiales de los compuestos “lábiles”. Los resultados representan el valor medio ± desviación típica (n = 3).

Muestra Artificial	Conc. Hg (ng g ⁻¹)
HgCl ₂ -SiO ₂	538,3 ± 22,6
Hg(NO ₃) ₂ -SiO ₂	502,5 ± 8,1
HgSO ₄ -SiO ₂	450,3 ± 18,7
HgO-SiO ₂	582,8 ± 35,2

Una vez preparadas estas muestras, se diseñan y llevan a cabo una serie de experiencias con el fin de optimizar las condiciones de extracción de estos compuestos con una disolución diluida de HNO₃. Se pesan aproximadamente 0,5 g de muestra en un tubo de centrífuga. De acuerdo con los resultados de los ensayos de solubilidad, la temperatura se fija en 50 °C. Todos los ensayos incluyen una etapa de lavado del residuo de la extracción con 5 mL de agua bidestilada. El líquido de lavado se combina con los

sobrenadantes, se filtra a través de filtros de celulosa de 0,45 μm y se afora con HNO_3 0,5N. El contenido de Hg extraído se determina en el equipo DMA-80 mediante el método de determinación de Hg en muestras líquidas (ver capítulo 4, aptdo. 4.1.2.3).

Modo de agitación

La agitación magnética se descarta en principio debido a las dificultades que presenta. Por un lado, si se realiza dentro de los propios tubos de centrífuga, el movimiento de la varilla agitadora conduce al rápido deterioro de los mismos. Por otro lado, en el caso de realizar la extracción fuera de los tubos, por ejemplo en vasos de precipitados, es necesario llevar a cabo un paso adicional de traspaso del contenido a los tubos, que consume más tiempo y puede conducir a pérdida de muestra durante la transferencia. Se ensayan, por tanto, dos modos de agitación distintos, por ultrasonidos a diferentes tiempos de agitación y por agitación rotatoria combinada con ultrasonidos. En el primer modo, las muestras se introducen en un baño termostatzado y se someten a agitación ultrasónica continua durante un tiempo determinado. En la agitación combinada (capítulo 5, figura 5.4), las muestras se disponen en un agitador rotatorio sumergido parcialmente en un baño de ultrasonidos, previamente termostatzado a 50 °C. Las muestras se someten a una agitación rotatoria continua a 35 rpm, mientras que el baño de ultrasonidos se conecta cada 30 minutos durante periodos de 15 minutos, de forma que el tiempo de ultrasonidos es siempre igual a la mitad del tiempo total de agitación de la muestra. En la tabla 7.3, se muestra la comparación entre la recuperación de Hg en las muestras artificiales de los diferentes compuestos de Hg para ambos tipos de agitación manteniendo constantes el resto de condiciones experimentales.

Tabla 7.3. Influencia del modo de agitación en la recuperación de Hg.
Los resultados representan el valor medio \pm desviación típica (n = 3).

Muestra Artificial	Ultrasonidos (% Hg)	Agitación combinada (% Hg)
$\text{HgCl}_2\text{-SiO}_2$	30,1 \pm 3,8	62,1 \pm 1,7
$\text{Hg}(\text{NO}_3)_2\text{-SiO}_2$	40,5 \pm 2,0	61,4 \pm 2,5
$\text{HgSO}_4\text{-SiO}_2$	56,2 \pm 3,4	58,6 \pm 2,1
HgO-SiO_2	50,8 \pm 0,6	70, 2 \pm 4,9

Los resultados muestran que, en igualdad de condiciones, el procedimiento de agitación combinada es notablemente más efectivo que el procedimiento por agitación ultrasónica simple. Por este motivo, la agitación combinada fue adoptada para la realización de esta etapa de extracción y su optimización.

Tiempo de extracción

Se realizan extracciones individuales de las muestras artificiales preparadas con los diferentes compuestos a extraer. Se ensayan tiempos de extracción en el rango 0,5-3 horas, manteniendo constantes el resto de condiciones experimentales. Los resultados de esta optimización se muestran en la figura 7.1, donde se representa la cantidad de Hg recuperado (ng g^{-1}) frente al tiempo de extracción utilizado.

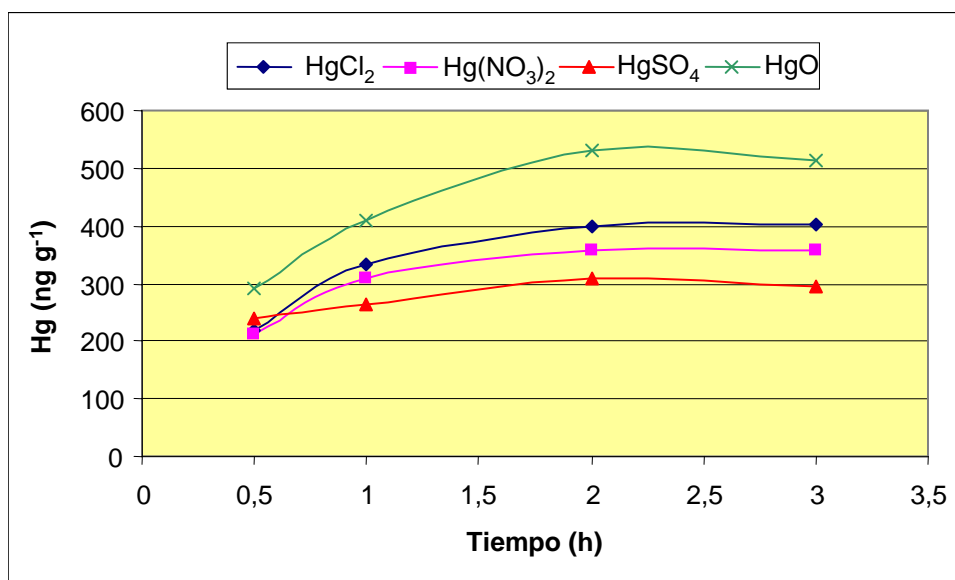


Figura 7.1. Cantidad de Hg extraído en las muestras artificiales en función del tiempo de extracción

Los resultados muestran un incremento de la cantidad de Hg extraída para todas las muestras artificiales al aumentar los tiempos de extracción. Sin embargo, a partir de 2 horas de extracción un aumento del tiempo no conlleva un incremento significativo de la concentración de Hg extraída, permaneciendo esta prácticamente constante. De esta forma, con objeto de lograr una extracción apropiada a la vez que ésta implicase el mínimo tiempo de extracción posible, el tiempo de extracción para esta etapa queda establecido en 2 horas.

Número de extracciones

El objetivo de estos ensayos es evaluar la conveniencia de realizar más de una extracción para lograr una mayor recuperación del Hg a extraer. En este punto se trata de comparar los resultados empleando una única extracción con un volumen de disolución determinado, o bien sendas extracciones empleando la mitad de disolución extractante en cada una de ellas. De esta forma, se diseñan y llevan a cabo sendas experiencias. En la primera se realiza una única extracción con 20 mL de disolución HNO₃ 0,2 N, mientras que en la segunda, realizada en idénticas condiciones a la anterior, se realizan dos extracciones sucesivas con 10 mL del mismo disolvente. Los resultados de ambas experiencias se muestran en la tabla 7.4. En éstos pueden observarse diferencias en el porcentaje de Hg recuperado no superiores al 3% para todas las muestras artificiales preparadas. Por tanto, la realización de una segunda etapa de extracción no conlleva un aumento significativo del porcentaje de Hg extraído. A la vista de estos resultados y con objeto de lograr una mayor rapidez y simplicidad del método de extracción secuencial, se concluye la realización de la lixiviación de las “Especies Lábilés de Hg” en una única extracción.

Tabla 7.4. Comparación de los porcentajes de recuperación de Hg en las muestras artificiales, logrados con una y dos extracciones sucesivas. Los resultados representan el valor medio \pm desviación típica (n = 3).

Muestra Artificial	Una extracción (% Hg)	Dos extracciones (% Hg)
HgCl ₂ -SiO ₂	73,9 \pm 0,9	75,8 \pm 3,6
Hg(NO ₃) ₂ -SiO ₂	70,8 \pm 1,4	72,8 \pm 2,9
HgSO ₄ -SiO ₂	68,6 \pm 7,5	71,5 \pm 4,3
HgO-SiO ₂	91,3 \pm 3,5	90,7 \pm 5,1

Concentración de HNO₃

A la hora de optimizar la concentración de agente extractante, se tienen en cuenta dos factores principales. En primer lugar la concentración debe ser suficiente para poder extraer los compuestos denominados “lábilés” en un porcentaje aceptable. En segundo lugar, la elección de la concentración está limitada por el hecho de que en la posterior etapa del método de extracción secuencial se procedería a la extracción de Hg asociado a materia húmica, lo cual obliga a mantener la concentración de HNO₃ lo más baja posible, con objeto de no producir interferencias importantes en la extracción de estas

especies a través de la oxidación de la materia húmica. De los resultados de los ensayos de solubilidad se desprende que con HNO₃ 0,2 N a 50 °C, es posible extraer de forma casi cuantitativa todas las especies de Hg adicionadas. Por este motivo, teniendo en cuenta que ésta es una concentración suficientemente diluida, se toma ésta como concentración inicial para los ensayos de extracción. Éstos resultados se comparan con los logrados con una concentración mayor (0,5 N) en idénticas condiciones experimentales (tabla 7.5).

Tabla 7.5. Comparación de porcentajes de recuperación de Hg en las muestras artificiales con HNO₃ 0,2 N y 0,5N. Los resultados representan el valor medio ± desviación típica (n = 3).

Muestra Artificial	HNO ₃ 0,2 N (% Hg)	HNO ₃ 0,5 N (% Hg)
HgCl ₂ -SiO ₂	73,9 ± 0,9	71,5 ± 1,8
Hg(NO ₃) ₂ -SiO ₂	70,8 ± 1,4	72,7 ± 3,6
HgSO ₄ -SiO ₂	68,6 ± 7,5	74,2 ± 5,3
HgO-SiO ₂	91,3 ± 3,5	89,8 ± 4,1

Los datos obtenidos muestran como un aumento de la concentración de HNO₃ no supone un aumento significativo del porcentaje de Hg extraído, sino que al contrario, éstos son muy similares para todas las muestras artificiales de los compuestos “lábilés”. De esta forma la concentración de HNO₃ se fija en 0,2N.

7.2.3. Discusión

Las condiciones experimentales finalmente establecidas para la obtención de la fracción de las especies lábilés de Hg son: 0,5 g de muestra, una única extracción con 20 mL de HNO₃ 0,2 N con agitación combinada durante 2 horas a 50 °C.

Los porcentajes de recuperación para los compuestos HgCl₂, Hg(NO₃)₂ y HgSO₄ en las diferentes condiciones ensayadas estuvieron en torno al 70%. Por lo tanto, no fue posible lograr una extracción cuasicuantitativa de las especies adicionadas, con excepción del HgO, para el cual las recuperaciones fueron del orden del 90%. El aumento de la concentración de HNO₃, tiempo de extracción o número de extracciones no logró mejorar de forma significativa estas recuperaciones. La razón para este comportamiento puede encontrarse en la posible readsorción del Hg durante la etapa de

lixiviación. Muchos autores basan la elección de las condiciones experimentales para las extracciones en experiencias de solubilidad con compuestos puros [10, 16, 18, 19]. Sin embargo, una de las limitaciones más importantes de los métodos basados en extracciones selectivas de metales es la readsorción de los mismos durante la etapa de lixiviación, la cual ha sido observada por numerosos autores [20-24]. Este tipo de fenómenos puede resultar especialmente problemático en el caso de la extracción de la fracción más soluble de Hg. *Hall y Pelchat* [24] estudiaron la recuperación de HgCl_2 adicionado sobre una matriz de granito con diferentes reactivos clásicos empleados para la extracción de la denominada “fracción intercambiable”. Los experimentos desarrollados mostraron que, en contraste con las experiencias previas de solubilidad, donde el HgCl_2 era disuelto cuantitativamente en casi todos ellos, las recuperaciones de Hg fueron muy bajas debido a la readsorción del Hg sobre la muestra sólida. Además comprobaron que el tiempo de extracción era un factor fundamental, de manera que al aumentar éste aumentaba significativamente el porcentaje de Hg readsorbido. En comparación con estos estudios, los porcentajes de recuperación de los compuestos puros adicionados sobre una matriz real, son notablemente superiores, demostrando la viabilidad de la lixiviación con HNO_3 0,2 N para extraer las “especies lábiles” presentes en el suelo. La utilización de una disolución ácida en lugar de una disolución tamponada a pH 7, puede ayudar a minimizar el efecto de la readsorción.

Además de la readsorción producida durante la etapa de extracción, en el presente estudio se comprobó que la recuperación de Hg en las muestras artificiales está fuertemente afectada por el tiempo que llevan preparadas estas muestras. La figura 7.2 muestra una comparación del rendimiento de la extracción en las muestras adicionadas en función del tiempo transcurrido desde su preparación.

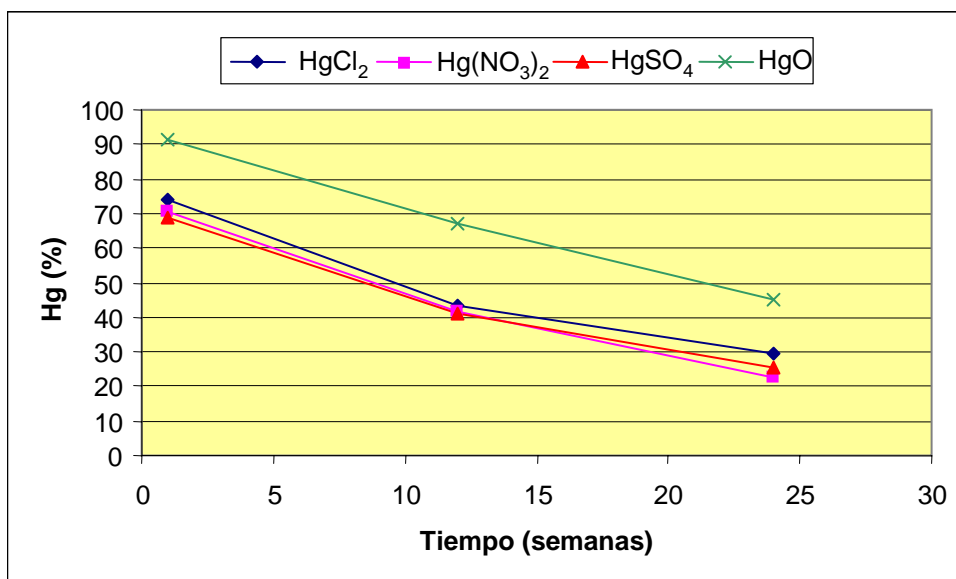


Figura 7.2. Recuperaciones de Hg en las muestras artificiales en función del tiempo transcurrido desde su preparación.

Cuando se aplica la extracción sobre muestras con especies puras adicionadas, preparadas unos meses antes, el rendimiento de la extracción baja ostensiblemente para todos los compuestos adicionados, respecto a los resultados obtenidos cuando sólo se deja transcurrir una semana desde la preparación de la muestra artificial. Esto significa que, con el transcurso del tiempo, los compuestos adicionados son adsorbidos fuertemente en la matriz, no pudiendo ser lixiviados de manera cuantitativa. Este tipo de adsorciones también podría explicar las bajas recuperaciones de Hg lábil en las extracciones efectuadas sobre las muestras con especies adicionadas con respecto a lo esperado.

7.3. SEGUNDA ETAPA: Hg ASOCIADO A MATERIA HÚMICA Y FÚLVICA

7.3.1. Justificación y Objetivo

Los metales traza pueden encontrarse asociados a la materia orgánica formando complejos o a través de procesos de bioacumulación con material orgánico muy diverso que puede incluir organismos vivos, detritos o asociado a partículas minerales [25, 26].

Las sustancias orgánicas suelen exhibir un alto grado de selectividad por los iones divalentes en comparación con la que presentan por los iones monovalentes. La alta capacidad de formación de complejos de los ácidos húmicos y fúlvicos que conforman la fracción orgánica, se suele atribuir principalmente a sus grupos funcionales carboxilo y, en menor medida, a otros grupos presentes tales como grupos amino (-NH₂) y tiol (-SH) [27]. Algunos estudios han establecido que la fuerza con la que los metales divalentes forman complejos con la materia orgánica sigue el orden Hg > Cu > Pb > Zn > Ni > Co [28]. Estos metales asociados con fases orgánicas pueden permanecer en el suelo o sedimento durante periodos de tiempo muy largos. Sin embargo, pueden ser movilizados mediante procesos de descomposición [29]. La degradación de la materia orgánica bajo condiciones oxidantes puede conducir a la liberación de los metales traza asociados a la misma [30-32].

Debido a la elevada tendencia que tienen los metales pesados en general, y el Hg en particular, por asociarse a la materia orgánica, el diseño y aplicación de procedimientos de extracción de esta fase es importante con vistas a la comprensión de la movilidad y geoquímica del Hg en suelos y sedimentos. Esta suele ser una fracción significativa dentro de los suelos y, en ocasiones, puede llegar incluso a dominar la distribución del Hg en la muestra, como es el caso de algunos suelos y lodos residuales [2, 33].

Ya sea para su determinación específica en una extracción simple, o incluido en un esquema de extracciones secuenciales, han sido numerosos los procedimientos desarrollados por los diferentes autores, a lo largo del tiempo, para la determinación de la concentración de metales traza asociados a materia orgánica que se han desarrollado a

lo largo del tiempo [11]. De igual forma, los agentes extractantes utilizados también pueden ser muy diversos. Entre ellos, algunos de los más comunes son el H_2O_2 en medio ácido [7, 34-36], NaOCl a pH 9,5 [34, 37-39], NaOH a pH 13 [10, 40, 41] o $Na_4P_2O_7$ a pH 10-13 [27, 42-45]. Los dos primeros se basan en la oxidación destructiva de la materia orgánica y algunos estudios han demostrado que pueden oxidar y disolver parcialmente otras fases, tales como óxidos de Fe y Mn y sulfuros [11, 46]. Por su parte el $Na_4P_2O_7$ y NaOH basan su acción en la disolución selectiva de la materia orgánica, para de esta forma liberar sus metales asociados. Ambos se utilizan ampliamente en procedimientos de extracción secuencial y parece existir un consenso respecto a que su aplicación presenta menos interferencias que los anteriores. Algunos estudios abogan por la utilización del $Na_4P_2O_7$ por su mayor selectividad para disolver los ácidos húmicos y fúlvicos [8, 27, 47-49] y argumentan que el NaOH puede disolver parcialmente aluminosilicatos y arcillas en un grado inaceptable [1, 50]. Por estos motivos el NaOH se emplea esencialmente en el estudio del fraccionamiento de muestras con un elevado contenido de materia orgánica, tales como lodos residuales [1]. Sin embargo, otros trabajos más recientes han obtenido resultados similares al aplicar ambos tipos de extracción a muestras de diferente naturaleza, concluyendo que llevan a las mismas conclusiones globales acerca de la movilidad y geoquímica del Hg [10]. Por estas razones, en principio, se han seleccionado ambos como candidatos a su utilización como extractantes de Hg asociado a materia orgánica en el esquema de extracción secuencial desarrollado en la presente Tesis.

El objetivo de la segunda etapa del presente método es poner a punto y optimizar un procedimiento de extracción de la fracción de Hg asociado a materia orgánica empleando $Na_4P_2O_7$ o NaOH como agente extractante selectivo. Para ello, se diseñan y llevan a cabo diferentes experiencias con ambos extractantes, comparando los resultados obtenidos y optimizando ciertos parámetros experimentales.

7.3.2. Desarrollo Experimental

7.3.2.1. Preparación de una muestra con un contenido elevado de Hg asociado a materia orgánica

Dado que no existen materiales de referencia con un contenido certificado de Hg asociado a materia húmica-fúlvica, los estudios de optimización de esta etapa se efectúan sobre una muestra previamente preparada. Con objeto de obtener una muestra con un contenido significativo de Hg asociado a materia orgánica, se lleva a cabo la incubación de Hg inorgánico en una matriz rica en materia orgánica. Este tipo de experimentos de incubación se suelen emplear en estudios de evaluación del potencial de metilación en sedimentos [51], o bien cuando se desea tener concentraciones significativas de una especie o fase de Hg en una determinada matriz [52]. En el presente estudio, para la preparación de la muestra se ha adoptado un procedimiento de incubación basado en aquél de *Schwertmann y Cornell* [53], aunque con ligeras modificaciones. La razón para la elección de este procedimiento frente a otros que se pueden encontrar en la bibliografía, se basa en el hecho de que permite la obtención de muestras incubadas en un tiempo relativamente corto, además de resultar sencillo y fácilmente aplicable. De esta manera, en lugar de someter la muestra a una incubación durante un periodo de meses en condiciones muy controladas, pueden obtenerse muestras con contenidos elevados y detectables de Hg asociado a materia orgánica en un tiempo tan rápido como 5 días. La realización del mismo se resume en los siguientes pasos principales:

1. Pesar 10 g de la matriz sólida.
2. Añadir 50 mL de una disolución HgSO_4 10^{-5} M y NaNO_3 0,5 M.
3. Añadir agua ultrapura hasta un volumen de 500 mL.
4. Comprobar el pH y adicionar HCl hasta que el pH sea aproximadamente 4.
5. Añadir un agitador magnético y mantener 48 horas en agitación constante a temperatura ambiente.
6. Mantener en reposo durante 12 horas para lograr la decantación de la muestra en suspensión.
7. Filtrar a vacío.

8. Traspasar la muestra a un vial previamente etiquetado y secado de la misma por liofilización durante 48 horas.
9. Conservar de la muestra en un desecador relleno con gel de sílice.

Como matriz sólida, rica en materia orgánica, se emplea un humus comercial, adquirido en un invernadero. La matriz se caracteriza, atendiendo a los principales parámetros a tener en cuenta en el desarrollo de los posteriores ensayos de extracción. Las características principales se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 7.6. Características de la matriz utilizada para la incubación de Hg asociado a materia orgánica.

FERTILIZANTE COMERCIAL	
Marca	BIOMOR
Composición	Turba rubia (70%) + Humus de lombriz (30%)
Humedad	50%
Materia orgánica	78,7%
pH	6,6
Hg	$< 0.1 \text{ ng g}^{-1}$

7.3.2.2. Ensayos de extracción: Optimización de las condiciones experimentales

7.3.2.2.1. Objetivo

El objetivo de estos ensayos es evaluar y optimizar la extracción del contenido de Hg asociado a materia húmica y fúlvica con los dos agentes extractantes mencionados anteriormente y que son empleados habitualmente con este objeto. Por un lado, se emplea una disolución 0,1 M de $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ a pH 10 y por otro una de NaOH 0,5 M a pH 13. Dado que estos dos agentes han sido utilizados ampliamente en numerosos estudios [1, 10, 40-45, 47-49], no se ha considerado necesario modificar las concentraciones de partida. La idoneidad y especificidad del $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1 M para disolver selectivamente la materia orgánica presente en suelos y sedimentos y sus metales asociados está ampliamente demostrada en la bibliografía. Se realiza una comparación de los resultados obtenidos con aquellos obtenidos con NaOH 0,5 M, a fin de seleccionar el más adecuado para su empleo en el método de extracción secuencial. Todos los ensayos

se realizan en idénticas condiciones para los dos agentes extractantes. Al igual que en otros estudios similares, se optimizan las condiciones experimentales que afectan a la extracción en cuanto a número de extracciones, proporción volumen agente extractante/peso de muestra y tiempo de extracción.

7.3.2.2.2. Optimización de las condiciones experimentales

Procedimiento general

Todos los ensayos experimentales se realizan a temperatura ambiente y por triplicado. Las muestras se pesan en tubos de centrifuga (0,5 g). Se adicionan las disoluciones previamente preparadas, agitándose durante 1 minuto en vórtex para poner en contacto ambas fases sólida y líquida. La extracción se realiza mediante agitación rotatoria continua a 35 rpm. Las muestras, una vez agitadas, se centrifugan a 4800 rpm durante 15 minutos. A continuación, se separan los sobrenadantes empleando una pipeta "Pasteur". Los extractos se filtran a través de filtros de celulosa de 0,45 μm . Se diluyen con agua ultrapura hasta alcanzar casi el volumen de aforado (50 mL) y se procede a la acidificación de las muestras, necesaria para su determinación cuantitativa. Para ello, se añade gota a gota una disolución de HCl 6 M hasta alcanzar un pH 2-4, el cual se comprueba con papel indicador. Finalmente las muestras se aforan con agua ultrapura hasta un volumen de 50 mL y se analizan en el equipo DMA-80 mediante el método de determinación de Hg en muestras líquidas (ver capítulo descripción de métodos apartado 4.1.2.3).

En un principio, se aplica una etapa de lavado de los residuos por adición de 5 mL de agua ultrapura, tratamiento con ultrasonidos a temperatura ambiente durante 15 minutos, centrifugación, extracción de los sobrenadantes y combinación de los mismos con los extractos anteriores. Sin embargo, la extracción de los sobrenadantes supone muchas dificultades para la mayoría de las muestras, debido a la posible precipitación de hidróxidos muy finos y pulverulentos y difíciles de separar de la fase líquida. Con el fin de mejorar la operatividad de la extracción, se realizan experiencias prescindiendo de la etapa de lavado y comparando los resultados con aquellos obtenidos combinando el lavado con los extractos. Los resultados obtenidos son similares en ambos casos, por lo que se decide prescindir de esta etapa a fin de simplificar y facilitar el procedimiento.

Tiempo de extracción

Para estudiar el efecto del tiempo de contacto sobre la extracción de Hg asociado a materia orgánica con ambos agentes extractantes, se realizan ensayos con tiempos de contacto de 1, 2, 4, 10, 18 y 24 horas. Los resultados para ambos tipos de extracción se muestran en la figura 7.3. En estos puede observarse como ambas extracciones presentan un comportamiento diferente. En el caso de la extracción con $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1 M el contenido de Hg extraído es aproximadamente constante para tiempos de contacto inferiores a 4 horas. Sin embargo, al aumentar el tiempo también lo hace la concentración de Hg extraída hasta que ésta se estabiliza para un tiempo de 18 horas. A partir de ahí el aumento que tiene lugar es despreciable. Por su parte, en el caso de la extracción con NaOH 0,5 M, el contenido de Hg extraído aumenta fuertemente con el tiempo al principio, mientras que para tiempos superiores a 8 horas aumenta muy levemente.

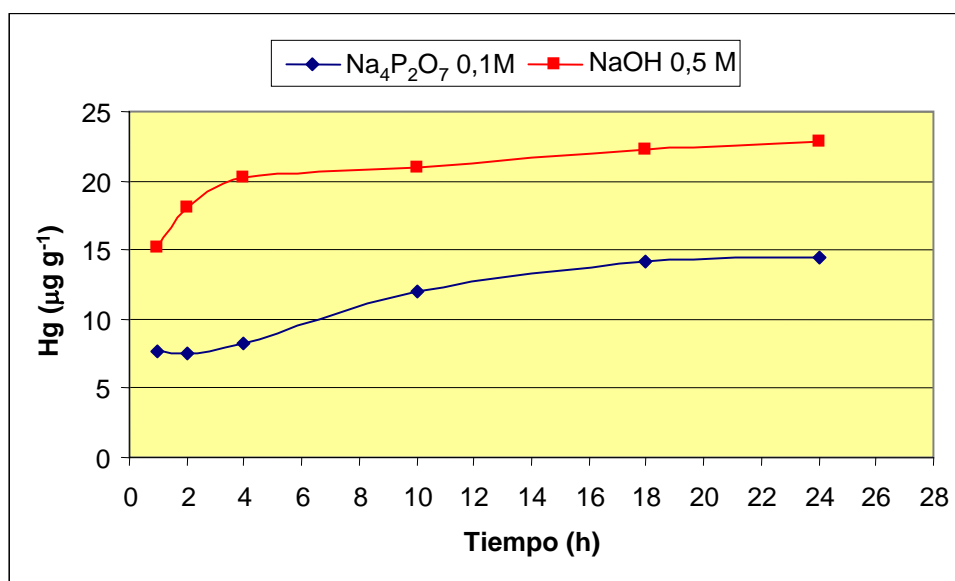


Figura 7.3. Influencia del tiempo de contacto en la extracción con $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1 M y NaOH 0,5 M.

Estos resultados demuestran una fuerte dependencia de ambos tipos de extracción con el tiempo y contrastan con las conclusiones de otros estudios realizados por diversos autores. *Hall y Pelchat* [27] estudiaron la influencia del tiempo en ambas disoluciones extractantes empleando como sustrato un material de referencia de un sedimento de lago, encontrando que en el caso de la extracción con $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1 M, la recuperación de Hg no varía significativamente para tiempos de contacto entre 1 y 4 horas, al igual que ocurre en el presente estudio, estableciéndose que es suficiente un tiempo de agitación

de 1 hora para extraer el contenido de Hg asociado a materia húmica y fúlvica. Sin embargo, no se ensayaron tiempos superiores. En el caso de la extracción con disolución NaOH 0,5 M observaron una disminución del contenido de Hg en un principio, atribuyendo ésta a la posible readsorción de las especies extraídas, mientras que para tiempos superiores a 4 horas el contenido en Hg recuperado aumentaba linealmente con el tiempo.

En el presente estudio se demuestra que, para el caso de la extracción con $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1 M, un tiempo de contacto de 1 hora es insuficiente para una extracción apropiada de la fracción de Hg asociado a materia orgánica, estableciéndose un tiempo óptimo de 18 horas para lograr este fin. En el caso de emplear una disolución NaOH 0,5M es suficiente con un tiempo de 10-14 horas para lograr una recuperación de Hg aproximadamente constante.

Proporción disolución extractante/muestra sólida

Se llevan a cabo diferentes experiencias para evaluar la influencia de la proporción entre el volumen de disolución extractante y el peso de muestra sólida. Dado que el peso de muestra se había fijado en la etapa anterior en 0,5 g, la proporción se modifica cambiando el volumen de disolución extractante. De esta manera, se ensayan volúmenes de 10, 20, 30 y 40 mL de ambas disoluciones, comparando los resultados obtenidos (figura 7.4).

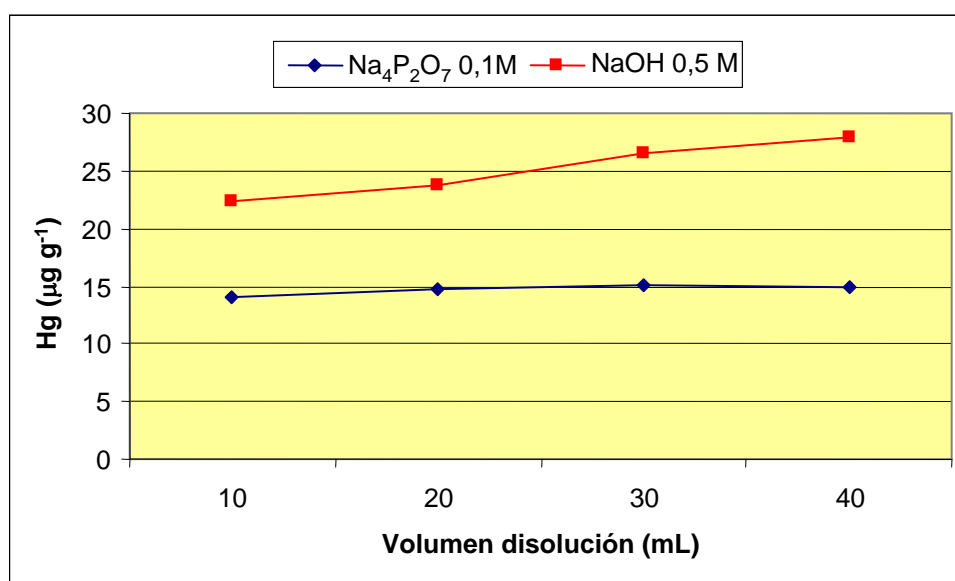


Figura 7.4. Influencia de la proporción volumen disolución / muestra sólida en la extracción con $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1 M y NaOH 0,5 M.

Como puede observarse, en el caso de la extracción con $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1 M, la proporción entre el volumen de agente extractante y el peso de muestra sólida no tiene una influencia significativa sobre el contenido de Hg recuperado. Sin embargo, en el caso del empleo de una disolución NaOH 0,5 M, se observa un aumento constante del contenido de Hg recuperado al aumentar esta proporción. Este comportamiento de ambos agentes extractantes es coherente con aquel observado por Hall y Pelchat [27] en sus ensayos de extracción.

Número de extracciones

Algunos autores señalan que para muestras con un elevado contenido de materia orgánica es conveniente realizar una segunda extracción en las mismas condiciones [24]. En el presente estudio, se evalúa la conveniencia o no de realizar esta etapa adicional en la extracción de Hg asociado a materia orgánica con ambos agentes extractantes. Para ello, empleando un volumen de 10 mL de disolución extractante, se comparan las recuperaciones de Hg obtenidas en una única extracción de la muestra preparada artificialmente con aquellas obtenidas de la aplicación sucesiva de dos etapas de extracción similares. Los resultados de esta comparación se resumen en la tabla 7.7, demostrando que, en el caso de la extracción con $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1 M, a pesar de la elevada concentración de materia orgánica en la matriz, la aplicación de una nueva etapa de extracción no da lugar a un aumento significativo de la cantidad de Hg extraída en ninguna de ambas etapas de extracción. Por tanto, los resultados sugieren que, en las condiciones experimentales optimizadas, la realización de una segunda etapa de extracción no resulta necesaria en el caso de la extracción con pirofosfato. Sin embargo, en el caso del empleo de una disolución de NaOH 0,5 M, una segunda extracción deriva en un aumento notable del contenido de Hg recuperado (29,4%).

Tabla 7.7. Comparación de los resultados obtenidos al aplicar una o dos extracciones a la muestra artificial. Los resultados representan el valor medio \pm desviación típica (n=3).

Extracción	Una sola extracción ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Dos extracciones ($\mu\text{g g}^{-1}$)
$\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1 M	14,1 \pm 1,2	14,7 \pm 1,8
NaOH 0,5 M	22,3 \pm 2,6	29,4 \pm 3,1

7.3.3. Discusión

De acuerdo con los ensayos de optimización, las condiciones experimentales óptimas para ambas extracciones son: 10 mL de $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1 M ó NaOH 0,5 M, en una sola extracción durante un tiempo comprendido entre 16 y 20 horas.

Los resultados de los ensayos de extracción demuestran que, empleando una disolución NaOH 0,5 M el contenido de Hg extraído es invariablemente más alto que con el empleo de $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1 M. Este comportamiento es coherente con aquel observado por otros autores [27, 50] y demuestra que si el $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1 M es capaz de extraer el Hg asociado a materia húmica y fúlvica con una especificidad adecuada, entonces el NaOH 0,5 M debe estar extrayendo más de una fase. Además, en contraste con la extracción con $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1 M, la extracción con NaOH 0,5 M está fuertemente afectada por la proporción entre el volumen de disolución extractante / peso de muestra sólida, por el número de extracciones y, en menor medida, también por el tiempo de contacto. Sin embargo, según diversos estudios recientes realizados en suelos, los resultados obtenidos con ambos reactivos son globalmente similares [10]. Con el fin de evaluar la posible influencia de la matriz sobre la extracción de la fracción húmica y fúlvica con ambos reactivos se desarrolla una experiencia de extracción sobre una muestra de suelo real. La muestra que se utiliza es la denominada P9, empleada en los estudios de extracción descritos en el capítulo anterior. Esta muestra procede de un área minera y presenta una naturaleza muy diferente a la de la matriz utilizada en los ensayos de optimización de la presente etapa extracción, a la vez que resulta ser más próxima a las muestras empleadas en los citados estudios [10].

Los resultados de la aplicación de ambas extracciones sobre la muestra P9 se muestran en la tabla 7.8. En ella, puede observarse como el contenido de Hg extraído por ambos agentes es comparable, conforme proponían los estudios anteriores.

Tabla 7.8. Influencia de la aplicación dos agentes extractantes en la extracción de la fracción de Hg asociado a materia húmica y fúlvica a la muestra P9 de Almadén. Los resultados representan el valor medio \pm desviación típica (n=3)

Extracción	Hg ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Hg (%)
Na₄P₂O₇ 0,1 M	2,2 \pm 0,1	3,6 \pm 0,2
NaOH 0,5 M	3,6 \pm 0,3	5,8 \pm 0,4

De esta forma, es posible suponer, tal y como sugieren algunos estudios [27, 54], que puede ocurrir que ambos reactivos extraigan diferentes grupos de sustancias orgánicas y los resultados sólo sean comparables en determinadas circunstancias.

Basándonos en los resultados de los ensayos de extracción y dada su mayor estabilidad, robustez y versatilidad, en el desarrollo del método de extracción secuencial propio se elige finalmente el Na₄P₂O₇ 0,1 M como agente extractante del contenido de Hg asociado a materia húmica y fúlvica.

Las condiciones experimentales optimizadas para la obtención de la fracción de Hg asociado a ácidos húmicos y fúlvicos son las siguientes: una extracción con 10 mL de disolución Na₄P₂O₇ 0,1 M (pH 10) durante 18 horas en agitación rotatoria continua a temperatura ambiente.

Dado que esta etapa forma parte de un procedimiento de extracción secuencial, se considera conveniente estudiar la posible influencia de la aplicación de la primera etapa sobre el contenido de Hg extraído en esta segunda etapa. Para ello, a la misma muestra artificial preparada para los ensayos de extracción, así como en la muestra P9, se les aplica la extracción con HNO₃ 0,2 N en las condiciones descritas en el apartado 3 del punto anterior, seguido de la extracción Na₄P₂O₇ 0,1 M, comparando los resultados obtenidos en esta segunda extracción con aquellos procedentes de la aplicación directa de la extracción con Na₄P₂O₇ 0,1 M en las condiciones optimizadas. Los resultados de esta comparación se muestran en la tabla 7.9. En éstos puede observarse como la aplicación previa de la extracción con HNO₃ 0,2 N no conlleva una diferencia significativa respecto a los resultados obtenidos al aplicar directamente la extracción correspondiente al Hg asociado a la materia húmica y fúlvica y, por tanto, demuestran la

compatibilidad de ambas extracciones al no producirse interferencias significativas entre ellas.

Tabla 7.9. Influencia de la aplicación directa y secuencial de la extracción con $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1 M. Los resultados representan el valor medio \pm desviación típica (n=3).

Muestra	Extracción directa ($\text{Hg } \mu\text{g g}^{-1}$)	Extracción secuencial ($\text{Hg } \mu\text{g g}^{-1}$)
Artificial	$10,8 \pm 0,1$	$10,2 \pm 0,1$
P9	$1,9 \pm 0,2$	$2,2 \pm 0,1$

7.4. TERCERA ETAPA: ÓXIDOS E HIDRÓXIDOS AMORFOS DE Fe Y Mn

7.4.1. Justificación y Objetivo

Los óxidos de Fe y Mn son excelentes captadores de Hg y otros metales. Estas fases secundarias suelen encontrarse cubriendo las superficies minerales. La captación de metales pesados por estas especies, puede ocurrir por alguno de los siguientes mecanismos o una combinación de ellos: coprecipitación, adsorción, formación de complejos en superficie o penetración en la red cristalina [55]. La adsorción en fases de Fe y Mn es uno de los procesos más importantes que regulan la toxicidad y biodisponibilidad de los metales presentes en los sistemas naturales [56].

Estos óxidos se encuentran en una elevada proporción en suelos y sedimentos [57], pero son menos abundantes en lodos residuales. Son termodinámicamente inestables bajo condiciones anóxicas [26, 31, 58] y pueden ser atacados por diversos microorganismos.

Dentro de los óxidos de Fe y Mn, las formas no cristalinas juegan un papel fundamental en la adsorción específica de metales traza. Sus características físicas, tales como una elevada área superficial, pequeño tamaño de grano y ausencia de estructura cristalina, hacen que presenten una elevada tendencia a la captación de metales traza. Algunos estudios han apuntado a la existencia de una fuerte relación entre el tamaño de grano, el área superficial y la distribución de metales traza en sedimentos [59]. En este sentido,

los óxidos de Fe amorfos ejercen una influencia fundamental sobre el área superficial y los niveles de metales traza en sedimentos [60].

Son muy numerosos los métodos para la determinación de la fracción de Hg y otros metales asociados a óxidos e hidróxidos de Fe y Mn descritos en la bibliografía. La gran mayoría de ellos, se basan en la reducción del Fe(III) y Mn(IV) bajo condiciones anóxicas. De esta forma se logra su disolución, liberando los metales adsorbidos. Por este motivo cuando esta fracción se separa selectivamente en un método de extracción secuencial se le denomina “fracción reducible”. En principio, esta fracción puede ser subdividida en otras tres fracciones denominadas genéricamente como “fracción fácilmente reducible”, que incluye la lixiviación de los óxidos de Mn, “fracción moderadamente reducible”, donde serán lixiviados los óxidos de Fe amorfos y “fracción difícilmente reducible” en la cual se extraerán los óxidos de Fe cristalinos. En el caso concreto del Hg, esta fracción suele ser minoritaria, sin embargo en algunos casos puede llegar a suponer un porcentaje importante del Hg presente en las muestras [8, 9, 24, 33]. Más aún, dado que al disminuir el pH se produce la desorción de las especies de Hg adsorbidas en estas fases, en ambientes sometidos a procesos de lixiviación ácida, como pueden serlo suelos de áreas mineras, esta constituirá una fracción potencialmente biometilable, lo que justifica la importancia de su determinación. Los reactivos utilizados habitualmente en la evaluación del contenido de metales traza asociados a estas fases contienen un agente reductor y un ligando capaz de retener los iones liberados en una forma soluble [1]. Los diferentes reactivos se diferencian principalmente en su potencial de reducción y su habilidad para disolver las diferentes formas cristalinas los oxihidróxidos de Fe y Mn [46]. Dentro de éstos, los más empleados son el clorhidrato de hidroxilamina, disoluciones tamponadas de ácido oxálico/oxalato y disoluciones tamponadas de citrato sódico/ditionito sódico.

El ácido oxálico presenta una elevada capacidad de formación de complejos con el Fe ($\log K = 4,35 - 18,49$) y una moderada capacidad reductora ($E^0 = -0,38$ V). Debido a su afinidad por el Fe, este reactivo suele utilizarse para la extracción de la “fracción moderadamente reducible” tras la extracción previa de los óxidos de Mn [34, 61, 62]. Presenta el inconveniente de que la acción del oxalato es sensible a la luz, por lo que las extracciones suelen realizarse en ausencia de ésta. Otros autores aprovechan el efecto

catalítico de la luz UV para provocar la extracción de las fases cristalinas de Fe [63]. Por otro lado, este reactivo forma complejos muy estables con el Al ($\log K = 15$). Por tanto, tampoco es posible diferenciar entre los óxidos de Fe y Al, dado que tiene lugar la extracción simultánea de ambos conjuntamente.

El ditionito sódico es un agente reductor enérgico ($E^0 = -1,12$ V) que permite disolver los óxidos de Fe cristalinos en el margen de pH 7-8 [64]. A pesar de que se emplea en algunos métodos de extracción secuencial [65], presenta una serie de inconvenientes importantes. Uno de ellos es la presencia de impurezas y metales traza en las sales de ditionito que pueden adquirirse en el mercado, que hace que con frecuencia sea necesario aplicar un procedimiento de purificación muy laborioso [7, 64]. También puede producirse una significativa precipitación de los metales traza en forma de sulfuros o sulfatos, lo que puede conducir a una subestimación de la fracción asociada a óxidos [66]. Finalmente, algunos estudios han demostrado que la aplicación de este reactivo produce la extracción parcial de silicatos [67].

El clorhidrato de hidroxilamina ($\text{NH}_4\text{OH}\cdot\text{HCl}$) es un agente reductor ($E^0 = -1,87$ V) ampliamente utilizado en la extracción de óxidos de Fe y Mn [1, 68]. Al igual que ocurre con los reactivos anteriores, su habilidad para disolver los diferentes óxidos metálicos depende del pH, de la concentración, del tiempo de extracción y de la temperatura. Suele utilizarse para la extracción de las fracciones “fácilmente reducible” y “moderadamente reducible”. Algunos autores han observado que en medio nítrico puede producir la extracción parcial de materia orgánica y óxidos de Fe cristalinos [69]. Sin embargo, este medio ha sido elegido para llevar a cabo la extracción simultánea de las fracciones “fácilmente reducible” y “moderadamente reducible” en la aplicación del método del BCR, que se pretende emplear como referencia en el estudio de la distribución de metales en suelos y sedimentos [70]. Cuando el clorhidrato de hidroxilamina se emplea en medios clorhídrico o acetato, además del poder reductor de la hidroxilamina se aprovecha el poder formador de complejos de los iones cloruro y acetato. Aprovechando esta propiedad, algunos autores sostienen que es posible disolver simultáneamente los óxidos de Mn y los óxidos amorfos de Fe empleando hidroxilamina en HCl o ácido acético.

Frente a los otros reactivos mencionados, el clorhidrato de hidroxilamina ofrece ciertas ventajas operativas como el hecho de que no es necesario realizar la extracción en ausencia de luz, lo cual hace que sea más simple la aplicación de la misma. Por otra parte, a pesar de no estar exenta de problemas, presenta una razonable selectividad por los óxidos de Mn y óxidos de Fe amorfos. Por ello, a la hora de diseñar una etapa de extracción de Hg asociado a óxidos de Fe y Mn amorfos, el reactivo candidato para su utilización como agente extractante fue el clorhidrato de hidroxilamina.

El objetivo de la tercera etapa del método secuencial es lograr la extracción de las formas de Hg asociadas a los óxidos de Fe y Mn amorfos empleando una disolución de clorhidrato de hidroxilamina. Para ello, al igual que en las etapas anteriores, se diseñan diferentes experiencias con el fin de optimizar los parámetros de la extracción.

7.4.2. Desarrollo Experimental

7.4.2.1. Procedimiento general

Los ensayos se llevan a cabo pesando 0,5 g de muestra sólida en tubos de centrífuga de 40 mL. A las muestras se les añaden 20 mL de la disolución extractante correspondiente, procediendo a su agitación por vórtex durante 1 minuto. Tras esto se agitan durante el tiempo de extracción requerido para cada ensayo. Después, se centrifugan a 4000 rpm durante 10 minutos. Los sobrenadantes se extraen mediante pipetas “Pasteur”. Los residuos se lavan con 5 mL de agua ultrapura, se tratan con ultrasonidos durante 15 minutos a temperatura ambiente, se centrifugan y se recogen, combinándolos con los extractos. Las muestras así preparadas se filtran a través de filtros de celulosa de 0,45 μm y se diluyen con agua ultrapura hasta un volumen de 50 mL. La determinación de Hg se realiza en el equipo DMA-80 mediante el método de determinación de Hg en muestras líquidas (ver capítulo 4, apartado 4.1.2.3). Los contenidos de Fe y Mn en los extractos se determinan mediante la técnica ICP-AES empleando las condiciones operatorias descritas en la tabla 3.3 del capítulo correspondiente a la descripción de las técnicas analíticas. Todos los ensayos se realizan por triplicado.

7.4.2.2. Optimización de las condiciones experimentales

7.4.2.2.1. Elección de las condiciones iniciales

De acuerdo con la bibliografía consultada, a la hora de aplicar una extracción con $\text{NH}_4\text{OH}\cdot\text{HCl}$, las condiciones experimentales en cuanto a concentración de reactivo, medio disolvente, tiempo de extracción y, en menor medida, pH, pueden ser muy diversas [1, 11, 70]. En cuanto al medio disolvente, se descarta el empleo de HNO_3 debido a su carácter oxidante y a los problemas de selectividad que presenta [69]. Por otra parte, con vistas a su aplicación en un método de extracción secuencial, se considera recomendable el hecho de que la extracción sea lo más rápida posible. Algunos métodos emplean extracciones a temperatura ambiente con tiempos de agitación de 16-24 horas [70, 71]. Sin embargo, aumentando la temperatura es posible lograr la extracción de las fases deseadas en tiempos más reducidos (1-6 horas) [72, 73]. Gommy logró la disolución completa de los óxidos de Mn y óxidos de Fe amorfos en un tiempo de 6 horas, empleando una disolución $\text{NH}_4\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 0,25 M a pH 1,7 y temperatura 96 °C [73]. Por este motivo, como condiciones experimentales se han seleccionado aquellas establecidas por el citado autor. Con el fin de evaluar la viabilidad de la extracción en estas condiciones y las siguientes ensayadas, los resultados que se obtienen en cuanto al contenido de Hg, Fe y Mn extraídos, se comparan con aquellos derivados de la aplicación de un método de referencia establecido en la bibliografía. Como método de referencia se ha seleccionado el método BCR en la etapa correspondiente a la extracción de óxidos de Fe y Mn. La amplia utilización de este método para el estudio de la movilidad de metales pesados en muestras sólidas y el hecho de estar basado también en el empleo de $\text{NH}_4\text{OH}\cdot\text{HCl}$ como agente extractante son las razones principales para su elección como método de referencia. Las condiciones de ambos métodos se muestran en la tabla 7.10.

Tabla 7.10. Condiciones experimentales de los métodos Gommy y BCR para la extracción de óxidos de Fe y Mn. ¹ Acido acético. ² Temperatura ambiente

Método	Conc. $\text{NH}_4\text{OH}\cdot\text{HCl}$	Medio	Tiempo	T (°C)	pH
Gommy	0,25 M	HOAc ¹ 25% V/V	6 h	96	1,7
BCR	0,1 M	HNO_3 0,2 M	16 h	T.a. ²	2,0

Para la realización de los ensayos experimentales se selecciona la muestra P9 procedente de Almadén, en base a su elevado contenido total en Fe, Mn y Hg (tabla 7.11).

Tabla 7.11. Contenidos totales de Hg, Fe y Mn en muestra P9. Los resultados representan el valor medio \pm desviación típica (n=6).

MUESTRA P9		
Hg ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Fe ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$)
46,4 \pm 2,3	26240 \pm 1080	699 \pm 54

7.4.2.2.2. Ensayo en las condiciones de Gommy. Comparación con el método BCR.

Los ensayos en las condiciones de Gommy y BCR se realizan siguiendo el procedimiento general anteriormente descrito. Únicamente la forma de agitación es diferente para ambas extracciones.

En el caso de la extracción en las condiciones de Gommy, la necesidad de una temperatura elevada, obliga a la utilización de un baño previamente termostatzado. Con el fin de asegurar un adecuado contacto entre la muestra sólida y la disolución extractante, los tubos de centrífuga se sacan del baño cada 30 minutos y se agitan en vórtex durante 30 segundos, volviéndolos a introducir a continuación en el baño.

En el caso de la extracción en las condiciones BCR, al realizarse a temperatura ambiente, se procede a la agitación rotatoria continua de las muestras durante todo el tiempo de extracción (16 horas).

En la figura 7.5 se comparan las recuperaciones de Hg, Fe y Mn con respecto al contenido total correspondiente, obtenidas con ambas extracciones.

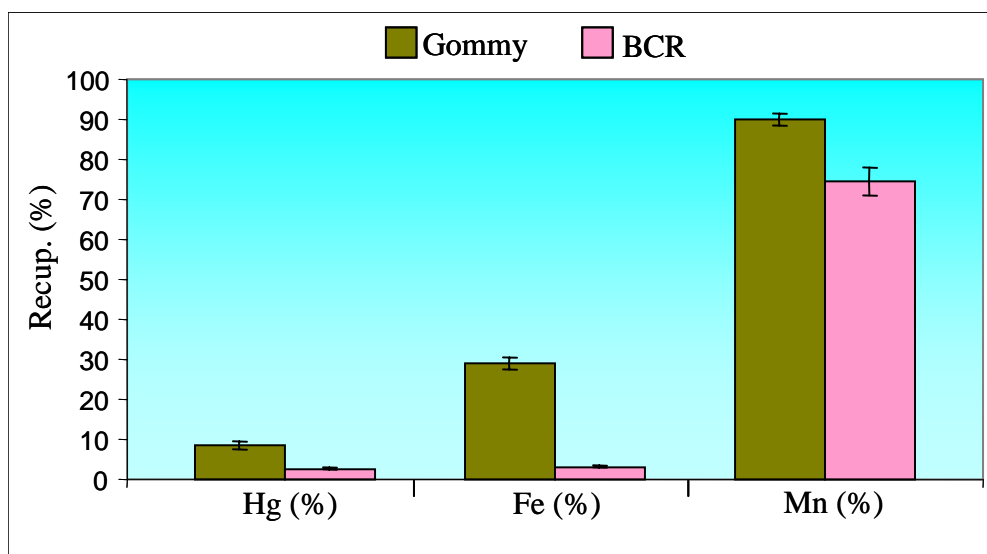


Figura 7.5. Recuperaciones de Hg, Fe y Mn en la muestra P9 en condiciones Gommy y BCR. Las barras de error representan la desviación típica (n=3).

Los resultados muestran diferencias significativas entre ambas extracciones, especialmente en el caso del Hg y Fe. La recuperación de Mn es prácticamente cuantitativa en el caso de la extracción en “condiciones Gommy” y algo inferior en la extracción del método BCR. La gran recuperación de Mn, lograda con ambas extracciones, es coherente con otros estudios que señalan que este es altamente soluble en el medio de disolución [1, 11] y demuestra la viabilidad de ambos procedimientos para la extracción de estos óxidos. Sin embargo, en el caso del Fe, la recuperación lograda en las condiciones Gommy resulta aproximadamente unas 9 veces mayor a aquella lograda en las condiciones BCR. Dado que la selectividad de las condiciones BCR para la extracción de los óxidos amorfos de Fe se ha demostrado ampliamente en numerosos estudios experimentales, es de suponer que en las condiciones del método Gommy, no sólo se lixivian los óxidos amorfos de Fe, sino que también se produce una extracción importante de las formas cristalinas de este metal. Esta suposición es coherente con la mayor recuperación de Hg obtenida en las condiciones Gommy, que fue aproximadamente unas 3 veces mayor a la lograda en las condiciones BCR.

7.4.2.2.3. Optimización de las condiciones experimentales

Objetivo

A la vista de la diferencia en cuanto al porcentaje de Hg recuperado en ambas extracciones de la muestra P9, la aplicación de las condiciones Gommy causa una solubilización inaceptable de formas cristalinas de Fe. Las causas de esta solubilización

pueden ser las condiciones tan enérgicas de temperatura y el tiempo de contacto relativamente elevado aplicados durante la extracción. Esta suposición parece ser coherente con los estudios previos de extracción de Hg, que demostraron que el Fe_2O_3 sólo se solubilizaba en medio clorhídrico en condiciones muy enérgicas (capítulo 6, apartado 6.3.4.2). Por tanto, la extracción según el método Gommy no parece ser adecuada para la evaluación de óxidos de Fe y Mn amorfos en suelos de áreas mineras. Dada la importancia de este tipo de suelos en los estudios de movilización y distribución de Hg en el medioambiente, se ha decidido modificar las condiciones experimentales a fin de lograr una extracción selectiva de las fases deseadas. A tal efecto se procede a la optimización de los parámetros temperatura y tiempo de agitación, comparando los resultados con aquellos obtenidos de la aplicación del método de referencia BCR a la muestra P9.

Tiempo de extracción

Se ensayan tiempos de extracción 1, 2, 4 y 6 horas. Los resultados se muestran en la figura 7.6, en la que aparecen las recuperaciones de Hg, Fe y Mn para cada uno de los ensayos.

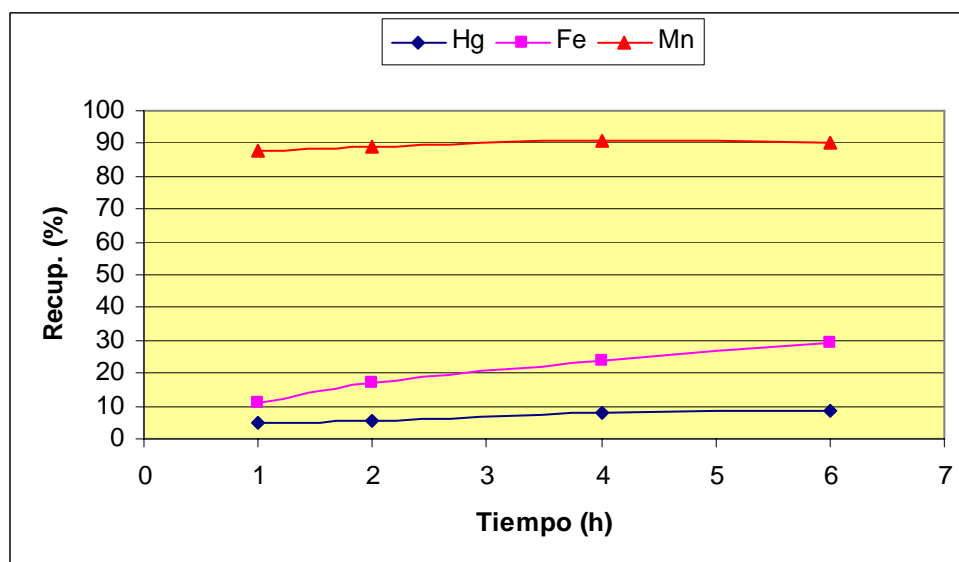


Figura 7.6. Recuperaciones de Hg, Fe y Mn en función del tiempo

Como ya se suponía por los ensayos anteriores, se logra una extracción casi cuantitativa para el Mn en todos los ensayos, lo cual significa que los óxidos de Mn son rápidamente

solubilizados en la disolución de clorhidrato de hidroxilamina. Sin embargo, el porcentaje de Fe recuperado aumenta gradualmente con el tiempo, lo que significa que la extracción de este metal depende fuertemente del tiempo de contacto. Algo similar ocurre en el caso del Hg, cuya recuperación aumenta suavemente con el tiempo. Además, puede observarse que los porcentajes de recuperación son superiores para todos los tiempos ensayados en comparación con los obtenidos mediante la aplicación de las condiciones BCR (figura 7.5).

Temperatura

Dado que los resultados más próximos a aquellos obtenidos mediante las condiciones BCR se logran con tiempos de extracción de 1 hora, se decide fijar este tiempo cambiando las condiciones de temperatura. A tal efecto, se realizan experiencias a temperaturas ambiente (aproximadamente 20 °C), 50 °C, 70 °C y 95 °C. Los resultados de estos ensayos se muestran en la figura 7.7, en la cual aparecen los porcentajes de recuperación de Hg, Fe y Mn en las condiciones ensayadas.

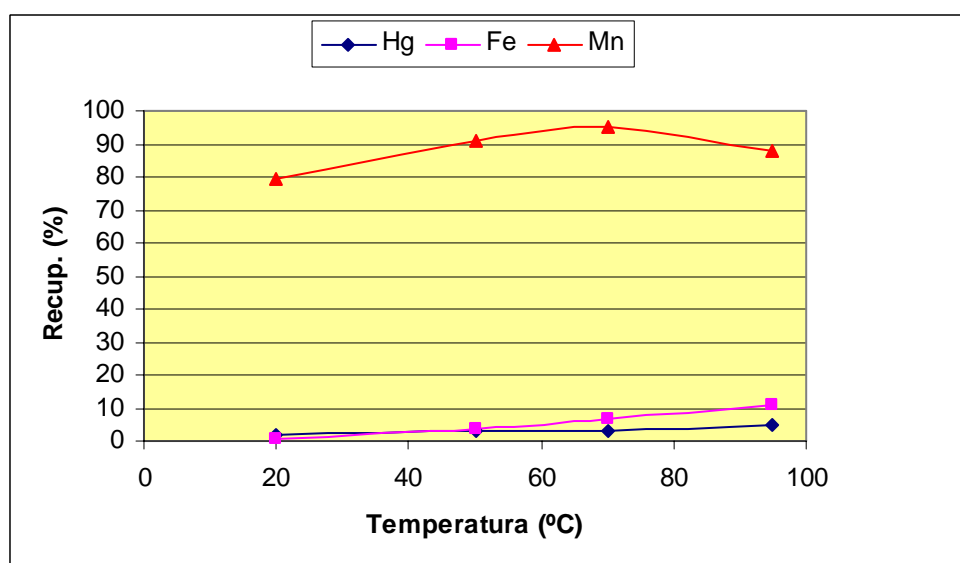


Figura 7.7. Efecto de la temperatura sobre la extracción de Hg y óxidos de Fe y Mn

En el caso del Mn, se logran extracciones próximas al 90% para todas las temperaturas ensayadas excepto a temperatura ambiente (79,2%). Al igual que ocurre en los ensayos a diferentes tiempos, la recuperación de Fe es fuertemente dependiente de la temperatura. A temperatura ambiente, el porcentaje de recuperación es de 0,9% inferior al obtenido aplicando las condiciones BCR. También es inferior el porcentaje de Hg

recuperado, lo que indica que posiblemente a esta temperatura no sea posible conseguir la solubilización de los óxidos de Fe amorfos para un tiempo de contacto tan corto (1 hora). Al elevar la temperatura aumenta el porcentaje de Hg recuperado. En el caso de la extracción a 50 °C, éste es de 2,9%, similar al obtenido con las condiciones BCR (2,7%). A 70 °C la recuperación de Hg también es muy próxima a la obtenida en las condiciones de referencia. Sin embargo al comparar los porcentajes de Fe recuperados a 50 y 70 °C, el primero aparece muy próximo a aquel logrado con las condiciones BCR, lo que indica que posiblemente a 50 °C ambos métodos extraigan las mismas formas de Fe. Sin embargo a 70 °C, el porcentaje de Fe recuperado es significativamente superior, lo que implica la posible solubilización de otras formas de Fe distintas.

7.4.3. Discusión

Las condiciones finalmente elegidas para la obtención de la fracción de Hg asociado a óxidos e hidróxidos amorfos de Fe y Mn son: una extracción con 20 mL de una disolución $\text{NH}_4\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 0,25 M a pH 1,7, durante 1 hora en un baño termostatizado a 50 °C.

Con estas condiciones es posible lograr resultados similares a aquellos obtenidos con las condiciones del método BCR, permitiendo la disminución del tiempo de extracción de 16 a 1 hora.

Teniendo en cuenta el objetivo de incluir esta etapa en un método de extracción secuencial, se estudia la influencia producida por la aplicación de las etapas anteriores. Para ello, empleando la muestra P9, se comparan los resultados obtenidos de la aplicación individual de la etapa de extracción en las condiciones optimizadas y su aplicación tras la extracción previa de las dos primeras fracciones (tabla 7.12).

Tabla 7.12. Recuperaciones obtenidas en la aplicación directa y secuencial de la extracción con $\text{NH}_4\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 0,25 M. Los resultados representan el valor medio \pm desviación típica (n=3).

Extracción	Hg(%)	Fe(%)	Mn(%)
Individual	2,9 \pm 0,4 ^a	3,4 \pm 0,2	90,9 \pm 4,2
Secuencial	2,8 \pm 0,3	3,1 \pm 0,3	25,3 \pm 2,9

Puede observarse una disminución muy considerable del contenido de Mn recuperado en esta etapa. Éste ha podido ser extraído en las etapas anteriores, dada su labilidad. Del análisis de Mn en los extractos de las etapas primera y segunda resultaron unas recuperaciones medias de Mn de 44,3% y 11,9% respectivamente. Esto quiere decir que los óxidos de Mn y por tanto, el Hg asociado a éstos, son lixiviados principalmente en la “fracción lábil”. Sin embargo, se observa que la disminución del contenido en Mn no conllevó una disminución significativa del porcentaje de Hg extraído en esta etapa respecto a la aplicación individual de la misma, lo que hace suponer que el contenido de Hg asociado a óxidos de Mn en la muestra P9 ha ser escasamente significativo. Por su parte, el contenido de Fe recuperado también es similar en la aplicación secuencial de la extracción, lo que implica que éste no se ve afectado significativamente por la aplicación de las dos primeras etapas.

7.5. CUARTA ETAPA: Hg ELEMENTAL

7.5.1. Justificación y Objetivo

El Hg, al contrario que otros metales traza, se encuentra en estado nativo de forma natural. El Hg metálico, Hg elemental o Hg(0), presente en suelos y sedimentos puede proceder de fuentes naturales o antropogénicas [74].

De forma natural, el Hg elemental presente en la atmósfera puede depositarse en los suelos, donde puede ser adsorbido sobre superficies minerales [75]. También puede proceder de la reducción de especies de Hg(II) producida por la acción de microorganismos [75].

Debido a los múltiples usos que ha tenido y tiene hoy en día el Hg elemental, las fuentes antropogénicas de esta especie pueden ser muy diversas. Históricamente, el Hg elemental ha sido utilizado para recuperar metales preciosos de las menas que los contenían. La técnica de amalgamación ha sido la más utilizada durante siglos para la extracción de oro y plata de los materiales auríferos y argentíferos. Sin embargo, esta técnica presenta algunos problemas asociados tales como la incompleta condensación del vapor de Hg en el proceso de calentamiento de la amalgama o la pérdida de Hg

elemental en los aparatos (canaletas, molinos, planchas amalgamadoras) empleados en la formación de la amalgama [76]. Como consecuencia de estas pérdidas y emisiones, la minería de oro y plata ha dejado un importante legado en forma de contaminación de Hg en estas regiones mineras, donde el Hg elemental puede aparecer en forma de glóbulos que incluso, en ocasiones, pueden ser visibles a simple vista [77]. Otras fuentes antropogénicas de Hg elemental, aunque de menor importancia, son el vertido de Hg procedente de manómetros y otros aparatos de medida que lo utilizan, amalgamas dentales o quemado de combustibles fósiles.

Además de estas fuentes naturales y antropogénicas, responsables de la presencia de Hg elemental en suelos y sedimentos, podemos encontrar concentraciones significativas de esta especie de Hg en áreas mineras de cinabrio. En éstas, el Hg elemental puede aparecer de forma natural, acompañando al cinabrio en las menas [78-80]. Pero, de forma más importante, el Hg elemental formado durante la tostación del mineral de cinabrio puede quedar depositado en los residuos de la tostación y dispersarse al medioambiente circundante [81]. Algunos autores han encontrado concentraciones muy elevadas de Hg elemental en residuos de calcinación, escombreras y suelos de antiguas áreas mineras de cinabrio [82].

La importancia de la presencia de Hg elemental en un suelo o sedimento, no sólo radica en su concentración. El Hg elemental participa en los procesos de biometilación del Hg en suelos y sedimentos que tienen lugar, en general, en condiciones anaerobias. Algunos estudios realizados en antiguas áreas mineras, han encontrado una fuerte correlación entre la concentración de Hg elemental y el contenido en metilmercurio presente en el suelo [83], sugiriendo la posibilidad de que el Hg elemental presente, puede ser un factor importante en la metilación del mercurio en suelos de áreas mineras. Éste puede propiciar la formación de metilmercurio y otras especies organomercúricas a través de procesos de oxidación, transformándose previamente en especies reactivas de Hg (II), susceptibles de biometilarse a través de la acción bacteriana.

Debido a su innegable relevancia, la estimación del contenido en Hg elemental puede proporcionar una información muy útil a la hora de estudiar la distribución y movilidad

del Hg en una muestra sólida. Esta fracción constituye una peculiaridad del Hg respecto a otros metales traza y su determinación resulta, en ocasiones, de gran importancia.

Históricamente, el Hg elemental ha sido determinado mediante el método de volatilización térmica, en el cual, se calcula la concentración de Hg elemental como la diferencia aritmética entre el contenido total de Hg en la muestra y el contenido de Hg que queda tras un calentamiento prolongado en condiciones controladas [9, 84]. Sin embargo, diversos estudios más recientes señalan que otras especies relevantes de Hg, tales como aquellas asociadas a cloruros y a materia húmica, también son volatilizadas en una proporción importante en las condiciones de calentamiento empleadas en la determinación del Hg elemental [10]. De esta forma, la aplicación del método de volatilización térmica puede conducir a una sobreestimación del contenido de Hg elemental presente en muestras naturales. Existen otras técnicas que permiten la identificación y cuantificación de esta especie en muestras sólidas. La más difundida, es el análisis térmico del Hg liberado [4, 52, 85-88]. Esta técnica permite la identificación de especies de Hg en función de su temperatura de desorción térmica. Las especies son identificadas comparando el intervalo de temperatura a la cual son desorbidas con patrones de esas mismas especies, generalmente preparados en la misma matriz de la muestra [86]. De esta forma es posible su utilización para evaluar la especiación de Hg en las muestras. También permiten una cierta cuantificación de las especies mediante la integración de los picos de los termogramas obtenidos. Sin embargo, los equipos utilizados para monitorizar la temperatura de desorción térmica de las especies de Hg son de fabricación propia, no existiendo equipos comerciales con estas capacidades, por lo que su uso está poco extendido.

Los métodos de extracción clásicos, basados en el método de Tessier *et al.* [7], subdividen el contenido de los metales traza en fracciones de metal asociado a diferentes fases relevantes presentes habitualmente en la muestra. Sin embargo, estos métodos no incluyen una etapa específica para extraer selectivamente la fracción de Hg elemental cuando son aplicados al estudio del Hg en suelos y sedimentos. Esta fracción quedará englobada dentro de otras, de forma que no es posible estimar el contenido de Hg elemental presente en la muestra. En consecuencia, en el estudio de suelos y sedimentos que puedan contener cantidades apreciables de esta fracción, un método de

extracción clásico proporcionará una información insuficiente sobre la geoquímica del Hg al desestimar una fracción importante de éste. Por tanto, la aplicación de este tipo de métodos no es recomendable para el estudio de suelos y otras muestras con contenidos significativos de Hg elemental.

Otros métodos de extracción secuencial, desarrollados específicamente para el estudio del Hg en muestras sólidas, consideran una etapa de extracción de esta especie. Estos procedimientos aprovechan la solubilidad del Hg elemental en disoluciones concentradas de HNO₃ para lograr la extracción selectiva del Hg elemental [10, 16, 89, 90]. A la hora de aplicar esta extracción hay que tener en cuenta que, junto al Hg elemental, también podrán ser lixiviadas otras especies de Hg tales como Hg₂Cl₂, Hg asociado a complejos organosulfurados u óxidos de Fe cristalinos y amalgamas [10]. Sin embargo, en suelos con contenidos apreciables de Hg nativo, especialmente suelos de antiguas áreas mineras, esta extracción puede dar una medida apropiada del contenido de Hg elemental presente.

El objetivo de la cuarta etapa del método es, por tanto, el desarrollo de una extracción selectiva de la fracción de Hg elemental basada en una lixiviación con HNO₃. Para lograr este propósito, se seleccionan unas condiciones experimentales adecuadas, comprobando la idoneidad de éstas a través de diferentes experiencias de extracción.

7.5.2. Desarrollo Experimental

7.5.2.1. Elección de las condiciones experimentales

A la hora de aplicar una etapa de extracción selectiva de Hg elemental y otras formas solubles en HNO₃, se han de tener en cuenta dos premisas principales:

1. Las condiciones seleccionadas deben permitir la extracción del Hg elemental presente en la muestra en un porcentaje aceptable.
2. La extracción simultánea de Hg asociado a sulfuro debe ser lo menos significativa posible.

El cumplimiento de la primera premisa exige el empleo de disoluciones altamente concentradas de HNO_3 . Éste suele emplearse en concentración 12 M. Sin embargo la aplicación de esta disolución tan concentrada puede producir el rápido deterioro del material empleado, en particular de las juntas protectoras de los tubos de centrífuga [91], por lo que la utilización de estas altas concentraciones puede resultar poco práctico desde un punto de vista operativo. Además, algunos autores, realizando estudios de adición de HgS comercial en diversas matrices, han encontrado que la solubilidad del cinabrio en este tipo de disoluciones está fuertemente influida por el tamaño de grano, incrementándose fuertemente al disminuir el tamaño de grano [90]. La segunda premisa implica que las condiciones experimentales seleccionadas deben ser contrastadas, a fin de asegurar que el Hg asociado a sulfuro no se vea afectado de forma importante. Por estos motivos, la utilización de una disolución HNO_3 12 M no es recomendable.

Teniendo en cuenta estas premisas, se decide adoptar para la etapa de extracción de Hg elemental, una extracción con HNO_3 al 50% v/v. Las condiciones para esta extracción son similares a aquellas optimizadas en el desarrollo del método para la extracción de Hg unido a sulfuro en suelos de Almadén, descrito en el capítulo dedicado al estudio de los suelos de Almadén de la presente memoria de Tesis (capítulo 6, apartado 6.4.2). En estas condiciones, supuestamente es posible lixiviar todas las especies de Hg con excepción del Hg asociado al sulfuro. Los estudios previos de extracción, demostraron que la solubilidad del HgS en medio HNO_3 al 50% v/v, era mucho menos afectada que en un medio clorhídrico. Las pruebas realizadas sobre un suelo de Almadén demostraron que esta extracción de Hg estaba influenciada únicamente por la presencia de haluros solubles. Además, respecto a la influencia del tamaño de grano del cinabrio, las adiciones de HgS comercial, finamente pulverizado, no condujeron a un aumento de la capacidad de extracción del Hg, lo que implica que en las condiciones seleccionadas la segunda premisa se cumple aceptablemente.

Con el fin de comprobar si la extracción con HNO_3 al 50% v/v es capaz de cumplir con la primera premisa mencionada, se estudia la extracción del Hg elemental en diversas matrices. Dado que el Hg elemental puede ser fuertemente adsorbido en superficies minerales [82], la extracción del mismo puede depender de su concentración. Con este

fin se preparan adiciones de Hg elemental de diferentes concentraciones para estudiar la influencia de la concentración del mismo en la extracción.

7.5.2.2. Procedimiento experimental

Las condiciones experimentales son idénticas a aquellas empleadas en la etapa de lixiviación nítrica del método de determinación de Hg asociado a sulfuros en suelos de Almadén. Únicamente, se modifica el volumen de disolución HNO₃ al 50% v/v, a fin de mantener la misma proporción volumen disolución extractante / peso de muestra sólida, debido a que el método mencionado parte de 0,25 g de muestra y en el método de extracción secuencial el peso fijado de muestra ha sido de 0,5 g. De esta forma, las condiciones generales de la extracción son: 0,5 g de muestra pesados en un tubo de centrífuga de 40 mL, al cual se añaden 20 mL de disolución HNO₃ 50% V/V. Esta mezcla se agita en vórtex durante 1 minuto, procediendo a continuación a su agitación rotatoria continua a 35 rpm durante 21 horas. Las muestras en los tubos se centrifugan a 4000 rpm durante 10 minutos y los sobrenadantes se extraen con pipeta “Pasteur”. El residuo se lava con 10 mL de la misma disolución extractante, agitando en vórtex 1 minuto, tratando con ultrasonidos durante 15 minutos a temperatura ambiente y centrifugando en las mismas condiciones. El sobrenadante se combina con el extracto anterior, y el conjunto se filtra a través de filtros de celulosa de 0,45 µm y se diluye con agua ultrapura hasta un volumen final de 50 mL. El contenido de Hg en los extractos se determina en el equipo DMA-80 empleando las condiciones descritas en el método de determinación de Hg en muestras líquidas (ver capítulo 4, apartado. 4.1.2.3).

7.5.2.3. Estudios de extracción de Hg elemental

7.5.2.3.1. Preparación de adiciones en matrices sólidas

Con el fin de estudiar la influencia de la concentración de Hg elemental sobre la extracción con HNO₃, se prepararon muestras dos matrices distintas con diferentes concentraciones añadidas de Hg elemental.

Como matrices sólidas se emplean la sílice y la muestra de Almadén P9. Esta última se ha seleccionado por considerarla representativa de un suelo de área minera y ser además una matriz real.

El procedimiento seguido para la preparación de estas muestras artificiales es similar al empleado en los ensayos de extracción descritos en el capítulo anterior (apartado 6.4.2). En este caso se parte de una cantidad previamente pesada de Hg elemental y se adiciona a la matriz sólida, procediendo a su homogenización exhaustiva. Las adiciones de concentraciones inferiores se preparan por diluciones sucesivas de estas muestras dopadas con más cantidad de las matrices sólidas originales sin adicionar. El contenido de Hg en las mismas se determina mediante su análisis directo en el equipo DMA-80 con el método de determinación directa de Hg en muestras sólidas descrito en el capítulo 4 (aptdo. 4.1.2.2). Se preparan tres adiciones de cada matriz, denominadas genéricamente como M1, M2 y M3. Los contenidos de Hg se muestran en la tabla 7.13, en las cuales se ha restado el valor de Hg total procedente de la matriz sin adición.

Tabla 7.13. Concentraciones de Hg en las adiciones preparadas. Los resultados representan el valor medio \pm desviación típica (n=12).

Matriz	M1 (Hg $\mu\text{g g}^{-1}$)	M2 (Hg $\mu\text{g g}^{-1}$)	M3 (Hg $\mu\text{g g}^{-1}$)
Sílice	10,9 \pm 0,7 ^a	1,1 \pm 0,9	0,3 \pm 0,0
P9	13,4 \pm 1,4	4,0 \pm 0,3	1,7 \pm 0,3

7.5.2.3.2. Aplicación de la extracción con HNO₃ al 50% v/v

La etapa de extracción con HNO₃ al 50% v/v se aplica a todas las muestras adicionadas preparadas, así como a las respectivas matrices. Todas las extracciones se realizan por triplicado. Los resultados se muestran en la tabla 7.14, observándose como al aumentar el contenido de Hg elemental adicionado a las matrices también lo hace la concentración de Hg recuperada, lo que demuestra que el agente extractante es capaz de disolver el Hg elemental presente en la muestra. La concentración recuperada en la muestra P9, no sólo corresponderá al contenido de Hg elemental, sino a todas las especies de Hg, exceptuando el Hg asociado a sulfuro y posiblemente otras formas de Hg ocluidas en las redes de silicatos no lixiviables con HNO₃.

Tabla 7.14. Aplicación de la extracción con HNO₃ 50% V/V a las muestras preparadas. Los resultados representan el valor medio \pm tres veces la desviación típica (n=3).

Matriz	No adición (Hg $\mu\text{g g}^{-1}$)	M1 (Hg $\mu\text{g g}^{-1}$)	M2 (Hg $\mu\text{g g}^{-1}$)	M3 (Hg $\mu\text{g g}^{-1}$)
Sílice	No detectable	9,48 \pm 1,10	0,89 \pm 0,22	0,23 \pm 0,12
P9	9,23 \pm 1,97	20,35 \pm 4,66	12,11 \pm 2,71	10,34 \pm 2,52

La capacidad de la extracción nítrica para disolver el Hg elemental adicionado en ambas matrices puede observarse en la figura 7.8, donde están representados los porcentajes de Hg recuperados en cada muestra con respecto al Hg añadido, para las dos matrices empleadas en este estudio.

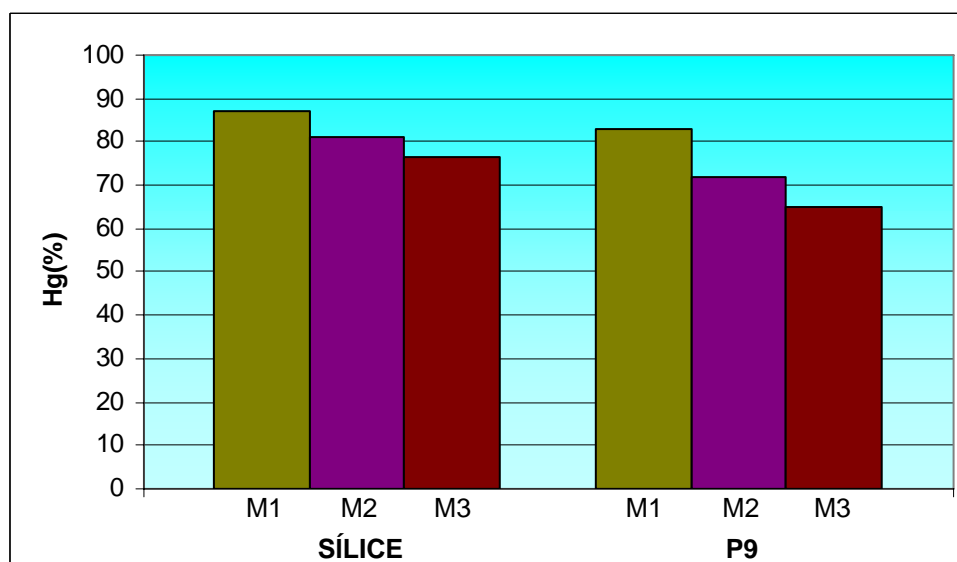


Figura 7.8. Porcentajes de Hg recuperado en las muestras adicionadas

Los porcentajes de recuperación de Hg obtenidos se encuentran en el intervalo comprendido entre el 65% y el 87%. Las recuperaciones de Hg fueron superiores en la sílice para las tres adiciones ensayadas respecto a aquellas obtenidas en el suelo real. Por otra parte, los resultados demuestran que el porcentaje de Hg crece al aumentar el contenido de Hg elemental adicionado para las dos matrices. La menor recuperación obtenida en el suelo P9 puede explicarse en base a que posiblemente el Hg elemental puede asociarse con las diferentes fases presentes en un suelo, quedando fuertemente retenido en éstas [82]. Por otro lado, al aumentar el contenido de Hg elemental, también

lo hará el contenido del mismo en forma libre, lo que explicaría el mayor porcentaje de Hg recuperado en las adiciones más concentradas.

7.5.3. Discusión

Las condiciones finalmente empleadas para la obtención de la fracción de Hg elemental son: una extracción con 20 mL de una disolución HNO₃ al 50% v/v, durante 21 horas temperatura ambiente

Los resultados de los ensayos de extracción demuestran la viabilidad de las condiciones seleccionadas para estimar el contenido de Hg elemental presente en una muestra, cumpliendo de esta forma la primera premisa establecida a la hora de desarrollar la etapa de extracción. La extracción nítrica permite la recuperación de la mayoría del Hg elemental adicionado en unas condiciones relativamente suaves, si bien la recuperación está afectada por la asociación de este con otras fases del suelo y por su concentración, de forma que cuánto mayor es ésta mayor es la eficacia de la extracción en las condiciones optimizadas. Los ensayos de extracción del capítulo anterior demostraron que el contenido de Hg asociado a sulfuro no afecta a la extracción del Hg, no produciéndose un aumento del porcentaje de Hg recuperado al aplicar una extracción con HNO₃ al 50% v/v en las condiciones propuestas.

Por su parte, la segunda premisa, basada en la condición de no extraer contenidos significativos de Hg asociado a sulfuro, queda igualmente cumplida en las condiciones establecidas, ya que en el estudio de extracción de Hg con HNO₃ (ver capítulo 6, apartado. 6.4.3), las condiciones empleadas son idénticas a las actuales, y en dicho estudio se demostró que el porcentaje de Hg asociado a sulfuro que se extrae en estas condiciones es insignificante.

Adicionalmente, con el fin de comprobar la interacción entre las etapas anteriores del método de extracción secuencial y la etapa de extracción nítrica, se compararon los resultados de la aplicación de ésta de forma individual, y tras la aplicación previa de las tres etapas anteriores a la extracción de la muestra P9. Los resultados se resumen en la figura 7.9, en la que, como puede observarse, los contenidos de Hg lixiviados con HNO₃ al 50% v/v en la extracción directa son algo mayores en relación a los obtenidos

cuando ésta se aplica secuencialmente. Esto se debe a que la aplicación directa implica la extracción de otras formas de Hg, que ya han sido extraídas en las etapas previas del proceso de extracción secuencial. Los porcentajes de recuperación global fueron comparables en ambos casos, si bien con la extracción secuencial se obtiene una recuperación de Hg total ligeramente superior, posiblemente como consecuencia de la influencia de la aplicación de las etapas anteriores a la muestra sólida.

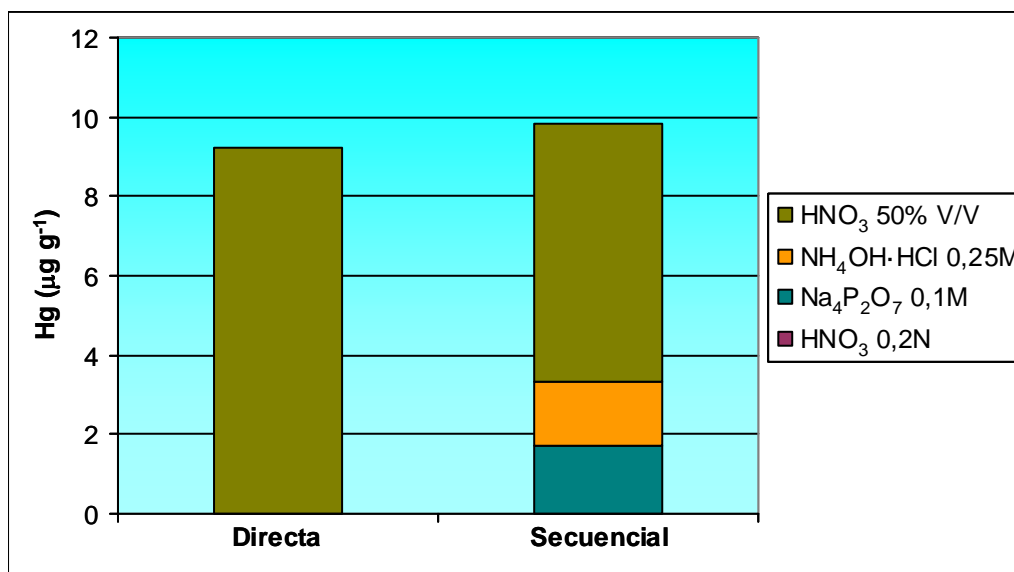


Figura 7.9. Hg recuperado en la aplicación de la extracción nítrica a la muestra P9 de forma directa y secuencial (en presencia de las tres etapas anteriores).

7.6. QUINTA ETAPA: Hg ASOCIADO A SULFURO

7.6.1. Justificación y Objetivo

La interacción de metales con sulfuros en suelos y sedimentos es muy importante a la hora de determinar sus formas químicas y movilidad en el medioambiente. En el caso del Hg, su condición de ácido blando, de acuerdo con la teoría de Pearson, hace que interactúe fuertemente con otros ligandos blandos, tales como tioles, sulfuro y otros grupos que contienen azufre en su composición [92]. En presencia de sulfuro, el Hg puede formar complejos sulfurados solubles, tales como HgSH^+ , $\text{Hg}(\text{SH})_2$, HgS_2H^- , HgS_2^{2-} , o bien sulfuro mercuríco insoluble (HgS) [93]. Mientras que la formación de las especies solubles es poco frecuente y sólo ocurre en ambientes sulfídricos a altos valores de pH [94], el HgS constituye la principal especie sulfurada presente en suelos y sedimentos, especialmente en ambientes anaerobios [95]. Esta última especie, aparece de forma natural en dos formas alotrópicas: cinabrio (HgS) y metacinabrio (HgS negro). Ambas son muy insolubles, con constantes de solubilidad, $K_s = 10^{-36,8}$ (20 °C) para el cinabrio y $K_s = 10^{-36,4}$ (20 °C) para el metacinabrio [93].

El cinabrio además, constituye la principal fuente de Hg en zonas donde éste aparece de forma natural formando depósitos de este mineral [12]. Estos depósitos, han sido explotados históricamente para la obtención de Hg metálico mediante el procesado del mineral de cinabrio en hornos de tostación. Como consecuencia de la intensa actividad minera desarrollada en estas zonas, son numerosas las escombreras que contienen cantidades elevadas de mineral no procesado y que constituyen una fuente de contaminación de Hg en el medioambiente [96].

Debido a su insolubilidad, algunos estudios han sugerido que la formación de HgS en el medioambiente, bien por procesos naturales (diagénesis) o como resultado de procesos de ingeniería (minería) puede limitar el ciclo del Hg en la biosfera [97]. Otros estudios, sin embargo, demuestran que en zonas de áreas mineras, el Hg procedente del cinabrio, a pesar de su insolubilidad, puede ser movilizado a través de procesos de lixiviación ácidas y otros fenómenos atmosféricos [82]. Esta movilización puede ser incrementada por la presencia de ciertos ligandos, especialmente cloruros [95, 98].

La determinación de la fracción de Hg asociado a sulfuros ha sido estudiada por numerosos autores a través de la aplicación de procedimientos de extracción secuencial [1, 2, 7, 9-11, 16, 91, 99-101] debido a su importancia sobre la movilidad del Hg en muestras naturales. En los métodos de extracción clásicos, basados en el método de Tessier *et al.* [7], que pueden aplicarse al estudio de otros metales en suelos y sedimentos, esta fracción está incorporada en la denominada “fracción residual” y comprende el contenido de metales traza asociados a las fases más insolubles como los sulfuros y silicatos [1, 2]. En el caso concreto del Hg, esta fracción resulta especialmente importante y en muchos casos constituye la fracción mayoritaria. Por esta razón, la mayoría de los métodos de extracción secuencial desarrollados específicamente para evaluar la movilidad del Hg en muestras sólidas denominan a esta fracción “fracción asociada a sulfuro” o simplemente “fracción de sulfuro mercuríco” [9, 10, 91, 99-101]. En cualquier caso, al igual que ocurre en los métodos clásicos, junto a las fases sulfuradas, serán extraídas también otras fases insolubles presentes en la muestra.

Esta fracción es la última extraída en la secuencia de extracciones sucesivas de Hg en los métodos de extracción secuencial. Dada la extrema insolubilidad del HgS, muchos autores suelen emplear esquemas de extracción basados en el empleo de agua regia como agente extractante o bien derivados de ésta [10, 16, 91, 101]. El empleo de agua regia está muy extendido en el análisis de muestras medioambientales, sin embargo, presenta algunos inconvenientes a nivel operativo relativos a su peligrosidad debido a su elevado poder oxidante y a la formación de vapores altamente corrosivos en su preparación. Otros autores, emplean una disolución saturada de Na₂S para extraer selectivamente el sulfuro mercuríco [9, 99]. A pesar de su facilidad para disolver el HgS, la utilización de disoluciones fuertemente concentradas de Na₂S presenta dificultades en relación con la determinación de la concentración de Hg en los extractos. La fuerte alcalinidad de las disoluciones de Na₂S dificulta el análisis por medio de las técnicas más habituales (CV-AAS, CV-AFS, ICP-MS, ICP-AES). Por añadidura, en el caso de la técnica CV-AAS, una de las más utilizadas para la determinación de Hg en muestras líquidas, no es posible la utilización de SnCl₂ como reductor debido a la formación de precipitados muy voluminosos entre este reactivo y el Na₂S. Por estos motivos el

empleo de disoluciones de Na_2S no es recomendable para su integración en esquemas de extracción secuencial.

Algunos estudios demuestran que el cinabrio es altamente soluble en disoluciones ácidas de KI [13]. Esta solubilización se explica mediante la formación de complejos iodomercuratos (HgI_4^{2-}) que son altamente solubles. Los estudios de solubilidad desarrollados en el capítulo anterior, demostraron que empleando HCl al 50% v/v como medio ácido, el HgS podía ser disuelto cuantitativamente incluso a temperatura ambiente en presencia de KI. Basándonos en los resultados logrados en estos ensayos, es posible suponer que puede lograrse la extracción de la fracción de Hg unido a sulfuro empleando una disolución de KI en medio clorhídrico.

El objetivo de esta etapa es el desarrollo de un procedimiento de extracción de la fracción de Hg unido a sulfuro empleando una disolución de KI en HCl al 50% v/v. A tal efecto, se diseñan y desarrollan diferentes experiencias con el fin de optimizar las condiciones experimentales que afectan a la extracción.

7.6.2. Desarrollo Experimental

7.6.2.1. Preparación de muestras con adiciones de HgS

Con objeto de estudiar la viabilidad de la extracción de la fracción de Hg unido a sulfuro en el medio seleccionado, se prepara una muestra artificial, añadiendo a una matriz sólida una concentración determinada de HgS comercial. Como matriz sólida, se elige nuevamente la muestra P9 de Almadén, representativa de suelos de áreas mineras. La muestra artificial preparada se denomina genéricamente P9-HgS y así será referida en los ensayos sucesivos. El procedimiento de preparación es idéntico al descrito para los ensayos anteriores. La concentración de Hg añadida como HgS se determina mediante la diferencia entre el contenido total de Hg en la muestra P9 y la muestra artificial preparada. Estas concentraciones fueron determinadas directamente mediante el método de determinación directa de Hg en muestras sólidas (ver capítulo 4, aptdo. 4.1.2.2). Los resultados de estas determinaciones se muestran en la tabla 7.14.

Tabla 7.14. Concentraciones de Hg encontradas en la muestra P9 y en la preparada partiendo de ella y añadiendo HgS comercial. Los resultados representan el valor medio \pm desviación típica (n=6).

Muestra	Hg Total ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Hg adicionado ($\mu\text{g g}^{-1}$)
P9	61,5 \pm 3,7	-
P9-HgS	92,8 \pm 4,1	31,3

7.6.2.2. Procedimiento general

Las disoluciones de KI se preparan el mismo día de su utilización, pesando la cantidad correspondiente de este reactivo y disolviéndolo en HCl al 50% v/v para lograr la concentración deseada.

Se pesan aproximadamente 0,5 g de muestra en un tubo de centrifuga de 40 mL. Se añade el volumen correspondiente de la disolución extractante. La mezcla se agita en vórtex 1 minuto para su homogenización. A continuación los tubos se introducen en un baño de ultrasonidos termostatzado a la temperatura seleccionada durante el tiempo fijado para el ensayo, realizando tratamientos con ultrasonidos de las muestras durante periodos de 15 minutos en cuartos de hora alternados. Se centrifugan las muestras a 4000 rpm durante 10 minutos, procediéndose a la separación de sobrenadantes mediante el uso de pipetas “Pasteur”. En el caso de la realización de una segunda extracción, ésta se realiza en las mismas condiciones anteriores, combinando el sobrenadante con el primero. Las muestras se lavan mediante la adición de 5 mL de agua ultrapura, se agitaron en vórtex 1 minuto, se tratan con ultrasonidos durante 15 minutos a temperatura ambiente y se centrifugan en las mismas condiciones anteriores, combinando los sobrenadantes extraídos con los anteriores. Los extractos se filtran a través de filtros de celulosa de 0,45 μm y diluyen con agua ultrapura hasta un volumen de 50 mL. La determinación del Hg extraído se realiza en el equipo DMA-80 empleando las condiciones descritas para la determinación de Hg en muestras líquidas (ver capítulo 4, aptdo. 4.1.2.3).

7.6.2.3. Ensayos de extracción

Objetivo

El propósito de estos ensayos es estudiar, comparar y optimizar las condiciones de extracción de la fracción de Hg unido a sulfuro. Esta etapa es la última del método propuesto y en ella deberán extraerse las especies más insolubles del Hg presente, incluyendo, además de los sulfuros, otras fases estables y muy poco móviles tales como las asociadas a silicatos. Teniendo en cuenta esto último, parece razonable establecer como criterio a la hora de seleccionar las condiciones experimentales, el que éstas permitan lograr la extracción completa del Hg presente en la muestra. De esta forma, es posible admitir que tras la extracción selectiva de las fracciones precedentes, será posible extraer las fases más insolubles en las condiciones seleccionadas. Por ello, el propósito de este estudio es lograr la solubilización completa del Hg presente en la muestra empleando una disolución de KI en HCl al 50% v/v. Las condiciones a optimizar son: el número de extracciones, la concentración de KI, la temperatura y el tiempo de extracción.

Número de extracciones

Se realizan ensayos de extracción sobre las muestras P9 y P9-HgS empleando una o dos extracciones sucesivas. En estos últimos ensayos la segunda extracción se desarrolla en las mismas condiciones que la primera. El resto de condiciones experimentales permanecen estables, empleándose una concentración KI 0,5M, temperatura 95 °C y tiempo de extracción 1 hora. Los resultados se muestran en la tabla 7.15, concluyendo que con una sola extracción es posible lograr la lixiviación cuantitativa del Hg, con recuperaciones por encima del 90% en ambas muestras. En base a establecer unas condiciones que permitan una extracción más rápida y sencilla, se decidió emplear una única extracción en esta etapa.

Tabla 7.15. Influencia del número de extracciones sobre la extracción de Hg. Los resultados representan el valor medio de las recuperaciones de Hg \pm 3 veces la desviación típica (n=3).

Muestra	Una extracción (% Hg)	Dos extracciones (% Hg)
P9	96,2 \pm 4,8 ^a	97,1 \pm 5,4
P9-HgS	94,6 \pm 2,1	96,8 \pm 2,9

Concentración de KI

El propósito de estos ensayos es establecer una concentración mínima de KI con la que lograr la extracción cuantitativa del Hg en las muestras P9 y P9-HgS. De esta forma, por un lado, se mejora la operatividad de la extracción, al suponer un menor gasto de reactivo. Por otro lado, se recomienda el empleo de concentraciones lo más bajas posibles de KI, con vistas al mantenimiento del equipo de medida utilizado DMA-80 y al ahorro de reactivos.

Se realizan ensayos de extracción sobre las muestras P9 y P9-HgS con concentraciones de KI 0,03 M, 0,05 M, 0,1 M y 0,5 M en medio HCl al 50% v/v. El resto de condiciones fueron: una única extracción, temperatura 95 °C y tiempo 1 hora. Los resultados se muestran en la figura 7.10., observándose recuperaciones cuantitativas del Hg en ambas muestras para todas las concentraciones ensayadas, lo cual demuestra la eficacia de este reactivo para la disolución del Hg asociado sulfuro. Por este motivo se ha seleccionado la concentración 0,03 M, considerándola suficiente para lograr la extracción de la fracción deseada.

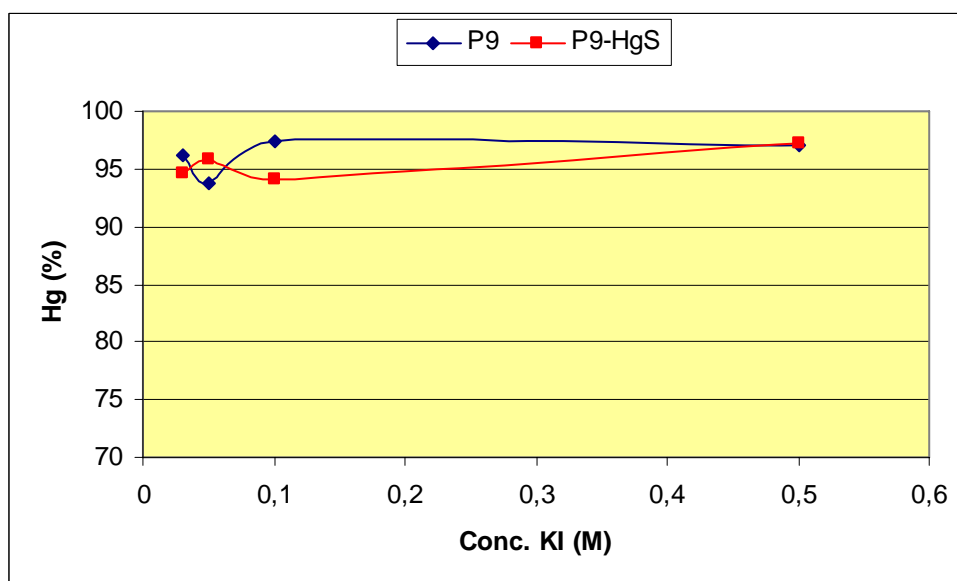


Figura 7.10. Influencia de la concentración de KI en la extracción de Hg

Temperatura

Una vez fijadas el número de extracciones y la concentración de KI, se procede a la optimización de la temperatura de extracción para un tiempo fijado de 1 hora. Se realizan ensayos con ambas muestras a temperaturas ambiente (aproximadamente 20

°C), 50, 70 y 95 °C. Los resultados de estos ensayos se muestran en la figura 7.11. A temperatura ambiente no es posible lograr una extracción suficiente en ninguna de las dos muestras. En el caso de la muestra P9, la recuperación obtenida es sólo del 79,6% y aún menor en el caso de la muestra P9-HgS (64,2%). La menor recuperación obtenida en el caso de la muestra adicionada indica que a esta temperatura posiblemente se lixivian todas las especies de Hg más solubles, mientras que el cinabrio sólo puede ser extraído parcialmente. El empleo de elevadas temperaturas incrementa drásticamente la recuperación de Hg en ambas muestras, obteniéndose recuperaciones superiores al 90% a temperaturas a partir de 50 °C. Finalmente, dada la influencia observada de la temperatura sobre la extracción de la fracción de Hg asociado a sulfuro, se ha decidido establecer una temperatura para esta etapa de 70 °C, adecuada para asegurar la extracción de las especies deseadas en un porcentaje aceptable.

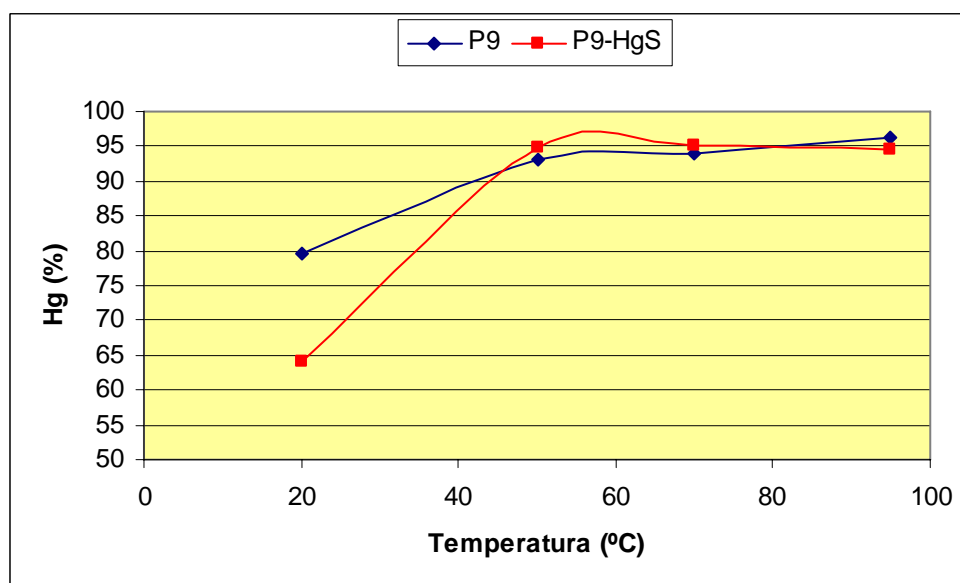


Figura 7.11. Influencia de la temperatura sobre la extracción de Hg con KI 0,03 M

Tiempo de extracción

Con el propósito de lograr realizar la extracción en un tiempo lo más corto posible en las condiciones previamente establecidas, se realizan ensayos de extracción a diferentes tiempos en las dos muestras empleadas en el presente estudio. Los tiempos de extracción ensayados son 15, 30, 45 y 60 minutos. Los resultados se muestran en la figura 7.12.

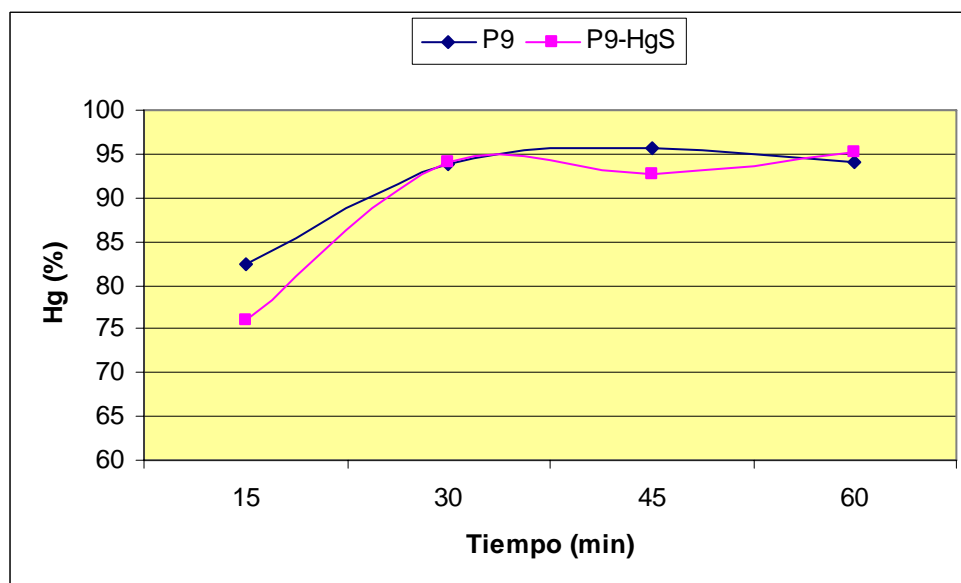


Figura 7.12. Influencia del tiempo en la extracción con KI 0,03 M

Como puede observarse, para tiempos a partir de 30 minutos es posible lograr la extracción cuantitativa de las dos muestras. Se establece, por tanto, un tiempo de compromiso de 45 minutos para la realización de esta etapa, ya que, frente a uno de 30 minutos, implica un tiempo de agitación ultrasónica de 30 minutos, en lugar de los 15 que supone emplear el tiempo inferior. De esta forma, se garantiza un mejor contacto entre el disolvente extractante y la muestra sólida.

7.6.3. Discusión

Las condiciones experimentales finalmente elegidas para la obtención de la fracción de Hg asociado a sulfuro son: 10 mL de disolución KI 0,03 M en HCl al 50% v/v durante un tiempo de 45 minutos a temperatura 70 °C.

Con ellas es posible lograr una extracción cuantitativa del Hg en las muestras P9 y P9-HgS, lo que permite establecer la viabilidad de este procedimiento para la extracción de las fases menos solubles de Hg. La elevada recuperación obtenida en la muestra P9-HgS demuestra la capacidad de la disolución extractante para extraer todo el HgS presente en la muestra.

Con el fin de comprobar la interacción entre el resto de etapas que conforman el método desarrollado y la extracción con KI/HCl, se comparan los resultados obtenidos mediante la aplicación directa de esta extracción a las muestras P9 y P9-HgS con aquellos obtenidos de la aplicación del método completo a estas mismas muestras. Los resultados de esta comparación se muestran en la figura 7.13.

Como puede observarse los contenidos de Hg recuperados son similares cuando se aplica la extracción directa y secuencial, y se ajustan bien a los contenidos totales de Hg en ambas muestras. No se han detectado concentraciones significativas de Hg en la primera etapa. Los contenidos de Hg en las etapas segunda y tercera resultan muy similares, lo que implica que en estas etapas no se extrae HgS de modo significativo. La concentración de Hg recuperada en la extracción con HNO₃ al 50% v/v fue mayor en la muestra P9-HgS. Esto quiere decir que parte del HgS añadido puede ser lixiviado en esta fracción. Suponiendo que el exceso de Hg recuperado en esta fracción corresponde a la extracción de HgS añadido, el porcentaje que supone éste respecto al Hg total adicionado es de 2,8%, el cual resulta poco significativo.

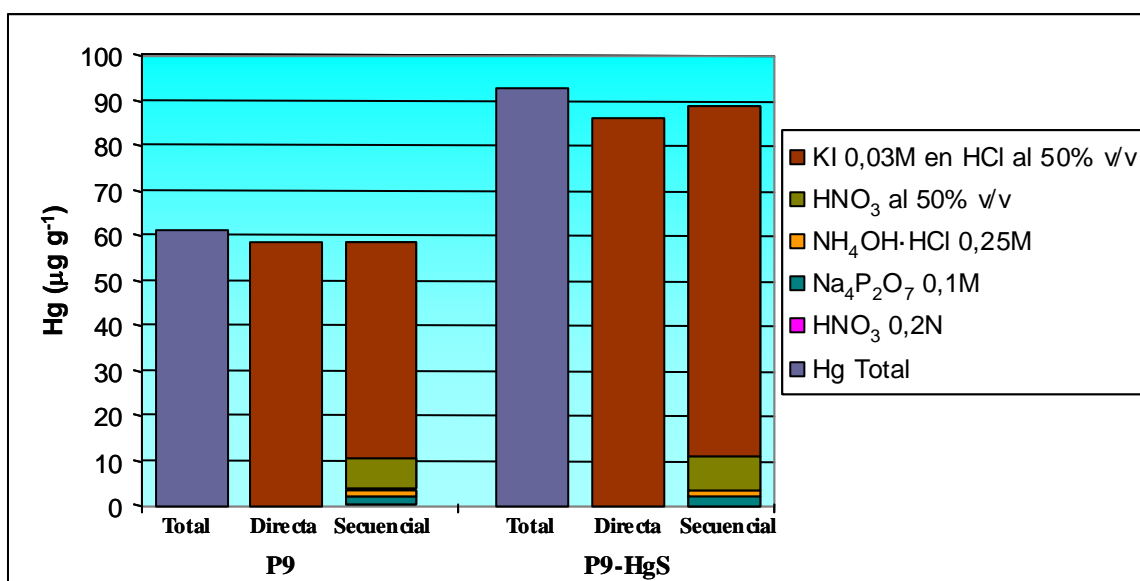


Figura 7.13. Resultados de la aplicación directa y secuencial de la extracción de Hg con KI 0,03 M en HCl al 50% v/v y su comparación frente al contenido de Hg total

7.7. DIAGRAMA DE FLUJO Y VALIDACIÓN DEL MÉTODO

Una vez establecida la última etapa el esquema de extracciones queda tal y como se refleja en el diagrama de flujo de la figura 7.14.

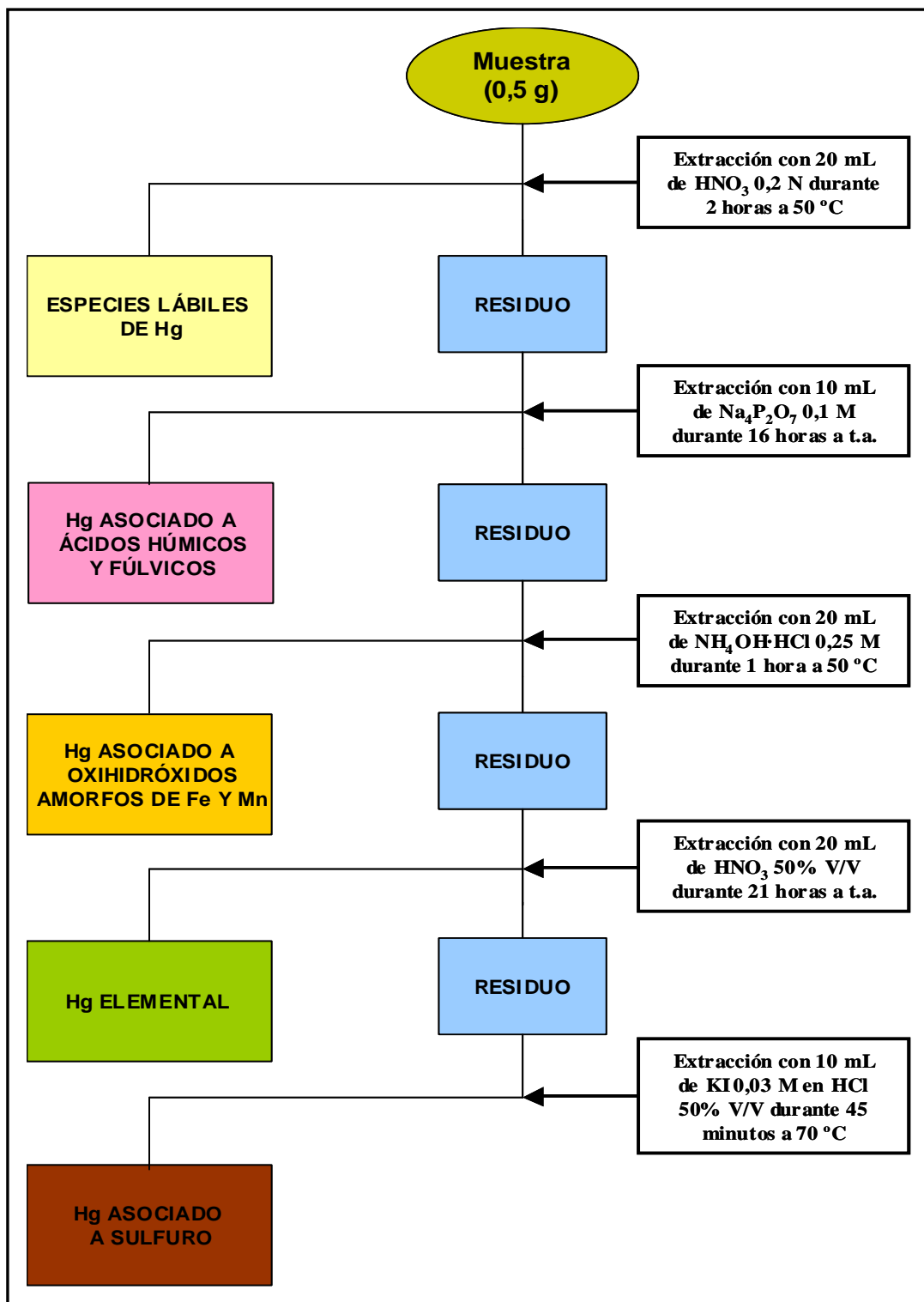


Figura 7.14. Diagrama de flujo del método de extracción secuencial propio.

Un problema intrínseco asociado a la aplicación de métodos de extracción secuencial es la falta de uniformidad de los mismos, pues las fracciones obtenidas son definidas operacionalmente, de manera que dependen de las condiciones experimentales aplicadas. Esto hace que la comparación de los resultados obtenidos con los diferentes esquemas no resulte útil para establecer la validez de un nuevo método. Por añadidura, no existen materiales de referencia con contenidos certificados de metales traza asociados a fases significativas de suelos o sedimentos [102]. Por estos motivos, a la hora de afrontar la validación de un esquema de extracciones secuenciales, muchos autores recurren a su aplicación a materiales de referencia de naturaleza similar a la de aquellas muestras para las que ha sido diseñado. De esta forma, se establece que el método es válido siempre que la recuperación global del metal traza, entendiendo ésta como la suma de las concentraciones extraídas en cada etapa, sea comparable a su contenido total certificado [9, 16, 103]. Este mismo procedimiento fue adoptado para la validación del presente método de extracción secuencial de Hg.

Con el fin de evaluar la versatilidad del método desarrollado, se seleccionan cuatro materiales de referencia de diferente naturaleza: el CRM 062 (*Olea Europeae*), representativo de una muestra vegetal, el CRM 320 (River sediment), representativo de muestras de sedimentos, el CRM 146 (Sewage Sludge), representativo de lodos residuales y el SRM 2710 (Montana soil), representativo de suelos. A éstos se les aplicó el esquema en las condiciones optimizadas para cada etapa. Los resultados y los contenidos certificados de Hg total se muestran en la tabla 7.16.

Tabla 7.16. Concentraciones de Hg recuperadas en cada fracción del método, su suma (Σ Hg) y el contenido de Hg total certificado, tras su aplicación a diferentes materiales de referencia. Los resultados representan el valor medio \pm desviación típica (n=3). n.d.: no detectable. ^a Valor certificado.

Material	Hg Lab. ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Hg Hum/Ful ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Hg Fe-Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Hg Elem. ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Hg Sulf. ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Σ Hg ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Hg Total ^a ($\mu\text{g g}^{-1}$)
CRM 062	n.d.	n.d.	n.d.	0,29 \pm 0,08	n.d.	0,29 \pm 0,08	0,28 \pm 0,02
CRM 320	n.d.	0,28 \pm 0,02	n.d.	0,69 \pm 0,02	n.d.	0,99 \pm 0,04	1,03 \pm 0,13
CRM 146	n.d.	0,17 \pm 0,07	0,09 \pm 0,01	6,06 \pm 0,18	1,78 \pm 0,26	8,09 \pm 0,13	8,62 \pm
SRM 2710	n.d.	6,18 \pm 0,07	0,21 \pm 0,05	12,76 \pm 0,20	9,33 \pm 0,10	28,48 \pm 0,22	32,6 \pm

En el caso de la muestra vegetal (CRM 062), al aplicar la etapa segunda ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1M), debido al elevado contenido de materia orgánica en este material se obtienen unos extractos muy espesos con gran cantidad de materia en suspensión, lo que no permite llevar a cabo la determinación adecuada de Hg en este extracto en el equipo DMA-80. Esto obliga a realizar un paso adicional en el cual la muestra se trata con una disolución de peróxido de hidrógeno con el fin de producir la destrucción de la materia orgánica.

En todos los materiales de referencia el Hg se recuperó mayoritariamente en la fracción HNO_3 al 50% v/v. Por el contrario, la fracción de Hg unido a sulfuro sólo es significativa en el caso de los materiales de lodos residuales y sobre todo en el caso del suelo, lo cual es coherente con algunos trabajos que señalan que la fracción de Hg unido a sulfuro sólo es mayoritaria en zonas donde el Hg procede de la extracción de mineral de cinabrio (zonas mineras) [95]. No se han detectado concentraciones apreciables de Hg en la fracción lábil en ninguno de los materiales. Por su parte, se han recuperado cantidades importantes de Hg asociado a materia húmica y fúlvica en los materiales de sedimentos y suelos, donde esta fracción supone el 30,6% y 19,1% del Hg total respectivamente. La fracción de Hg asociado a óxidos e hidróxidos de Fe y Mn amorfos, sólo pudo detectarse en los materiales con una mayor concentración total de Hg.

Las recuperaciones de Hg son aceptables para todos los materiales de referencia, encontrándose en el intervalo de 87,7 al 97,8% respecto a los correspondientes valores certificados. Teniendo en cuenta el criterio de validación establecido, estos resultados demuestran la viabilidad y versatilidad del método de extracción desarrollado para su aplicación a muestras de diferente naturaleza.

7.8. REFERENCIAS

- [1] Gleyzes C, Tellier S, Astruc M (2002) *Trends Anal Chem* 21: 451-467
- [2] Giulio RT, Ryan EA (1987) *Water Air Soil Pollut* 33: 205-219
- [3] Gray JE, Hines M, Higuera PL, Adatto I, Lasorsa BK (2004) *Environ Sci Technol* 38: 4285-4292
- [4] Higuera P, Oyarzun R, Biester, H, Lillo J, Lorenzo S (2003) *J Geochem Explor* 80: 95-104
- [5] Compeau GC, Bartha R (1985) *Appl Environ Microbiol* 50 : 498-502
- [6] Gilmour CC, Henry EA, Mitchell R (1992) *Environ Sci Technol* 26 : 2281-2287
- [7] Tessier A, Campbell P G C, Bisson M (1979) *Anal Chem* 51:844-851
- [8] Kot FS, Matyushkina LA (2002) *J Environ Monit* 4: 803-808
- [9] Panyametheekul S (2004) *Environ Geochem Health* 26: 51-57.
- [10] Bloom NS, Preus E, Katon J, Hiltner M (2003) *Anal Chim Acta* 479: 233-248.
- [11] Filgueiras AV, Lavilla I, Bendicho C (2002) *J Environ Monit* 4: 823-857
- [12] Davis A, Bloom NS, Que Hee SS, (1997) *Risk Analysis* 17:557-569.
- [13] Band P, Brusset H, Jousot-Dubien J, Lamure J, Pascal P (1962) *Nouveau Traité de Chimie Minerale*, Masson et Cie Editeurs, Paris
- [14] Wallschlager D, Desai DVM, Splenger M, Wilken RD (1998) *J Environ Qual* 27: 1034-1044.
- [15] Beldowski J, Pempkowiak J (2003) *Chemosphere* 52: 645-654.
- [16] Han Y, Kingston H M, Boylan H M, Rahman G M, Shah S, Richter R C, Link D C, Bhandari S, (2003) *Anal Bioanal Chem* 375:428-436
- [17] Garret, Howell (1939) *J Am Chem Soc* 61: 1730
- [18] Kim CS, Bloom NS, Rytuba JJ, Brown G (2003) *Environ Sci Technol* 37: 5102-5108
- [19] Sladek C, Gustin MS (2003) *Appl Geochem* 18: 567-576
- [20] Rapin F, Tessier A, Campbell PGC, Carignan R (1986) *Environ Sci Technol* 20: 836-840

- [21] Nirel PMV, Morel FMM (1990) *Water Res* 24:1055-1056
- [22] Hall GEM, MacLaurin AI, Vaive JE (1995) *J Geochem Expl* 54: 27-38
- [23] Kennedy VH, Sanchez AL, Oughton DH, Rowland AP (1997) *Analyst* 122: 89R-100R.
- [24] Hall GEM, Pelchat P (2005) *Geochem Expl Environ Anal* 5: 115-121.
- [25] Coetzee P (1993) *Water SA* 19: 291-300
- [26] Tokalioglu S, Kartal S, Elçi L (2000) *Anal Chim Acta* 413: 33-40
- [27] Hall GEM, Pelchat P (1997) *Water Air Soil Pollut* 99: 217-223
- [28] Jonasson IR (1976) *Proceedings of the workshop on fluvial transport of sediment-associated nutrients and contaminants*. Shear H, Watson AEP (eds) Kitchene, Ontario, Canada, pp. 255-271.
- [29] Kennedy VH, Sánchez AL, Oughton DH, Rowland AP (1997) *Analyst* 122: 89R-100R.
- [30] Clevenger TE (1990) *Water Air Soil Pollut* 50: 241-254
- [31] Gauthreaux K, Noble CO, Falgoust T, Beck MJ, Sneddon J, Beck JN (1998) *Microchem J* 60: 175-183.
- [32] Davidson CM, Wilson LE, Ure AM (1999) *Fres J Anal Chem* 1999: 363: 134-136.
- [33] Biester H, Müller G, Schöler HF (2002) *Sci Total Environ* 284: 191-203.
- [34] Krishnamurti GSR, Huang PM, Van Rees KCJ, Kozak LM, Rostad HPW (1995) *Analyst* 120: 659-665
- [35] Gibson MJ, Farmer JG (1986) *Environ Pollut Ser B* 11 : 117-135
- [36] Kersten M, Förstner U (1986) *Water Sci Technol* 18: 121-130
- [37] Qiang T, Xiao-Quan S, Zhe-Ming N (1994) *Sci Total Environ* 151 : 159-165
- [38] Shuman LM (1983) *Soil Sci Soc Am J* 47: 656-660
- [39] Narwal RP, Singh BR, Salbu B (1999) *Commun Soil Sci Plant Anal* 30: 1209-1230
- [40] McGrath SP, Cegarra J (1992) *J Soil Sci* 43: 313-321
- [41] Ghode R, Muley R, Sarin R (1995) *Chem Speciation Bioavailability* 7: 133-137

- [42] Xiang HF, Tang HA, Ying QH (1995) *Geoderma* 66: 121-135
- [43] Berti WR, Cunningham SD (1997) *Environ Sci Technol* 31: 1359-1364
- [44] McLaren R (1998), en *16th World Congress of Soil Science*, Montpellier, Francia.
- [45] McKeague JA, Brydon JE, Miles NM (1971) *Soil Sci Soc Amer Proc* 35 : 33-38
- [46] Pickering WF (1986) *Ore Geol Rev* 1 : 83-146
- [47] McKeague JA (1968) *Can J Soil Sci* 48: 27-35
- [48] Bascomb CL, Thanigasalam K (1978) *J Soil Sci* 29: 382-387
- [49] Jeanroy E, Guillet B (1981) *Geoderma* 26: 95-105
- [50] Kersten M, Förstner U (1989) *Trace Element Speciation: Analytical Methods and Problems*, Baitley G (eds), CRC Press, pp. 245-317.
- [51] Bloom NS, Preus E (2003) *2nd International Symposium on Contaminated Sediments, Ecotoxicology*, pages 331-336
- [52] Do Valle CM, Santana GP, Augusti R, Egreja Filho FB, Windmöller CC (2005) *Chemosphere* 58: 779-792
- [53] Schwertmann U, Cornell RM (1991) *Iron Oxides in the Laboratory: Preparation and Characterization*. VCH-Weinheim, New York, 139 pp.
- [54] Schnitzer M, Schuppli P (1989) *Can J Soil Sci* 69: 253-262.
- [55] Hall GEM, Gauthier G, Pelchat JC, Pelchat P (1996) *J Anal At Spectrom* 11: 787-796
- [56] Xu Y, Axe L, Yee N, Dyers JA (2006) *Environ Sci Technol* 40 : 2213-2218
- [57] Emmerson RHC, Birkett JW, Scrimshaw M, Lester JN (2000) *Sci Total Environ* 254: 75-92
- [58] Zorpas AA, Constantinides T, Vlyssides AG, Haralombous I, Loizidou M (2000) *Bioresour Technol* 72 : 113-119
- [59] Schoer J (1985) *Environ Technol Lett* 6 : 189-202
- [60] Horowitz AJ, Eldrick KA (1987) *Appl Geochem* 2: 437-451
- [61] McKeague JA, Day JH (1966) *Can J Soil Sci* 46: 13-22
- [62] Thöming J, Calmano W (1998) *Acta Hydrochim Hydrobiol* 26: 338-343

- [63] Sondag F (1981) *J Geochem Exploration* 15: 645-658
- [64] Harrington JM, La Force MJ, Rember WC, Fendorf SE, Rosenzweig RF (1998) *Environ Sci Technol* 32: 650-656
- [65] Hugues JC, Noble AD (1991) *Commun Soil Sci Plant Anal* 22: 1753-1766
- [66] Shuman LM (1982) *Soil Sci Soc Am J* 46: 1099-1102
- [67] Rozenson I, Heller L (1978) *Clays Clay Miner* 12: 21-28
- [68] Chao TT (1972) *Soil Sci Soc Am Proc* 36: 764-768
- [69] Ahnstrom ZS, Parker DR (1999) *Soil Sci Soc Am J* 63: 1650-1658
- [70] Quevauviller P (1998) *Trends Anal Chem* 17: 289-298
- [71] Farrah H, Pickering WF (1993) *Chem Speciation Bioavailability* 5 : 81
- [72] Meghellati N, Robbe D, Marchandise P, Astruc M (1982) *Journal Français d'Hydrologie* 13 : 275
- [73] Gommy C (1997) Ph.D. Thesis, Université de Technologie de Compiègne, France.
- [74] Stein ED, Cohen Y, Winer, AM (1996) *Crit Rev Environ Sci Technol* 26: 1-43
- [75] Biester H, Gosar M, Müller G (1999) *J Geochem Explor* 65: 195-204
- [76] Pantoja F (1999) Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Madrid, España.
- [77] Laperdina TG, Melnikova MV, Khvostova TE (1995) "Gold mining in Siberia as a Source of Mercury Contamination of the Environment". En Ebinhaus R, Turner RR, Lacerda LD, Vasiliev O, Salomons W (Eds.) "Mercury Contaminated Sites", Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, pp. 357-374
- [78] Loredó J, Ordóñez A, Gallego JR, Baldo C, García-Iglesias C (1999) *J Geochem Explor* 67: 377-390
- [79] Hernández A.M. (1984) Tesis Doctoral Universidad de Salamanca, España
- [80] Saupé, F. (1990) *Economic Geology* 85: 482-510
- [81] Fernández-Martínez R, Loredó J, Ordóñez A, Rucandio MI (2006) *Environ Pollut* 142: 217-226
- [82] Navarro A, Biester H, Mendoza JL, Cardellach E (2006) *Environ Geol.* 49: 1089-1101

- [83] Gray JE (2004) Geological Society of America, *Abstracts with Programs*, Vol. 36, No. 5, p. 125.
- [84] Revis NW, Osborne TR, Holdsworth G, Hadden C (1989) *Water Air Soil Pollut* 45: 105-113
- [85] Bombach G, Bombach K, Klemm W (1994) *Fres J Anal Chem* 350: 18-20
- [86] Windmüller CC, Wilken RD, Jardim WF (1996) *Water Air Soil Pollut* 90: 399-416
- [87] Biester H, Scholz C (1997) *Environ Sci Technol* 31 : 233-239
- [88] Biester H, Gosar M, Covelli S (2000) *Environ Sci Technol* 34 : 3330-3336
- [89] Miller E, Dobb D, Cardenas D, Heithmar H (1994) *US EPA EMSL-LV Internal Report*
- [90] Hall GEM, Pelchat P, Percival JB (2005) *Geochem Explor Environ Anal* 5: 107-113
- [91] Fernández-Martínez R, Rucandio MI (2003) *Anal Bioanal Chem* 375: 1089-1096
- [92] Stumm W, Morgan JJ (1995) *Aquatic Chemistry*, 3rd ed, John Wiley.
- [93] Ravichandran M, Aiken GR, Ryan JN, Reddy MM (1999) *Environ Sci Technol* 33 : 1418-1423
- [94] Schwarzenbach, G, Widmer, M *Helv Chim Acta* (1963) 46: 2613-2628
- [95] Schuster E (1991) *Water Air Soil Pollut* 56: 667-680
- [96] Ebinghaus R, Tripathi RM, Wallschläger D, Lindberg SE (1999). En: *Mercury Contaminated Sites* Ebinghaus R, Turner R R, Lacerda L D, Vasiliev O, Salomons W (eds), Springer, Berlin, Heidelberg, New York.
- [97] Mikac N, Foucher D, Niessen S, Lojen S, Fischer JC (2003) *Anal Bioanal Chem* 377: 1196-1201.
- [98] Fernández-Martínez R, Rucandio MI (2005) *Anal Bioanal Chem* 381: 1499-1506
- [99] Revis, N.W., Osborne, T.R., Sedgley, D., King, A. (1999) *Analyst* 114, pp. 823-825
- [100] Sakamoto, H.; Tomiyasu, T.; Yonehara, N. (1992) *Anal Sci* 8: 35-39
- [101] Lecher PJ, Miller JR, Hsu LC, Desilets MO (1997) *J Geochem Explor* 58: 259-267

[102] Hlavay J, Prohaska T, Weisz M, Wenzel WW, Stinger GJ (2004) *Pure Appl Chem* 76: 415-442

[103] Shi J, Liang L, Jiang, G, Jin X (2005) *Environ Int* 31: 357-365

8.1. DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

La hoja de Almadén se haya situada en el extremo suroeste de la provincia de Ciudad Real, en su límite con las de Badajoz y Córdoba, en las estribaciones septentrionales de Sierra Morena.

La red hidrográfica principal está formada por los ríos Valdeazogues y Alcudia, tributarios del Guadiana, que cruzan la hoja de este a oeste y confluyen en su límite occidental.

El núcleo de población más importante es Almadén, en el extremo occidental. Otras localidades son Almadenejos, Alamillo, Fontanosas y Gargantiel.



Figura 8.1. Localización geográfica de Almadén

Desde el punto de vista geológico, la hoja se encuentra en la zona Luso-Oriental-Alcúdica, según la clasificación de Lotze [1]. Dentro de la división de zonas para la Meseta Ibérica, establecida por Julivert *et al.* [2], esta hoja se situaría en la parte meridional de la zona Centro-Ibérica, próxima a la zona de Ossa-Morena.

El clima de la región es típicamente mediterráneo continental, con veranos muy secos y cálidos, inviernos secos y fríos, y primaveras y otoños con temperaturas templadas en los que se concentran las precipitaciones. La pluviosidad media anual es del orden de los 500-700 mm, si bien este dato promedio presenta una considerable variabilidad de unos años a otros. Las temperaturas medias anuales, por su parte, oscilan entre los 6-8°C (invierno) y 26-28°C (verano) [3].

En esta región, se encuentra el mayor depósito de mercurio del mundo, que ha sido explotado históricamente desde hace más de 2000 años.

Los yacimientos del distrito de Almadén son prácticamente monometálicos. En efecto, según algunos estudios, el mercurio no muestra relaciones significativas con otros metales, tales como el Ti, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu y Pb [4]. El Sb, elemento que acompaña frecuentemente al mercurio, está ausente en el mineral del depósito de Almadén [5], sin embargo, se encuentran pequeñas apariciones de estibinita en las proximidades (a unos 20 km), incluso ha sido minada en tres pequeños yacimientos en Almuradiel, 100 km al este de Almadén.

La mineralización consiste principalmente en cinabrio y, en menor cantidad en mercurio nativo [4, 5]. Parte de éste puede ser de origen secundario, debido a procesos de reducción por la materia orgánica (cuarcitas negras). La piritita es el otro sulfuro presente y puede llegar a ser, como ocurre en el yacimiento de Las Cuevas, muy abundante [4-6].

La ganga está formada por cuarzo, dolomita y baritina que se presentan por lo general tapizando grietas y cavidades. En algunas ocasiones poseen pequeños cristales de cinabrio en su interior, por lo que aquellos minerales pueden adquirir una tonalidad rojiza [4].

La mineralización de mercurio del área de Almadén se presenta bajo diferentes formas que podemos agrupar en dos fundamentales [4, 5, 7-10]. En la primera de ellas se encuentra impregnando cuarcitas, como sucede en los yacimientos de Almadén, El Entredicho y La Concepción Vieja, donde la mineralización se basa en la formación de la llamada Cuarcita de Criadero de edad Silúrico Inferior.



Figura 8.2. Capa de cuarcita mineralizada con cinabrio (rojo) en la mina de El Entredicho. Fuente: [3]

Estos yacimientos estarían ligados a las fases tempranas de un vulcanismo explosivo, emisor de rocas básicas. La mayor parte del mercurio quedó atrapado en la Cuarcita de Criadero (figura 8.2) y una pequeña parte salió a la superficie del fondo marino, donde dio lugar a los depósitos de cinabrio masivo.

La segunda forma de presentarse la mineralización de mercurio en el área de Almadén se basa en mineralizaciones discordantes en diversas unidades. Las mineralizaciones discordantes son muy numerosas, y por lo general de importancia menor; consisten en rellenos de fracturas y filones, o reemplazamientos parciales de las rocas encajantes en cada caso. Sólo dos de las de este tipo llegan a tener interés minero: los yacimientos de Las Cuevas (que dan nombre al grupo: “Tipo Las Cuevas”) y La Nueva Concepción. En este caso se trata de reemplazamientos casi generalizados, acompañados de una densa red de fracturas rellenas por la mineralización de cinabrio, que parecen responder a la intersección de zonas de fractura tipo cizalla con rocas básicas, tipo Frailesca o basaltos en general, de forma que la fracturación favorece el acceso de los fluidos mineralizantes, y las rocas se comportan como reactivas frente a estos fluidos, debido a que están alteradas, con altos contenidos en carbonatos.

De esta forma, las características finales de cada uno de estos dos tipos de yacimientos son las siguientes [11]:

- Yacimientos Tipo Almadén: se trata de impregnaciones de cinabrio en rocas cuarcíticas (Figura 8.2), con contenidos en mercurio del orden del 5 al 10%, si bien puntualmente pueden llegar a ser más altos. Junto con el cinabrio encontramos algo de pirita, siempre en proporción baja. En el yacimiento o su entorno inmediato encontramos siempre rocas magmáticas básicas fuertemente alteradas, por lo general con muy altos contenidos en carbonatos. Calcita, dolomita, ankerita, magnesita y siderita pueden aparecer en proporciones variables en este tipo de rocas, junto con otros minerales como clorita, mica crómica (fuchsita) [12], talco, o sílice microcristalina (ópalo). El tamaño de estos yacimientos puede ser variable: el mayor, la Mina de Almadén, es sin duda alguna el más grande del mundo, con unas reservas iniciales del elemento próximas a 8 millones de frascos (unas 400.000 toneladas, un frasco de mercurio contiene unos 34,5 kg del metal líquido), mientras que el segundo en importancia, El Entredicho, presenta unas reservas explotadas del orden de los 350.000 frascos.

- Yacimientos Tipo Las Cuevas: se trata de mineralizaciones controladas por fracturas y por el reemplazamiento de alta reactividad. De esta forma, el cinabrio se encuentra controlado por un factor tectónico, que favorece la entrada de los fluidos mineralizantes, y un factor litológico, el de la reactividad de la roca, que debe contener abundantes carbonatos. Así, la mineralización de cinabrio se encuentra en forma de cuerpos de reemplazamiento de formas variadas en el detalle, con predominio de rellenos de redes de fractura más o menos complejas cuando encaja en rocas detríticas o cuarcíticas, poco reactivas, y sustituciones generalizadas de las litologías volcánicas y piroclásticas. El cinabrio suele ir acompañado de altas cantidades de pirita. El tamaño de los yacimientos varía desde el nivel de simples mineralizaciones inexplorables, hasta el de los yacimientos de Las Cuevas o La Nueva Concepción, con reservas explotadas del orden de los 250.000 frascos.

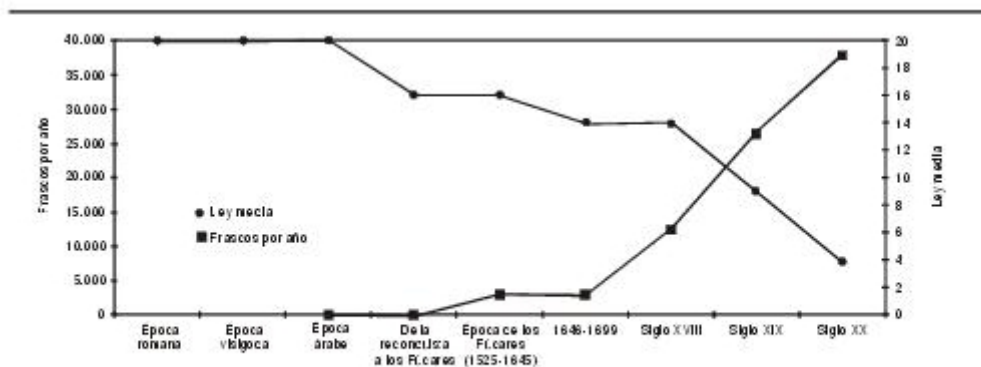
8.2. EVOLUCIÓN HISTÓRICA DE LA EXPLOTACIÓN

Posiblemente, Almadén estuviese ya en explotación hace 6.000 años aunque las primeras referencias documentadas se sitúan alrededor de 490 años a. C. Durante el Imperio Romano fue explotado sistemáticamente (las minas eran propiedad del

emperador) y a partir de la caída del mismo no existe información documentada, hasta que durante el siglo VIII (año 711) se inicia la dominación árabe de España, pasando el yacimiento a ser propiedad de los califas [13].

Durante el siglo XII el Reino de Castilla desplazó la dominación árabe, pasando el yacimiento a ser controlado por el Estado español. La importancia económica del yacimiento experimentó un fuerte incremento durante el siglo XVI, a raíz del descubrimiento de los yacimientos de oro y plata en América, y por el hallazgo del método de amalgamación para la recuperación de dichos metales, lo que cambió el mercado del mercurio, incrementándose radicalmente su demanda. Paralelamente, aumentaron también las necesidades de mano de obra, repoblándose la comarca con población morisca, presidiarios o mediante estímulos fiscales y sociales (como exenciones de incorporación al ejército).

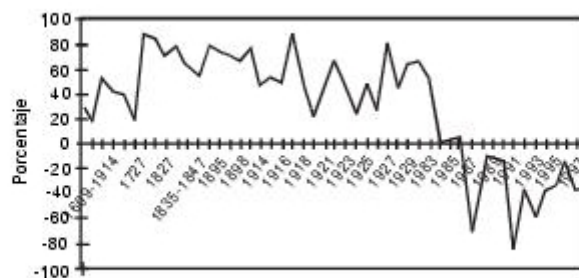
Debido a la intensa explotación minera de oro y plata en las colonias americanas durante la época imperial, la demanda siempre fue superior a la producción durante los siglos XVI, XVII y XVIII. En estos siglos, la importancia estratégica de la mina era fundamental para el estado, llegando incluso a servir de aval para la concesión de préstamos por parte de banqueros alemanes con los cuales se financiaron las guerras europeas que libraba la corona española. En la segunda mitad del XVIII, la incorporación de tecnologías mineras extranjeras (provenientes de Freiberg, Alemania) y la progresiva mecanización de las labores incrementaron su capacidad productiva. En el siglo XIX, la revolución industrial trajo consigo nuevas aplicaciones del mercurio y nuevos incrementos de demanda. Las inestabilidades sociales y políticas de la segunda mitad del siglo XIX y el primer tercio del siglo XX, impidieron al distrito de Almadén (a pesar de su constante aumento de producción) hacer frente a las exigencias del mercado [14].



Fuente: Matilla (1958), Matilla (1987), Memorias anuales de Almadén, Martínez (1934).

Figura 8.3. Evolución de la producción de Almadén (frascos/año y ley media explotada).

Los usos industriales y bélicos del mercurio (fulminantes y explosivos) dispararon su demanda en la primera mitad del siglo XX (figura 8.3.). Posteriormente, su progresiva sustitución por otros metales en la industria química (clorocáusticas, baterías alcalinas, fungicidas, antigerminantes, etc.) y su abandono como metal estratégico desde el punto de vista armamentístico, produjeron una brusca caída de las demandas, acentuada en los años ochenta por la presión ecologista.



Fuente: Matilla (1958), Matilla (1987), Memorias anuales de Almadén, Martínez (1934).

Figura 8.4. Evolución de la rentabilidad del distrito de Almadén.

Durante las últimas décadas, la actividad minera sufrió una progresiva regresión en Almadén que, por primera vez en su historia milenaria, tuvo pérdidas en los años ochenta (figura 8.4). La consiguiente disminución del número de trabajadores ha tenido una considerable repercusión social y económica en la comarca. Minas de Almadén y Arrayanes S.A. (MAYASA), como explotadora del distrito minero, intentó hacer frente a esta nueva situación mediante un Plan de Reversión y una diversificación de sus

actividades. En el momento presente, la “Estrategia Comunitaria para el Mercurio”, posiblemente unida al aumento generalizado del precio de las materias primas minerales, está teniendo unas repercusiones muy importantes sobre la situación del metal, con un aumento muy considerable de la demanda, que está suponiendo, claro está, un aumento muy importante también de los precios.

8.3. IMPACTO DEL MERCURIO EN EL MEDIOAMBIENTE DE LA ZONA

Aunque la bibliografía acerca de la génesis y naturaleza de los yacimientos de cinabrio en Almadén es muy extensa, no existen muchos estudios acerca del ciclo del mercurio en la zona y su impacto en el medioambiente local. Los primeros estudios globales importantes, realizados en este sentido, fueron desarrollados en los años 80 del pasado siglo por el Oak Ridge National Laboratory (ONRL) [15-17].

En estos estudios se evaluó el impacto de las actividades de extracción y refinamiento del mineral de mercurio sobre el medioambiente acuático y terrestre de la zona, así como en la biota. Se encontraron concentraciones anómalas de mercurio en todos los compartimentos medioambientales estudiados, lo que dio lugar a la puesta en marcha de un programa de control de los niveles de mercurio en el agua y en la atmósfera de la región. Sin embargo, estos datos continúan en su mayor parte sin publicar.

Existen otros estudios parciales, como el realizado por Ferrara *et al.* (1997) [18], en el que se detectaron flujos de mercurio en el aire urbano de la población de Almadén del orden de 800 g h^{-1} , ó el de Maserti *et al.* (1996) [19] en el que se determinaron concentraciones significativas en peces recogidos en las vías fluviales próximas a la mina. Estas investigaciones no hacen sino confirmar la importancia y el impacto que han tenido las actividades mineras y metalúrgicas en el medioambiente de la zona.

Más recientemente se han realizado otros estudios en la zona, como el llevado a cabo por Gray *et al.* (2004) [20], en el que se determinaron los contenidos totales de Hg, su especiación, así como las constantes de metilación y desmetilación en escombreras procedentes de la calcinación del mineral, sedimentos y aguas del distrito minero, llegando a encontrarse concentraciones muy importantes de MeHg en todos los

ambientes, superando en el caso de muchas de las muestras de agua los niveles permitidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS). El potencial de metilación en suelos y sedimentos también fue muy alto, sugiriéndose la posibilidad de la presencia de elevadas cantidades de Hg reactivo, altamente disponible para su biometilación a través de la acción bacteriana. Finalmente, el estudio global más reciente ha sido realizado por Higuera *et al.* (2006) [21], evaluando los contenidos de mercurio en sedimentos, suelos, atmósfera e incluso en plantas acuáticas y crustáceos en diferentes puntos significativos dentro del distrito minero, habiendo encontrado de nuevo concentraciones muy importantes de Hg en todos los compartimentos estudiados y concluyendo que debido a la intensa labor minera realizada a lo largo de todo el periodo de explotación, el área minera de Almadén se encuentra altamente contaminada y que por tanto presenta riesgos para el medioambiente.

En un esfuerzo por controlar y paliar los efectos de la contaminación de mercurio en la zona, en el año 1999 se ponen en marcha diversos proyectos dedicados a la evaluación del impacto del mercurio en Almadén y a su posible recuperación. Los objetivos más importantes que persiguen estos proyectos se pueden agrupar en los siguientes puntos:

- 1) Caracterización de los suelos contaminados por mercurio.
- 2) Evaluación del contenido y estudio de la especiación de mercurio en aguas y sedimentos fluviales.
- 3) Evaluación de la distribución del mercurio en la atmósfera en relación con las posibles fuentes de emisión.
- 4) Propuesta y análisis de tecnologías de recuperación de los diversos entornos.

8.4. OBJETIVOS DEL ESTUDIO

El objetivo general del presente estudio es la evaluación de la movilidad y distribución del Hg en suelos del área minera de Almadén mediante la aplicación de métodos de extracción secuencial.

Se estudia el fraccionamiento del Hg en distintos horizontes de suelos procedentes de dos parcelas previamente seleccionadas en el área minera, con el fin de evaluar su distribución en profundidad.

Para ello se aplican diferentes metodologías tanto propias, desarrolladas en la presente tesis, como procedentes de la bibliografía, a los distintos horizontes establecidos. Los resultados que se obtienen mediante los diferentes métodos aplicados, se comparan y se evalúa su idoneidad para el estudio de estos suelos.

Asimismo, con el fin de complementar una información global sobre la distribución del Hg en estos suelos y sus horizontes, se estudia su contenido en especies orgánicas de Hg mediante la aplicación del método de extracción de la fracción de Hg Orgánico desarrollado en la presente tesis.

8.5. PARTE EXPERIMENTAL

8.5.1. Toma de muestras

Uno de los programas puestos en marcha para estudiar y hacer frente al problema de la contaminación del mercurio en la zona minera de Almadén, fue el proyecto BIORENEW (1999) [22] en el cual participó activamente el CIEMAT y cuyo principal objetivo era evaluar la efectividad del eucalipto (*Eucalyptus camaldulensis*) como medio de fitorremediación. A tal efecto fueron seleccionados inicialmente diez parcelas dentro del distrito minero de Almadén, determinándose el contenido en mercurio en la superficie del suelo y las principales características de sus respectivos perfiles. A la vista de los datos recogidos se seleccionaron finalmente dos parcelas, llamadas P4 y P9 para el establecimiento de las plantaciones y para la realización de subsiguientes estudios.

De estas parcelas y sus respectivos perfiles, proceden las muestras con las que se ha trabajado y se han realizado los estudios presentados en esta Tesis, correspondientes al área minera de Almadén.

La parcela nº 4 corresponde a una zona de antigua minería y actividad metalúrgica, mientras que la parcela nº 9, distante unos 13 km de la anterior, está muy próxima a la zona de actividad metalúrgica más reciente.

La litología de la región en la parcela nº 4 se caracteriza por una mezcla de pizarras y areniscas interpoladas con rocas volcánicas, mientras que en la parcela nº 9, está compuesta por una sucesión turbídica interpolada con pizarras y grauvacas.

Después de delimitar un área de 1 Ha en cada parcela, se identificaron dos puntos representativos en cada área delimitada y se tomaron perfiles del suelo a una profundidad de 1,5 y 0,8 m respectivamente. Estos perfiles tomados se definieron por los diferentes horizontes comprendidos en ellos y se tomaron muestras de cada horizonte para realizar posteriores análisis físico-químicos [22].

Las localizaciones de ambas parcelas vienen descritas en las tablas 8.1 y 8.2.

Tabla 8.1. Localización y clasificación del suelo en la parcela 4

Provincia: CIUDAD REAL	Distrito: ALMADENEJOS	Longitud UTM: 352,178
Situación: Carretera ALMADENEJOS-GARGANTIEL, 500 m al oeste de Almadenejos	Lugar: Camino de Los Santos	Latitud UTM: 4.289.628
Uso: DEHESA	Pendiente: 3,2%	Altitud: 478,5 mbls
CLASIFICACIÓN		
Según USDA-SOIL TAXONOMY (1990): ALFISOL XERALF HAPLOXERALF TYPIC/LITHIC HAPLOXERALF		
Leyenda FAO (1990): LIXISOL FÉRRICO		

Tabla 8.2. Localización y clasificación del suelo en la parcela 9

Provincia: CIUDAD REAL	Distrito: ALMADÉN	Longitud UTM: 339,690
Situación: Sur de Almadén. A 1 Km del cruce entre Vivero y Alamillo	Lugar: Era Barbadillo	Latitud UTM: 4.291.718
Uso: DEHESA	Pendiente: 8%	Altitud: 489,5 mbls
CLASIFICACIÓN		
Según USDA-SOIL TAXONOMY (1990): ALFISOL XERALF HAPLOXERALF TYPIC HAPLOXERALF		
Leyenda FAO (1990): LIXISOL FÉRRICO		

Conviene indicar que todos los estudios realizados así como los resultados presentados en esta memoria de Tesis concernientes al área minera de Almadén, se refieren exclusivamente a muestras originales recogidas de las parcelas P4 y P9 y sus correspondientes horizontes, para el proyecto BIORENEW (1999). Por tanto los resultados y conclusiones obtenidas sólo son aplicables a estas muestras y pueden considerarse representativos de las parcelas de las cuales se recogieron en el momento de muestreo, pero en ningún caso serán enteramente extrapolables a la totalidad del área minera de Almadén.

8.5.2. Preparación de las muestras

Las muestras recogidas se secan en un horno a temperatura inferior a 40 °C con el fin de evitar la pérdida de materias volátiles. Se realiza un fraccionamiento de las mismas empleando tamices de tamaño preestablecido, diferenciando dos fracciones granulométricas: mayor de 2 mm y menor de 2 mm de diámetro de partícula. A continuación las fracciones granulométricas de tamaño inferior a 2 mm de diámetro se pulverizan en un molino TEMA.

8.5.3. Caracterización de las muestras

Se lleva a cabo una completa caracterización morfológica, granulométrica y físico-química de las muestras de suelos tomadas de ambas parcelas.

El pH se ha medido con un pH-metro Crisol modelo GLP 22. Los análisis multielementales se llevaron a cabo mediante la técnica ICP-AES, empleando un espectrómetro simultáneo Joven Yvon modelo JY48, determinando los contenidos de C total, C inorgánico y S mediante un analizador elemental LECO modelo CS-244 equipado con un horno de inducción HF-100.

8.5.4. Aplicación de métodos de extracción de Hg

A los diferentes horizontes tomados de las parcelas P4 y P9, se les ha aplicado de forma independiente los siguientes métodos:

Método Revis: Las condiciones experimentales aplicadas vienen descritas en el capítulo correspondiente a la descripción de los métodos de extracción secuencial (capítulo 4, apartado 4.3.2.1).

Método de extracción de Hg unido a sulfuro: Este método, desarrollado en los estudios descritos a lo largo de presente memoria de Tesis, se aplicó en las condiciones detalladas en el capítulo 4, apartado 4.3.2.2..

Método EPA 3200: El método fue adoptado para su realización en el laboratorio sin apenas modificaciones (ver capítulo 4, aptdo. 4.3.2.3). Únicamente se decidió aplicar el ensayo de eliminación de cloruros tres veces sucesivas a cada una de las muestras, en lugar de lograr una eliminación completa de los cloruros tal y como proponen los autores. Se decidió adoptar esta solución de compromiso debido a que la adición de agua en los ensayos produce una disminución del pH, que provoca una excesiva precipitación de hidróxidos, presumiblemente de hierro, que dificultan la separación de las fases sólida y líquida y pueden conducir a pérdidas inaceptables de muestra. El ensayo resultó claramente positivo en las tres ocasiones, lo que demostraba que no todos los cloruros solubles eran eliminados. Para poder aplicarlo sucesivas veces fue necesario modificar las condiciones de centrifugación. Por ello se decidieron adoptar las siguientes condiciones de centrifugación en los ensayos de cloruros:

- Ensayo 1: 3200 rpm durante 7 minutos (condiciones estándar del método).
- Ensayo 2: 4000 rpm durante 10 minutos.
- Ensayo 3: 5000 rpm durante 15 minutos.

La determinación del Hg en las distintas fracciones se realiza mediante las técnicas CV-AAS y CV-ICP-AES, empleada para la determinación del Hg en las fracciones SCF1 y SCF2 (ver capítulo descripción de técnicas analíticas apartados 3.2.1 y 3.3.2). La razón del empleo de esta última técnica es que el Hg orgánico presente no puede determinarse

mediante CV-AAS empleando SnCl_2 como reductor, dado que este reactivo es incapaz de reducir las especies orgánicas de Hg a $\text{Hg}(0)$. Por este motivo se adopta la técnica CV-ICP-AES, única disponible en el laboratorio en el momento de realización de las experiencias que se describen, capaz de determinar de manera cuantitativa el contenido de Hg presente en la fracción SCF1.

Método de extracción secuencial propio: Respecto a su realización en el laboratorio, el método se aplica tal cual se ha expuesto en el capítulo 4 (aptdo. 4.3.2.4), sin realizar ninguna modificación relevante respecto al procedimiento experimental establecido. El proceso se realiza por triplicado para todas las muestras ensayadas. La acidificación de los extractos obtenidos en la segunda etapa (extracción con $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1M) se realiza mediante la adición de 3 gotas de HCl c.c. a cada uno de los extractos, comprobándose en todos los casos que el pH desciende hasta un valor de 1-2, adecuado para la determinación de los mismos en los equipos de medida del laboratorio.

Método propio de extracción de Hg orgánico: En la aplicación del método a estos suelos las condiciones experimentales no se modifican respecto a las descritas en el capítulo correspondiente de la presente memoria de tesis (ver capítulo 4, apartado 4.4.1). Las muestras se analizan por cuadruplicado, de manera que los resultados expresan el valor medio obtenido de las cuatro réplicas realizadas.

8.6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.6.1. Distribución por tamaño de grano de las muestras

Los resultados de la caracterización granulométrica para las muestras de ambas parcelas se muestran en las tablas 8.3 y 8.4.

Tabla 8.3. Características y granulometría de las muestras de la parcela 4

Horiz.	Prof. (cm)	Densidad aparente (g cm ⁻³)	Elemento grueso %	Granulometría (USDA)					Textura
				Arcilla %	Cal %	Arena (%)			
						Fina	Gruesa	Total	
A	0-12	1,360	69,1	18,1	36,4	23,3	22,2	45,5	Marga
Bt1	12-36	1,360	63,6	25,0	35,53	17,7	21,7	39,4	Marga
Bt2	36-60	1,215	76,7	37,5	29,85	13,8	18,8	32,6	Arcilla-marga
C	60-150	1,160	68,7	45,3	26,55	14,8	13,3	28,1	Arcilla

Tabla 8.4. Características y granulometría de las muestras de la parcela 9

Horiz.	Prof. (cm)	Densidad aparente (g cm ⁻³)	Elemento grueso %	Granulometría (USDA)					Textura
				Arcilla %	Cal %	Arena (%)			
						Fina	Gruesa	Total	
A	0-19	1,440	58,7	17,1	30,7	38,8	13,4	52,2	Marga
Bt1	19-51	1,215	78,6	36,7	32,6	17,4	13,3	30,7	Arcilla-marga

8.6.2. Caracterización de las muestras

8.6.2.1. Descripción morfológica

La morfología de las muestras recogidas se describe en las tablas 8.5 y 8.6.

Tabla 8.5. Descripción morfológica de las muestras de la parcela 4

Horizonte	Profundidad (cm)	Descripción
A	0-12	Color marrón claro en el campo. Abundancia de pequeñas raíces herbáceas. No presencia de gusanos de tierra. Abundantes guijarros heterométricos. No reacción con HCl. Estructura en grumos. Textura: marga.
Bt1	12-36	Color marrón oscuro en el campo. Presencia de pequeñas raíces de plantas herbáceas y raíces de 1-3 cm de árboles. Guijarros heterométricos dispersos 3-4 y 7-8 cm. No reacción con HCl. Textura: marga
Bt2	36-60	Color marrón oscuro en campo con nódulos arcillosos. Presencia de raíces de árboles de hasta 3 cm de espesor. Guijarros de cuarcita dispersos. No reacción con HCl. Sin estructura. Nódulos arcillosos con estructura en masa. Textura: arcilla-marga
C	60-150	Color marrón en campo. Sin presencia de raíces. Guijarros heterométricos dispersos. No reacción con HCl. Sin estructura. Textura: arcilla

Tabla 8.6. Descripción morfológica de las muestras de la parcela 9

Horizonte	Profundidad (cm)	Descripción
A	0-19	Color marrón claro en el campo. Presencia de pequeñas raíces. No presencia de gusanos de tierra. Presencia de guijarros heterométricos. No reacción con HCl. Sin estructura. Textura: marga.
Bt1	19-51	Color ocre en el campo. Enriquecimiento y concreciones de hierro. Abundantes piedras heterométricas. No reacción con HCl. Sin estructura. Textura: arcilla-marga.

8.6.2.2. Análisis Químico

Los resultados de la caracterización química de las muestras, incluyendo la determinación del contenido de humedad y pH de las mismas, se muestran en las tablas 8.7 y 8.8.

Tabla 8.7. Datos analíticos de las muestras de la parcela 4

Horizonte	A	Bt1	Bt2	C	
Humedad (%)	2,4	4,5	4,9	8,7	
pH	H ₂ O	6,55	6,74	6,62	6,94
	CaCl ₂	5,98	5,73	5,55	5,79
C Inorg. (%)	0,03	0,03	0,03	0,02	
C Total (%)	2,00	1,00	0,63	0,82	
S Total (%)	0,05	0,04	0,04	0,05	
Cl Lix. (µg g ⁻¹)	< 20	< 20	< 20	< 20	
NO ₃ ⁻ Lix. (µg g ⁻¹)	< 20	55	< 20	< 20	
SO ₄ ²⁻ Lix. (µg g ⁻¹)	27	< 20	25	50	
Hg (µg g ⁻¹)	29	25	21	15	
Fe (%)	7,3	7,6	7,3	7,3	
Mn (%)	0,11	0,12	0,09	0,12	
Al ₂ O ₃ (%)	13,8	14,2	18,5	18,5	
As (µg g ⁻¹)	< 25	< 25	< 25	< 25	
Ba (µg g ⁻¹)	430	440	525	525	
Be (µg g ⁻¹)	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	
CaO (%)	0,45	0,45	0,39	0,45	
Ce (µg g ⁻¹)	120	110	125	125	
Co (µg g ⁻¹)	17	50	37	30	
Cr (µg g ⁻¹)	270	230	205	220	
Cu (µg g ⁻¹)	39	38	33	34	
K ₂ O (%)	1,2	1,2%	1,3%	1,3%	
La (µg g ⁻¹)	50	44	47	45	
Li (µg g ⁻¹)	54	54	79	81	
MgO (%)	1,0	1,2	1,1	1,2	
Mo (µg g ⁻¹)	< 5	< 5	< 5	< 5	
Na ₂ O (%)	0,91	0,88	0,83	0,72	
Ni (µg g ⁻¹)	105	100	115	110	
Pb (µg g ⁻¹)	53	46	40	35	
P ₂ O ₅ (%)	0,13	0,12	0,03	< 0,02	
Sn (µg g ⁻¹)	< 20	< 20	< 20	< 20	
Sr (µg g ⁻¹)	110	94	105	105	
TiO ₂ (%)	3,0	2,6	1,9	2,0	
Th (µg g ⁻¹)	21	24	30	23	
U (µg g ⁻¹)	6,9	6,8	12	8,6	
V (µg g ⁻¹)	225	210	210	210	
W (µg g ⁻¹)	36	40	35	43	
Y (µg g ⁻¹)	32	31	31	32	
Zn (µg g ⁻¹)	135	135	125	125	

Tabla 8.8. Datos analíticos de las muestras de la parcela 9

Horizonte		A	Bt1
Humedad (%)		0,9	3,9
pH	H₂O	5,83	6,32
	CaCl₂	4,66	5,44
C Inorg. (%)		0,01	0,01
C Total (%)		1,00	0,38
S Total (%)		0,03	0,03
Cl⁻ Lix. (µg g⁻¹)		< 20	< 20
NO₃⁻ Lix. (µg g⁻¹)		< 20	< 20
SO₄²⁻ Lix. (µg g⁻¹)		25	43
Hg (µg g⁻¹)		64	13
Fe (%)		2,7	4,1
Mn (%)		0,05	0,05
Al₂O₃ (%)		8,4	16,6
As (µg g⁻¹)		67	< 25
Ba (µg g⁻¹)		330	550
Be (µg g⁻¹)		< 5,0	< 5,0
CaO (%)		0,17	0,35
Ce (µg g⁻¹)		64	69
Co (µg g⁻¹)		17	22
Cr (µg g⁻¹)		59	91
Cu (µg g⁻¹)		15	26
K₂O (%)		1,2	1,8
La (µg g⁻¹)		28	30
Li (µg g⁻¹)		21	32
MgO (%)		0,59	1,20
Mo (µg g⁻¹)		< 5,0	< 5,0
Na₂O (%)		0,88	1,70
Ni (µg g⁻¹)		13	27
Pb (µg g⁻¹)		42	34
P₂O₅ (%)		0,04	0,02
Sn (µg g⁻¹)		< 20	< 20
Sr (µg g⁻¹)		49	85
TiO₂ (%)		0,64	0,65
Th (µg g⁻¹)		19	33
U (µg g⁻¹)		7,7	13
V (µg g⁻¹)		69	110
W (µg g⁻¹)		< 25	< 25
Y (µg g⁻¹)		17	25
Zn (µg g⁻¹)		34	46

8.6.3. Estudio de la movilidad del Hg

8.6.3.1. Aplicación del método Revis:

Siendo Almadén el mayor depósito de cinabrio del mundo parece lógico pensar que la mayor parte del mercurio presente en sus suelos pueda encontrarse en forma de sulfuro. Así, en los estudios preliminares se trata de cuantificar el mercurio unido a sulfuro en las muestras recogidas de las parcelas seleccionadas así como en sus correspondientes horizontes.

Para llevar a cabo la cuantificación del mercurio unido a sulfuro se propone la aplicación del método Revis [23]. Este método fue específicamente desarrollado para la determinación de mercurio unido a sulfuro en suelos y sedimentos. Está desarrollado sobre la base de la diferencia de solubilidades existente entre las diferentes especies de mercurio, en particular en la insolubilidad del HgS en disolventes ácidos. De este modo, basándose en estudios previos de solubilidad, según los cuales la mayoría de las especies de mercurio son solubles en ácido nítrico siendo una excepción el HgS, Revis propone un método de extracción secuencial en el cual los suelos y sedimentos son sometidos primeramente a una extracción con HNO₃ a fin de lixiviar todas las especies de mercurio excepto el cinabrio. En una segunda extracción basada en la solubilidad del HgS en soluciones de sulfuro sódico, aplica este disolvente como agente extractante para obtener la fracción de mercurio unido a sulfuro.

Revis justificó esta metodología a través de estudios de recuperación de especies de mercurio marcadas isotópicamente con ²⁰³Hg (²⁰³HgCl₂ y ²⁰³HgS) previamente adicionadas a suelos, encontrando por un lado que en la etapa de lixiviación nítrica se recuperaba casi cuantitativamente (95%) el ²⁰³HgCl₂ adicionado, mientras que no había una recuperación significativa (< 1,5%) de ²⁰³HgS y por el otro lado, la aplicación de una extracción simple con una solución saturada de Na₂S no lograba extraer apenas ²⁰³HgCl₂ (recuperación < 1,3%) a la vez que el ²⁰³HgS era extraído cuantitativamente (98%). Las condiciones experimentales del método fueron fijadas tal y como se muestran en el diagrama de flujo de la figura 8.5 y lo aplicó con éxito a muestras de suelos contaminados con mercurio [24].

Entre las ventajas de este método se encuentran el que permite estimar, de una manera más bien grosera pero a la vez sencilla, la cantidad de mercurio móvil o disponible presente en el suelo, o, dicho más adecuadamente, permite cuantificar el mercurio presente no disponible para su movilización, asumiendo que el resto representa el mercurio potencialmente disponible. Por todo ello, parece representar una elección lógica a la hora de estudiar preliminarmente la distribución del mercurio en los suelos de Almadén.

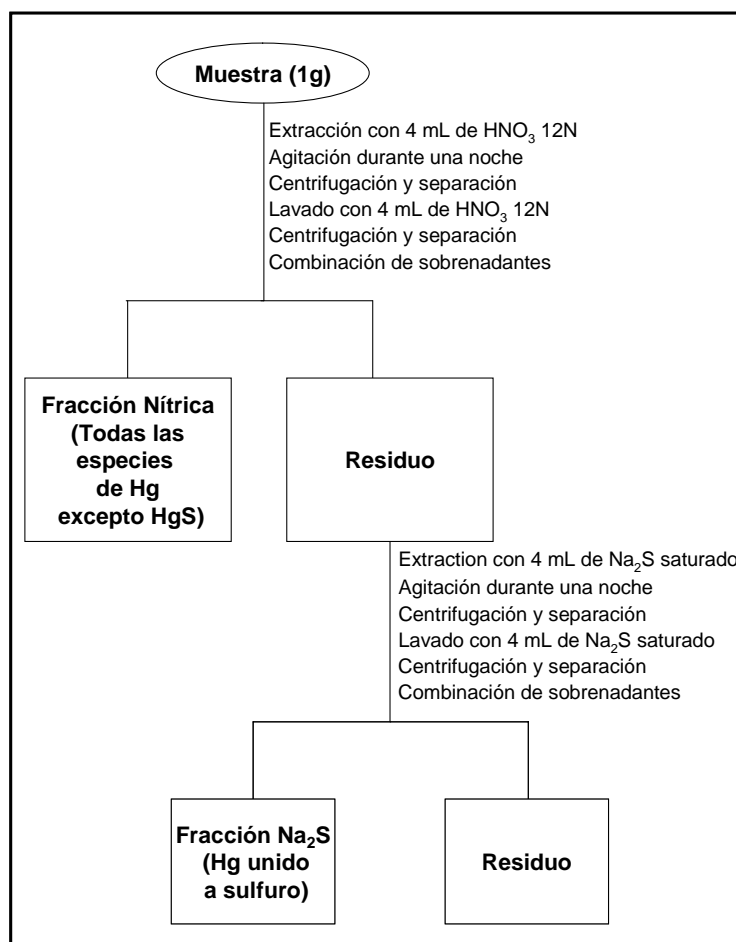


Figura 8.5. Diagrama de flujo del método Revis

Con el fin de evaluar la viabilidad del método Revis para su aplicación a las muestras recogidas de Almadén y su operatividad en el laboratorio, se escoge una de las muestras y con ésta se realizan todos los ensayos preliminares de puesta a punto y aplicación del método. La muestra seleccionada es la etiquetada como P4-B1.2 correspondiente al perfil de profundidad Bt1 (12-36 cm) de la parcela 4.

Se realizan dos experiencias denominadas genéricamente como Experiencia 1 y Experiencia 2:

Experiencia 1:

La muestra P4-B1.2 se trata siguiendo el protocolo dado por Revis, con la excepción de que se añade una última etapa para cuantificar la cantidad de mercurio que queda en el residuo y de esta forma evaluar la efectividad del método de referencia aplicado. Esta etapa consiste en la digestión del sólido que queda tras la lixiviación con Na_2S mediante un ataque ácido con una mezcla de agua regia y agua y tratamiento en un horno microondas (MW). Esquemáticamente esta experiencia se representa en el diagrama de flujo de la figura 8.6.

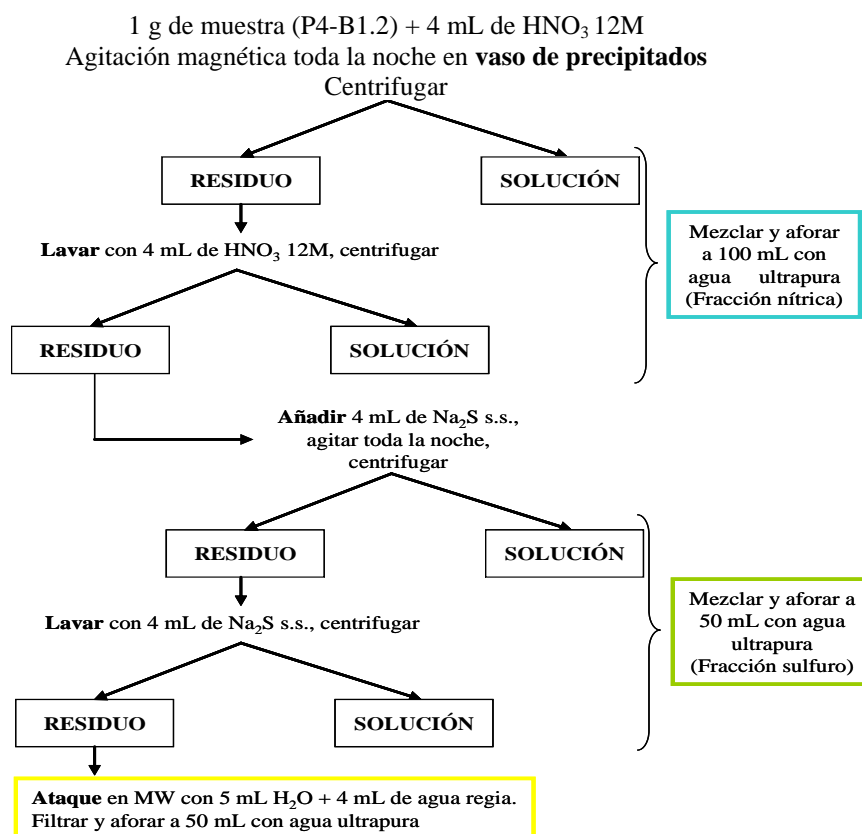


Figura 8.6. Diagrama de flujo de la experiencia 1.

Experiencia 2:

En la Experiencia 1 las extracciones se realizaron en un vaso de precipitados, lo que obligaba a transferir el contenido de los vasos a tubos de centrífuga en las etapas de centrifugación y volver a transferir a los vasos para continuar el procedimiento de extracción. En estos ensayos se procedió de la misma forma que en la anterior, con la

salvedad de que todo el proceso se realiza directamente en tubos de centrifuga manteniendo el tipo de agitación magnética empleado en la experiencia anterior.

En ambas experiencias, la cuantificación del mercurio en las dos fracciones resultantes se realizó mediante CV-AAS. Los resultados obtenidos se muestran en las gráficas de las figuras 8.7. y 8.8.

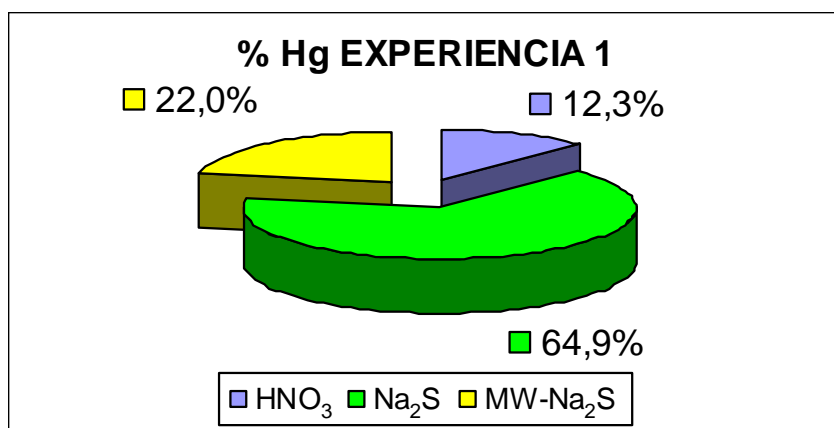


Figura 8.7. Resultados obtenidos en la experiencia 1

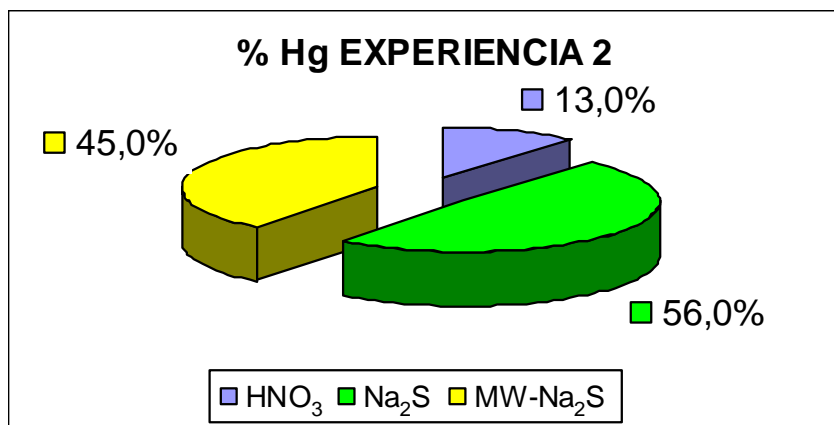


Figura 8.8. Resultados obtenidos en la experiencia 2

Como puede verse en ambos casos los resultados distan mucho de ser satisfactorios. El porcentaje de mercurio recuperado en las dos etapas del método Revis (lixiviación con HNO₃ y Na₂S) es de 77,2% para la Experiencia 1 y aún menor, 69,0%, para la Experiencia 2. Por su parte, en la etapa de digestión del residuo se obtienen porcentajes significativos de mercurio en ambas experiencias. Por tanto, en las condiciones experimentales dadas en el protocolo del método de Revis no es posible obtener

recuperaciones cuantitativas del mercurio presente en la muestra seleccionada, quedando gran parte del mercurio sin extraer. Por otra parte, los porcentajes de recuperación en la primera etapa resultan similares, lo que indica que, a efectos de esta etapa, ambos procedimientos operativos son igualmente válidos. Sin embargo, los de la segunda etapa son significativamente menores en la Experiencia 2. Esto puede deberse a que el contacto entre el agente extractante (disolución saturada Na_2S) y el sólido en el tubo de centrífuga, empleado en la Experiencia 2 sea menor, extrayéndose de esta forma una menor cantidad de mercurio en el mismo tiempo de agitación. Además, en esta segunda experiencia, la suma de porcentajes recuperados en las tres fracciones supone una recuperación total de 114%, bastante peor que la recuperación obtenida en la Experiencia 1 que fue del 99,2%. Esta diferencia en cuanto a los contenidos de Hg recuperados en ambas experiencias, puede ser debida a la necesidad de emplear NaBH_4 como reductor en la determinación de las fracciones con Na_2S , que da lugar a resultados poco reproducibles. Es de esperar que, dada la similitud en cuanto a su naturaleza, estas dificultades sean extrapolables al resto de las muestras recogidas de los suelos en las parcelas seleccionadas del área de Almadén. Por tanto, es evidente que el método Revis, en las condiciones iniciales planteadas por el autor, no es aplicable al estudio de estos suelos.

8.6.3.2. Desarrollo y aplicación de una metodología específica propia

A la luz de los resultados obtenidos, es evidente que la aplicación directa del método Revis a los suelos de Almadén estudiados no permite estimar de manera efectiva y fiable el contenido de Hg unido a sulfuro en estos suelos. Además desde un punto de vista práctico y operativo, la aplicación de este procedimiento presenta una serie de dificultades que pueden afectar a la eficacia de la extracción:

- La proporción volumen/masa en la extracción es demasiado baja, y en consecuencia no permite que la totalidad de la muestra se encuentre en contacto con la disolución extractante lo que se traduce en bajos rendimientos de extracción, quedando una importante proporción de Hg en el residuo.
- El uso de vasos de precipitados con agitación magnética para la extracción conlleva el riesgo de una posible pérdida de su contenido en la transferencia del

mismo a tubos de centrífuga para realizar la separación de ambas fases. Por otra parte, la agitación magnética efectuada en los propios tubos de centrífuga conduce al deterioro de los mismos.

- En lo que respecta a la segunda etapa del método Revis, se presentan dificultades a la hora de la determinación analítica del mercurio extraído en esta etapa mediante CV-AAS, como consecuencia del empleo de disoluciones tan concentradas de Na₂S. Generalmente, para los diferentes tipos de muestras, los mejores resultados se obtienen cuando se emplea como agente reductor de Hg una disolución de SnCl₂ [25, 26], que presenta un poder reductor moderado pero suficiente para reducir el Hg inorgánico presente en la muestra líquida, lo que lo hace bastante específico y permite obtener resultados reproducibles. Sin embargo, en presencia de sulfuro este reactivo reacciona con él, dando un precipitado voluminoso, que hace imposible su empleo como agente reductor en el sistema continuo utilizado para la determinación analítica, ya que por un lado, la reacción que tiene lugar consume el reductor disponible para el Hg, y por otro, el precipitado que se forma tiende a acumularse en el separador gas-líquido, llegando incluso a producirse la obstrucción del tubo de conexión entre éste y la célula de medida. Como alternativa al SnCl₂, se tienen que emplear disoluciones de NaBH₄. Este reactivo tiene una mayor capacidad reductora, pero es menos específico para el Hg. Además con el uso del mismo, se observa una acusada tendencia de la célula de medida a empañarse que se traduce en pérdida de sensibilidad y una menor reproducibilidad (RSD > 25%) en los análisis.

Con el propósito de lograr una cuantificación fiable del Hg unido a sulfuro en los suelos de Almadén y superar las dificultades antes mencionadas, se desarrolla una nueva metodología basada en la premisa básica del método Revis, según la cual es posible lograr la extracción de la mayor parte de las especies de Hg mediante una lixiviación ácida con HNO₃, proponiéndose, al mismo tiempo, la aplicación de una segunda etapa alternativa que evite el empleo de Na₂S y los problemas asociados a su determinación analítica a fin de mejorar la reproducibilidad de los resultados.

8.6.3.2.1. Optimización de la primera etapa: lixiviación nítrica

Se realizan diversas experiencias empleando distintas condiciones experimentales en la etapa de lixiviación nítrica y estudiando el efecto que en esta etapa tienen algunas variables, tales como la concentración y el volumen de HNO₃, el peso de muestra, el tiempo de extracción y el tipo de agitación. En el proceso de optimización llevado a cabo se proponen y evalúan las siguientes modificaciones:

- Disminución del peso de muestra desde 1 a 0,25 g e incremento del volumen de disolución extractante desde 4 a 10 mL.
- Empleo de concentraciones de HNO₃ al 50% v/v y concentrado.
- Evaluación de tiempos de agitación desde 16 a 64 horas.
- Utilización de otro tipo de agitación con el fin de solucionar los problemas antes mencionados derivados de la agitación magnética, en este sentido se estudió el empleo de un agitador rotatorio del tipo “end-over-end” (figura 8.9)



Figura 8.9. Agitador rotatorio “end-over-end”.

Los resultados de este proceso de optimización se muestran en la figura 8.10. De ellos se deduce que el contenido de mercurio extraído en la primera etapa se incrementa al aumentar la concentración de HNO₃, el tiempo de extracción y el volumen de disolución extractante, así como también lo hace al disminuir el peso de muestra. En este sentido se comprueba que incrementando la proporción volumen/masa desde 4 mL g⁻¹ a 40 mL g⁻¹

se consigue un contacto mucho mejor entre la disolución extractante y la muestra y, de esta forma, se aumenta la eficacia de la extracción de manera significativa.

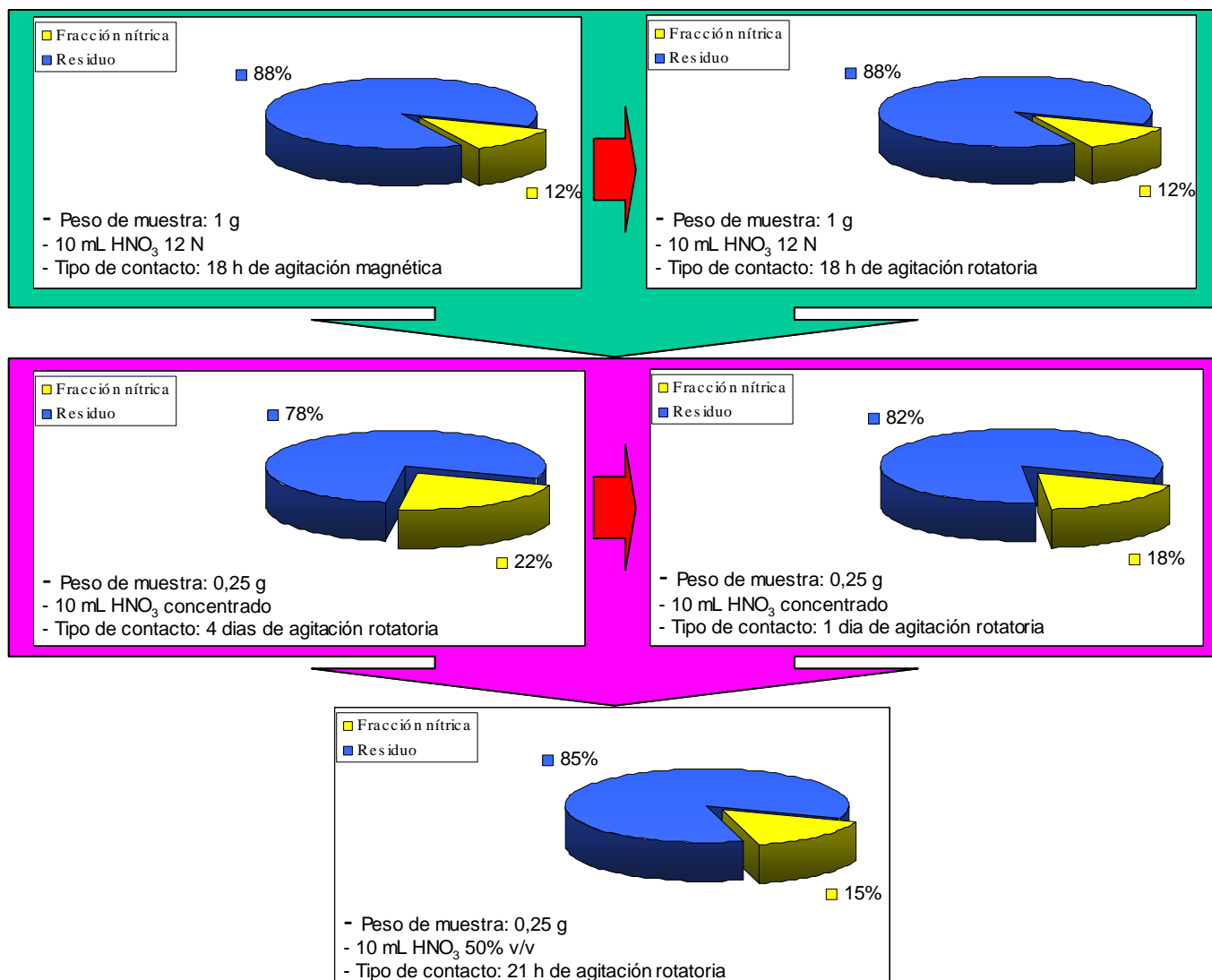


Figura 8.10. Optimización de la etapa de lixiviación nítrica

A tenor de estos resultados, los mayores rendimientos se logran empleando HNO₃ concentrado con un tiempo de contacto de 64 horas. Teniendo en cuenta que la mayoría de las especies de Hg deberían poder extraerse en las condiciones dadas en el método Revis, es probable que las recuperaciones más altas logradas con las condiciones experimentales más agresivas se deban a una posible extracción parcial de Hg unido a sulfuro. Efectivamente, esto puede ocurrir debido a la posible presencia en los suelos de haluros, que promueven la solubilidad del HgS en HNO₃, y este efecto es mayor al emplear condiciones más enérgicas en la extracción. De este modo, se decidió establecer una situación de compromiso basada, por un lado, en la obtención de un

rendimiento de extracción adecuado y por otro en el empleo de unas condiciones experimentales prácticas y útiles. En este sentido, no se recomienda el uso de HNO₃ concentrado debido a la rápida degradación que sufren las juntas protectoras de los tapones de los tubos de centrífuga. Sin embargo, con el empleo de una concentración de ácido del 50% v/v y de un volumen de 10 mL suficiente para garantizar un buen contacto entre la disolución y la muestra, se consiguen buenos resultados. Por otro lado, la agitación rotatoria resulta adecuada para lograr una extracción eficaz, a la vez que permite solventar el problema que suponía el empleo de agitadores magnéticos en el interior de los tubos de centrífuga y el consiguiente deterioro de los mismos.

Así pues, las condiciones finales establecidas para extraer las distintas formas de mercurio excepto el asociado a sulfuro con una etapa de lixiviación nítrica fueron las siguientes: 0,25 g de muestra, 10 mL de HNO₃ 50% v/v, agitación rotatoria durante 21 horas.

La validez de estas condiciones se ha confirmado mediante su aplicación a HgS puro, comprobándose en este ensayo que menos del 0,1% del contenido total de Hg era extraído en las condiciones propuestas.

8.6.3.2.2. Optimización de la segunda etapa: Hg unido a sulfuro

Con vistas a superar las dificultades operacionales derivadas de la presencia de una elevada concentración de sulfuro, se propone y evalúa un procedimiento alternativo para la extracción del mercurio en el residuo procedente de la primera etapa, bajo la premisa de que permita una extracción cuantitativa del Hg presente en la muestra y a la vez sea compatible con su determinación analítica mediante CV-AAS empleando una disolución de SnCl₂ como agente reductor.

Considerando el segundo requisito, la determinación del mercurio mediante CV-AAS debería realizarse siempre en disoluciones ácidas que permitan la reducción del Hg(II) presente en la muestra en presencia del SnCl₂. De este modo, lo más sencillo sería emplear una disolución extractante ácida. Teniendo en cuenta que en principio, la especie a extraer es el HgS y dada la insolubilidad de éste en la mayoría de disolventes, la mejor opción es el empleo de agua regia. Este reactivo es capaz de disolver

cuantitativamente el HgS [27] y al mismo tiempo proporciona un ambiente ácido compatible con la posterior determinación con CV-AAS. Además, con vistas a mejorar la operatividad del procedimiento se evalúa la realización de esta etapa en un horno microondas, lo que permitirá acortar el tiempo del procedimiento de manera notable.

Para estudiar la viabilidad del empleo de agua regia y microondas el siguiente procedimiento fue desarrollado y aplicado a la muestra P4-B1.2:

- Transferencia del residuo procedente de la etapa de lixiviación nítrica de los tubos de centrífuga a reactores de microondas de teflón.
- Adición de 8 mL de agua regia. Para arrastrar el residuo que queda en los tubos se añade la disolución extractante en 3 porciones (3, 3 y 2 mL) a los tubos de centrífuga y en la adición de cada una de las porciones se agita en vortex vertiendo a continuación su contenido en el reactor.
- Calentamiento de los reactores en un horno microondas (MW) utilizando las condiciones dadas en la tabla 3.1. del capítulo dedicado a la descripción de métodos.
- Una vez completado el programa de digestión, los reactores se enfrían a temperatura ambiente, se filtran sus contenidos a través de filtros de celulosa de 0,45 μm y finalmente se aforan con agua ultrapura a un volumen de 50 mL.

Los resultados de esta aplicación se encuentran reflejados en la figura 8.11, donde además se comparan con aquellos obtenidos mediante el empleo de una disolución de Na_2S en las condiciones dadas en el método Revis y con el resultado obtenido de la diferencia entre el Hg total presente en la muestra, obtenido de la aplicación de un procedimiento de digestión completa de la misma, y el Hg extraído en la primera etapa. Como puede verse en la gráfica, la recuperación de Hg mejora sustancialmente cuando se emplea agua regia en combinación con microondas. En las condiciones de Revis, el Na_2S no es capaz de extraer más del 65% del Hg total, quedando una parte importante del Hg sin extraer y además la reproducibilidad es deficiente, siendo la RSD superior al 5%, como consecuencia de la utilización de NaBH_4 como agente reductor en presencia de altas concentraciones de sulfuro. Sin embargo con el empleo de agua regia y microondas, la recuperación mejora hasta llegar al 85% del Hg total, lo cual parece

aceptable para un método de extracción, teniendo en cuenta que el Hg presente en el residuo debería ser del 91%, a tenor de la medida indirecta basada en la diferencia entre el Hg total y el extraído en la primera etapa. Además de ello, la reproducibilidad también se ve mejorada de manera notable siendo la RSD de un 2,5%, más de tres veces inferior a aquella obtenida mediante el procedimiento de Revis con Na₂S (8,6%), siendo esta mejora en gran parte debida a la posibilidad de utilizar SnCl₂ como reductor de Hg. Por añadidura, la utilización de un horno microondas (MW) permite acortar de una manera considerable el tiempo de extracción pasando de ser de 21 a 2,5 horas, lo que mejora la operatividad del método propuesto.

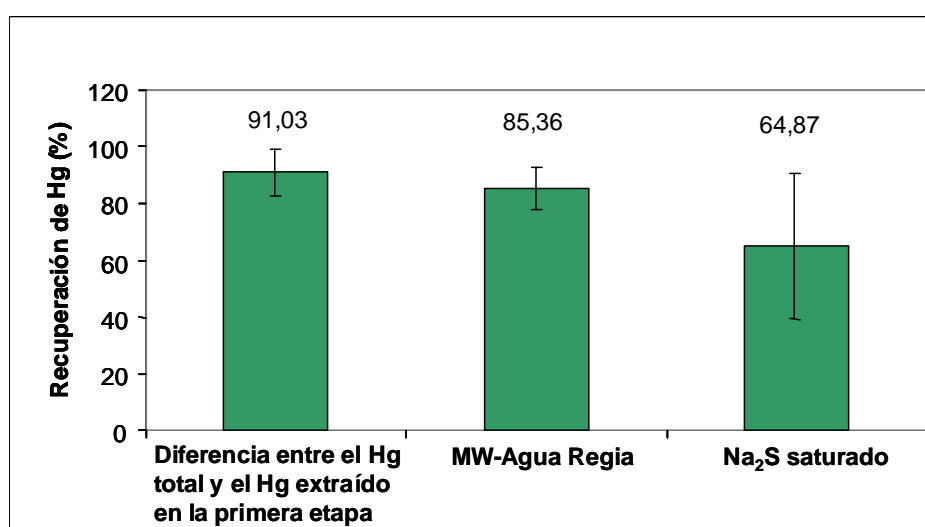


Figura 8.11. Comparación de las recuperaciones de mercurio obtenidas en la segunda etapa mediante tres procedimientos diferentes ensayados. Las barras de error representan 3 veces el valor de la desviación estándar.

Así pues el procedimiento detallado más arriba es adoptado para la realización de la etapa de extracción de Hg unido a sulfuro en las condiciones experimentales mencionadas.

De esta forma el nuevo método propuesto para la determinación de Hg unido a sulfuro en suelos de Almadén se representa esquemáticamente en el siguiente diagrama de flujo (Figura 8.12.).

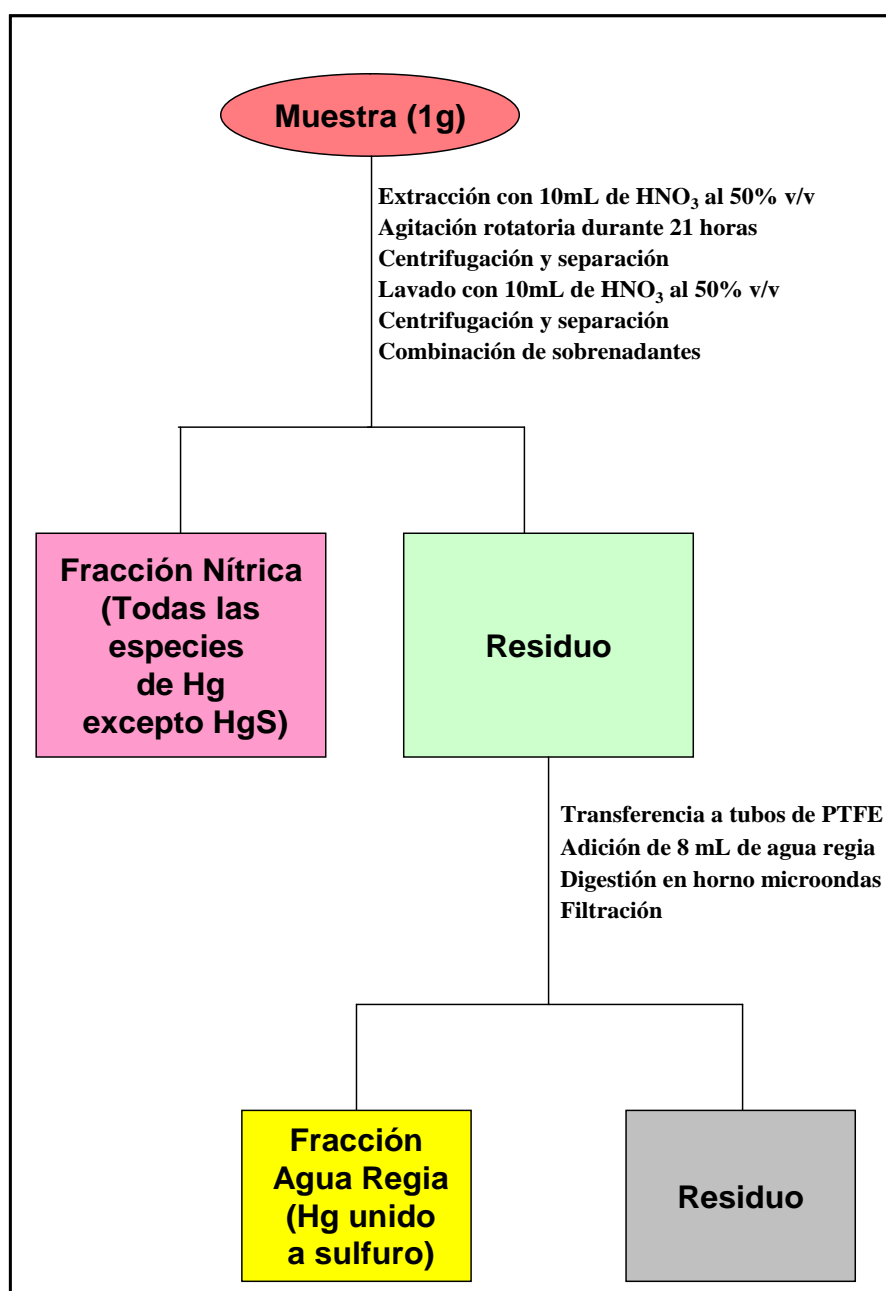


Figura 8.12. Diagrama de flujo del método propuesto de determinación de Hg unido a sulfuro.

8.6.3.2.3. Aplicación a los suelos de Almadén

Una vez desarrollada la metodología específica para la determinación de Hg unido a sulfuro, el método se aplica a los suelos de Almadén seleccionados de las parcelas P4 y P9 y sus correspondientes horizontes en profundidad. Las muestras se analizan por triplicado y los resultados pueden verse en las figuras 8.13 y 8.15.

Parcela P4:

El mayor contenido de Hg total lo encontramos en la capa más superficial y éste va disminuyendo al aumentar la profundidad, encontrándose que el horizonte estudiado más profundo (C) presenta un contenido de Hg de aproximadamente la mitad al que podemos encontrar en el horizonte más superficial del suelo. Esto indica que probablemente en estos suelos, gran parte del Hg procede de la atmósfera, por dispersión y deposición del mercurio de las áreas próximas en forma particulada o como vapor de mercurio. Un comportamiento similar ya fue observado por Biester *et al.* y Panyametheekul, quienes estudiaron la distribución y movilización de Hg en suelos contaminados por emisiones procedentes de una planta de clorálcali, de incineradoras de residuos y de plantas de energía, encontrando que en todos los suelos estudiados las mayores concentraciones de Hg aparecían en la capa más superficial [28, 29]. Sin embargo, un estudio anterior realizado por Giulio y Ryan [30] sobre suelos y sedimentos de una zona turbera el Hg, mostró una ligera tendencia a acumularse en zonas más profundas, lo cual es indicativo de una concentración natural, atribuyendo los autores este hecho a una estabilización del ritmo de deposición del mismo con el tiempo y su inmovilización dentro de los suelos, que hace que tienda a irse acumulando en las capas depositadas más antiguas.

Cuando los contenidos de Hg derivan de una contaminación natural, se deben a que hay un yacimiento de Hg en profundidad, de manera que el Hg se difunde “per ascensum”. En nuestro caso, los datos que se obtienen para la distribución de Hg total en profundidad demuestran que se trataría de una contaminación del suelo “per descensum”, probablemente procedente de la atmósfera por “deposición seca” o por “deposición húmeda”. Ahora bien, el estudio del fraccionamiento de Hg mediante la aplicación del método propuesto demuestra que éste se encuentra principalmente en la fracción de agua regia, es decir, en la fracción de Hg unido a sulfuro. Este comportamiento se observa en todos los horizontes estudiados (figura 8.13), indicando un enriquecimiento de cinabrio en las capas más superficiales, debida probablemente a la deposición del mismo en forma particulada (polvo con granos finos de cinabrio procedentes de áreas próximas).

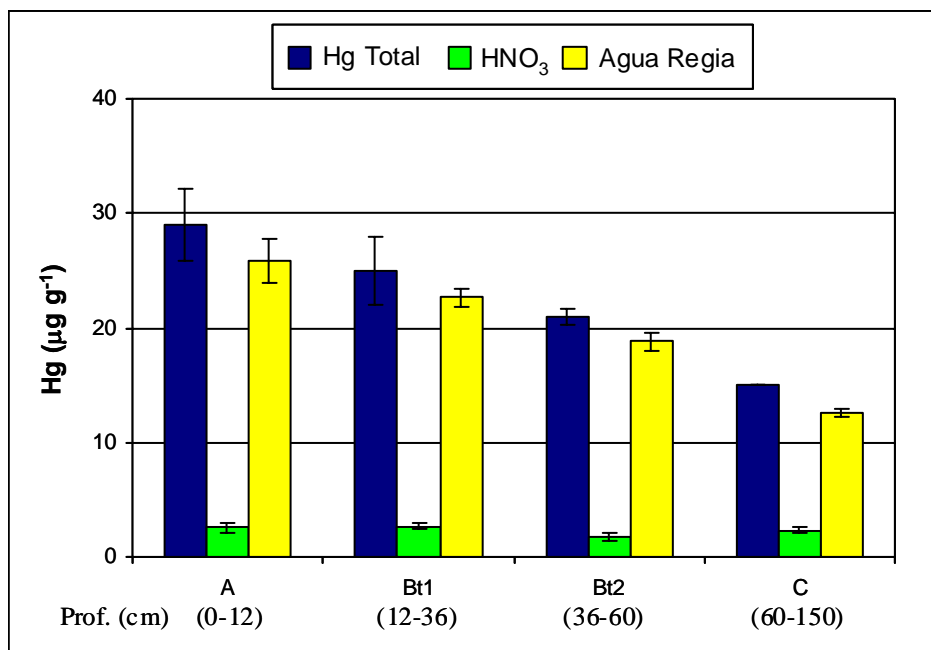


Figura 8.13. Fraccionamiento de Hg en la parcela 4. Las barras de error representan tres veces la desviación estándar

Sin embargo, si consideramos los porcentajes de Hg recuperados en la etapa de lixiviación nítrica (figura 8.14), se observa que, en general, esta fracción se va enriqueciendo al aumentar la profundidad, pasando de un porcentaje inferior al 10% observado para el horizonte A, a un porcentaje superior al 15% en el horizonte C. Por tanto al aumentar la profundidad aumenta el contenido de Hg potencialmente disponible, si bien el Hg unido a sulfuro predomina claramente en todos los horizontes. Esta mayor movilidad del Hg en las capas más profundas fue también observada por Biester *et al.* [28], quienes lo atribuyeron a un descenso similar del contenido en materia orgánica. Según estos autores, el Hg se encuentra fuertemente retenido por la materia orgánica y es la principal responsable de su inmovilización, de modo que al disminuir su contenido con la profundidad aumenta el contenido de Hg potencialmente disponible.

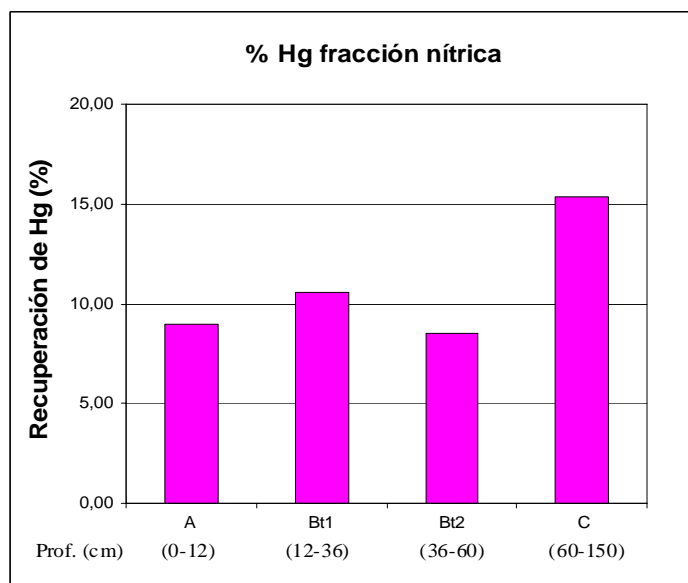


Figura 8.14. Porcentaje de Hg recuperado en la fracción nítrica de la parcela P4.

En este caso, también tiene lugar un descenso de la materia orgánica con la profundidad (ver tablas 8.7 y 8.8) pero dada la naturaleza de la fuente de contaminación, una mina de cinabrio, y el bajo contenido de C orgánico (inferior al 2% en todos ellos), es dudoso el papel de la materia orgánica en la inmovilización del mercurio en estos suelos. En el estudio de Panyametheekul [29], se observó un descenso del contenido en HgS con la profundidad a la vez que se producía un aumento de la fracción correspondiente al Hg elemental, tendencia que los autores atribuían a diferentes razones entre ellas: (i) la mayor desgasificación y pérdida de Hg(0) en las capas más superficiales, (ii) la migración del Hg(0) a las capas más profundas debido a su diámetro efectivo, (iii) la reducción de Hg(II) a Hg(0), que ocurre en las capas más profundas. En el caso de los suelos de Almadén estudiados, dada la relativa abundancia de Hg elemental en los mismos, parece más probable que el contenido de éste aumente con la profundidad y por tanto aumente de esta forma el porcentaje de mercurio móvil. Las causas de este aumento pueden atribuirse fundamentalmente a (i) la lixiviación de este mercurio de los horizontes más superficiales y su acumulación en los más profundos, es razonable pensar que se infiltran con más facilidad las especies más solubles (ii) el cinabrio puede tener un origen biogénico ya que hay bacterias que forman esta especie a partir del Hg iónico del suelo, y (iii) quizá también la influencia ya mencionada de la materia orgánica.

Parcela P9:

En esta parcela únicamente se consideran los horizontes A y Bt1. Respecto al contenido de Hg total se observa la misma tendencia que en la parcela P4, siendo en este caso más acentuada la disminución de Hg con la profundidad, con contenido de Hg en el horizonte Bt1 aproximadamente unas 5 veces inferior al contenido en el horizonte A.

Los resultados de la aplicación del método de extracción, demuestran una distribución de Hg principalmente en la fracción de Hg (figura 8.15) unido a sulfuro. En este caso, la tendencia también es más acentuada que en el caso de la parcela P4, encontrándose que el contenido de Hg en esta fracción es superior al 90% en ambos horizontes.

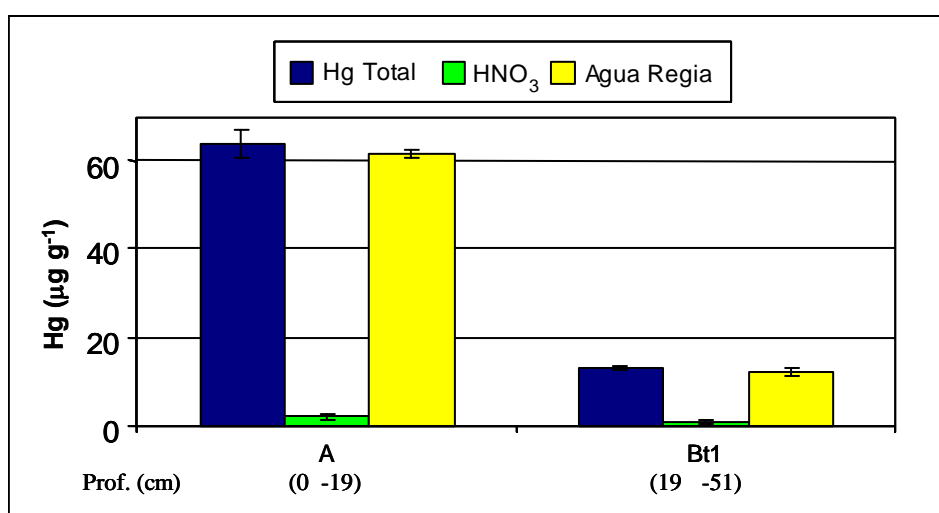


Figura 8.15. Distribución de Hg en la parcela 9. Las barras de error representan tres veces la desviación estándar

Considerando los porcentajes de Hg recuperado en la fracción nítrica (figura 8.16), volvemos a observar que la proporción de Hg potencialmente disponible aumenta con la profundidad aunque en este caso tan sólo se logra recuperar un 7% para el horizonte Bt1.

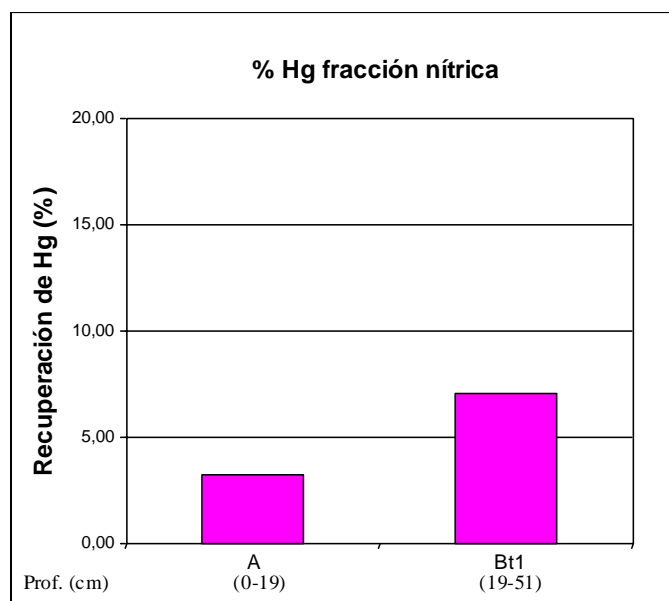


Figura 8.16. Porcentaje de Hg recuperado en la fracción nítrica de la parcela P9.

A modo de conclusión, la aplicación del método propuesto reveló que la mayor parte del mercurio presente en los suelos de las dos parcelas estudiadas, se encuentra en la fracción unida a sulfuro. El Hg presente en la fracción más disponible tiende a enriquecerse con la profundidad, siendo una posible causa de esta tendencia el mayor contenido de Hg elemental y otras especies lábiles en las capas más profundas, posiblemente debido a la migración desde las capas más superficiales por infiltración. Estas conclusiones no pueden ser confirmadas debido a que la información que se obtiene del comportamiento del Hg con este método es limitada.

8.6.3.3. Aplicación del método EPA 3200

El EPA 3200 es un método moderno de extracción secuencial que permite estudiar la movilidad del Hg en suelos y sedimentos en función de su distribución en diferentes fracciones operacionalmente definidas. Este método subdivide el contenido de Hg en tres fracciones principales: Móvil (M), Semimóvil (SM) y No Móvil (NM), asignándole a cada una de estas fracciones especies típicas de Hg que según su solubilidad pueden ser lixiviadas en ellas [31, 32]. Los agentes extractantes empleados en las tres etapas principales son disoluciones ácidas que van de menor a mayor concentración. Así pues,

podemos decir que este método se basa en la solubilidad del Hg en distintas disoluciones ácidas.

Además de ello, el método EPA 3200 incluye una etapa de subfraccionamiento de la fracción móvil mediante un proceso de extracción en fase sólida, en la cual las especies de Hg presentes en esta fracción, son retenidas en un medio sólido formado por fibra de algodón funcionalizado con ácido mercaptoacético que los autores denominan “fibra de algodón de sulfidrilo” y que retiene con diferente fuerza las especies orgánicas e inorgánicas permitiendo de este modo eluir las selectivamente y obtener dos subfracciones diferenciadas: Hg Móvil Orgánico que denominaremos SCF1 y Hg Móvil Inorgánico que denominaremos SCF2, de acuerdo con los nombres dados por los autores para las disoluciones empleadas en la elución de las especies en cada caso.

Este método, en las condiciones descritas el capítulo 4, apartado 4.3.2.3. se ha aplicado a las muestras de Almadén seleccionadas de las parcelas P4 y P9 con el propósito de obtener información adicional sobre la distribución y movilidad del Hg en las mismas, dado que a priori, la información que se deriva de la aplicación del mismo es más completa que la que puede obtenerse de la aplicación del método desarrollado en el apartado anterior.

Parcela P4:

Los resultados de su aplicación a las muestras recogidas de la parcela P4 se resumen en el diagrama de barras de la figura 8.17 donde se comparan además, con el contenido de Hg total presente en las muestras. En este caso las recuperaciones obtenidas de la suma de los contenidos de Hg extraídos en cada fracción al aplicar el método EPA 3200 oscilan entre el 83% para el horizonte C y el 106% para el Bt1.

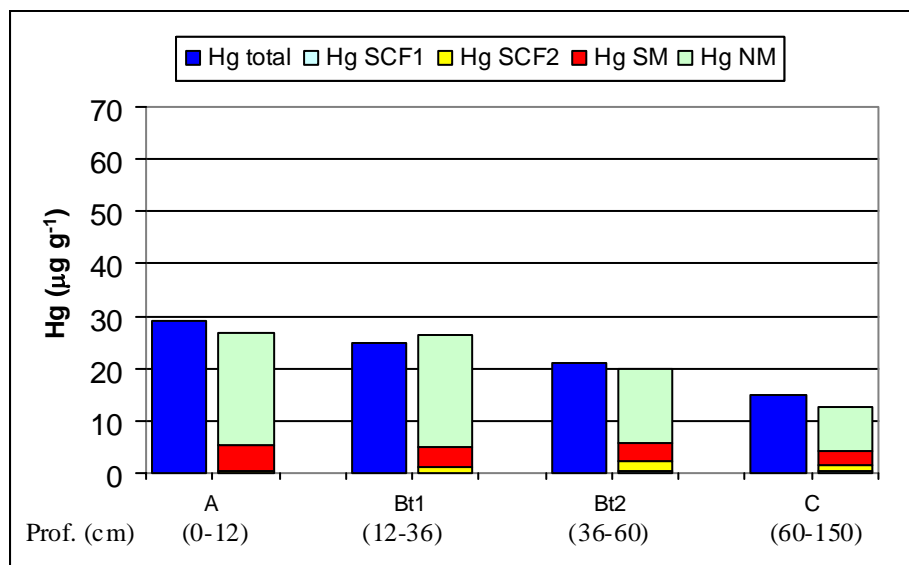


Figura 8.17. Distribución de Hg en los horizontes de la parcela P4 en Hg no móvil (NM), Hg semimóvil (SM), Hg móvil inorgánico (SCF2) y Hg móvil orgánico (SCF1)

Tal y como ocurre en el caso de la aplicación del método de determinación de Hg unido a sulfuro, los mayores contenidos de Hg los encontramos en la fracción NM, es decir, en la fracción que corresponde al Hg menos móvil y que además, según la clasificación hecha por los autores, se atribuye precisamente a la fracción de Hg unido a sulfuro [31, 32]. Se observa una ligera tendencia a la disminución del porcentaje de Hg en esta fracción a partir del horizonte Bt2, en que el contenido desciende del 81% en el Bt1 al 73% en el Bt2, lo que indica una disminución de la proporción de Hg unido a sulfuro. Este hecho indica que posiblemente el Hg asociado a sulfuro presente en estos suelos procede, en una parte importante, de la deposición de cinabrio en forma particulada, procedente de áreas próximas que se acumulará en las capas más superficiales.

En cuanto a los contenidos de Hg SM, los contenidos porcentuales se mantienen aproximadamente constantes para todos los horizontes estudiados, representando esta fracción en todos los casos un porcentaje superior al 15% del Hg total. En esta fracción, de acuerdo con la clasificación realizada por los autores, es de esperar que sea lixiviado el Hg elemental. La constancia en su contenido porcentual parece desmentir la hipótesis anteriormente mencionada en la aplicación del método unido a sulfuro a estos suelos, según la cual podríamos atribuir el aumento de la movilidad del mercurio a un enriquecimiento del Hg elemental y de las especies lábiles de Hg con la profundidad, sin embargo, mediante la aplicación del método EPA 3200, tal enriquecimiento en Hg elemental no parece tener lugar.

Respecto al contenido de Hg móvil, entendiendo como tal la suma de las fracciones SCF1 y SCF2, se observa que, éste aumenta claramente al aumentar la profundidad, pasando del 1,16% en el horizonte A al 11,4% y 10,45% en los horizontes estudiados más profundos. Esta tendencia puede observarse de un modo más claro en la figura 8.18.

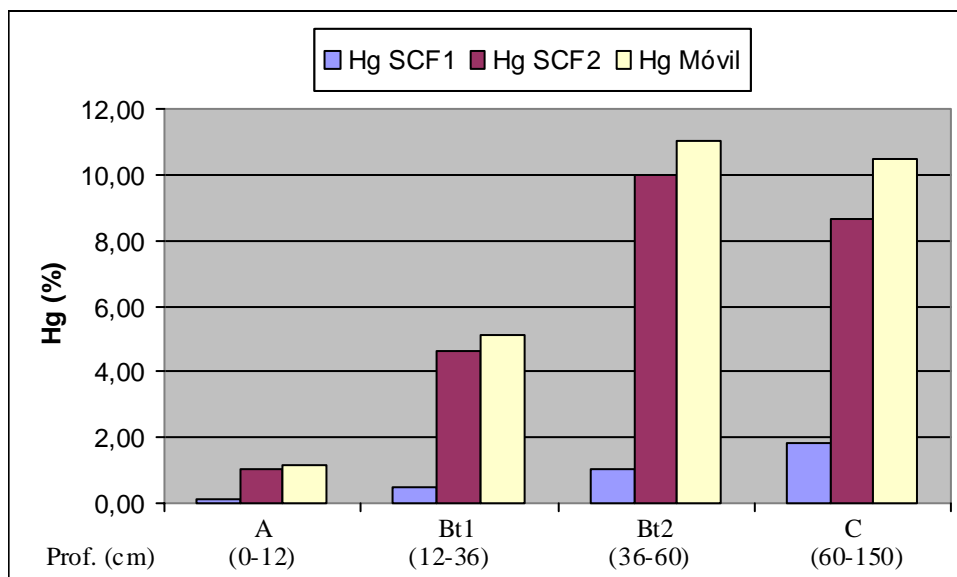


Figura 8.18. Fraccionamiento del contenido de Hg Móvil en la parcela 4 que se subdivide en Hg Móvil Orgánico (SCF1) e Inorgánico (SCF2)

En esta figura se representan los contenidos de las fracciones SCF1, SCF2 y su suma Hg Móvil. Los horizontes Bt2 y C presentan unos contenidos de Hg Móvil unas 10 veces mayores al observado en la capa más superficial. En esta fracción son extraídas las especies más solubles de Hg y, por tanto, aquellas más susceptibles de ser lixiviadas y pasar hacia niveles más profundos, lo cual explica su acumulación en estos. Dentro de esta fracción los contenidos de Hg más elevados se encuentran en la subfracción SCF2, que corresponde, de acuerdo al esquema de subfraccionamiento empleado, al contenido de Hg móvil inorgánico [31, 32]. De esta manera, los contenidos de Hg en la subfracción SCF2 son aproximadamente un orden de magnitud mayor que los encontrados en la subfracción SCF1, que corresponde teóricamente a la fracción orgánica de Hg. Esta subfracción también presenta un enriquecimiento gradual en Hg al aumentar la profundidad pasando del 0,13% en la capa más superficial al 1,80% para la capa más profunda estudiada.

Según los resultados obtenidos con este método, el suelo tiene un contenido de Hg “per descensum”, y este se distribuye de manera que el Hg menos móvil (asociado a sulfuro) constituye el mayor porcentaje y se comporta de manera similar. Por otra parte, el mercurio semimóvil, atribuible entre otras especies a Hg elemental permanece prácticamente invariable para todos los horizontes y, en contraste, el porcentaje de mercurio móvil aumenta con la profundidad. Estos datos permiten pensar, por un lado, en una contaminación proveniente de la atmósfera en forma particulada asociada con cinabrio y, por otro lado, en lixiviaciones de las especies móviles de Hg desde las capas más superficiales hacia el interior, estando gobernados estos procesos preferentemente por el Hg inorgánico, aunque existe también una fracción no despreciable de Hg orgánico con un comportamiento similar.

Parcela P9:

Los resultados se resumen en la figura 8.19, mostrando un comportamiento del Hg en esta parcela globalmente similar al observado en la parcela 4 aunque con algunas diferencias significativas.

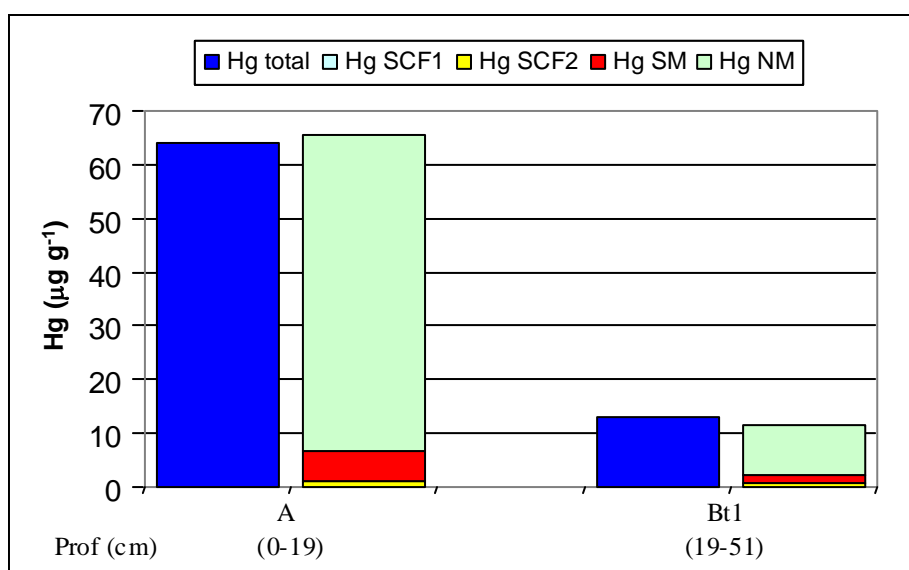


Figura 8.19. Distribución de Hg en los horizontes de la parcela P9 en Hg no móvil (NM), Hg semimóvil (SM), Hg móvil inorgánico (SCF2) y Hg móvil orgánico (SCF1)

La capa más superficial, horizonte A, presenta un contenido de Hg NM superior al 90%, por tanto en este horizonte y según el esquema de extracción aplicado, la gran mayoría del Hg se encuentra en la forma menos móvil. Este contenido disminuye con la

profundidad pasando a ser de un 73% para el horizonte Bt1, por tanto es de suponer que el Hg en este horizonte es más propenso a la movilización.

Al contrario de lo observado en la parcela 4, los contenidos en Hg SM son inferiores al 15% en ambos horizontes, si bien se observa un enriquecimiento al aumentar la profundidad.

La fracción de Hg móvil es minoritaria en ambos horizontes, observándose un aumento acusado del contenido con la profundidad (figura 8.20), de manera similar a lo que ocurre con la parcela 4, pasando del 1,8% para el horizonte A, al 5% observado en el horizonte Bt1. La misma tendencia presentan los contenidos en Hg SCF2 y Hg SCF1, donde predomina claramente la subfracción inorgánica sobre la orgánica. El contenido en Hg orgánico en la capa más superficial es prácticamente inexistente representando sólo un 0,04% del Hg total, mientras que la capa más profunda estudiada, horizonte Bt1, presenta un contenido mucho más apreciable, del 0,44% del Hg total en esta submuestra.

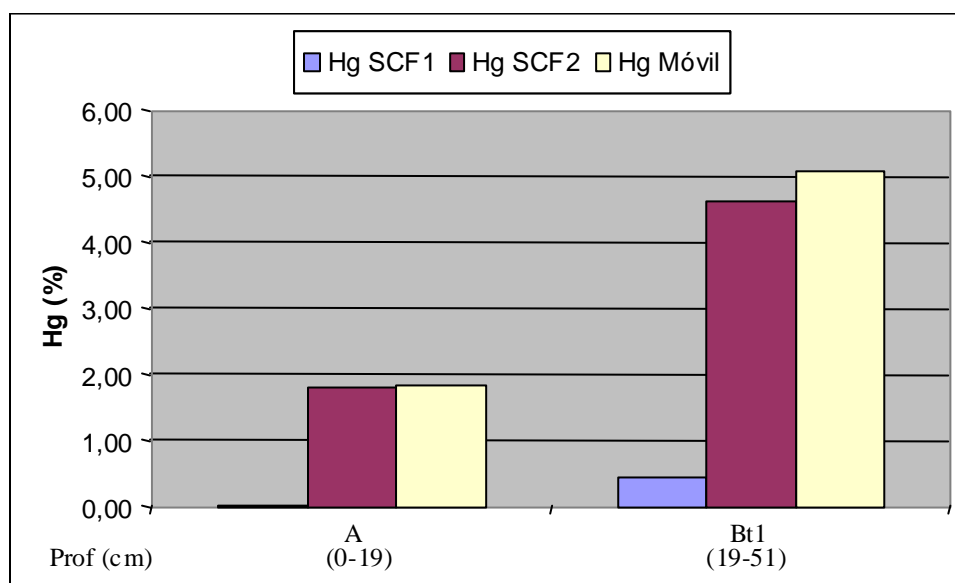


Figura 8.20. Fraccionamiento del contenido de Hg Móvil en la parcela 9.

Así pues, de la aplicación del método EPA 3200 a los suelos de las parcelas P4 y P9 podemos concluir que al igual que ocurrió en el caso de la aplicación del método para la determinación de Hg unido a sulfuro, el mercurio tiende a hacerse más disponible con la profundidad. Sin embargo, la mayor información proporcionada por este método nos

reveló que la mayor movilidad del Hg no es atribuible a un enriquecimiento del contenido en Hg elemental en las capas más profundas, sino de las especies más solubles de Hg, especialmente las de naturaleza inorgánica.

8.6.3.4. Aplicación del método de extracción secuencial propio

El método de extracción secuencial específico para el estudio del Hg en suelos y sedimentos, desarrollado en esta Tesis Doctoral, se ha aplicado al estudio de los suelos de Almadén de las parcelas 4 y 9.

A priori, este método, más completo que los anteriores, puede aportar una información más detallada, no sólo acerca de la movilidad del mercurio en los suelos objeto de estudio, sino también de sus asociaciones con las diferentes fracciones o fases mayoritarias dentro de los mismos, ya que no sólo clasifica las fracciones de mercurio en orden de movilidad decreciente, sino que además las relaciona con las fases operacionalmente definidas Especies Lábilés de Hg, Hg asociado a Materia Húmica y Fúlvica, Hg asociado a Óxidos e Hidróxidos Amorfos de Fe y Mn, Hg Elemental y Hg Unido a Sulfuro.

Parcela P4:

Los resultados de la aplicación del método de extracción secuencial específico para el estudio del Hg a las muestras de la parcela P4 se muestran en la tabla 8.9.

Tabla 8.9. Distribución de Hg en la parcela 4 según el método de extracción secuencial propio. n.d.: no detectable.

Horizonte	Concentraciones medias en suelos de la Parcela 4			
	A	Bt1	Bt2	C
Hg Total ($\mu\text{g g}^{-1}$)	29	25	21	15
Hg Lab. ($\mu\text{g g}^{-1}$)	n.d.	n.d.	n.d.	0,22
Hg Hum/Ful ($\mu\text{g g}^{-1}$)	1,22 \pm 0,13	0,68 \pm 0,10	0,73 \pm 0,11	0,87 \pm 0,10
Hg FeMn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	n.d.	0,24 \pm 0,10	0,42 \pm 0,15	n.d.
Hg Elem. ($\mu\text{g g}^{-1}$)	6,58 \pm 1,03	6,73 \pm 1,24	6,08 \pm 1,13	4,61 \pm 0,84
Hg Sulf. ($\mu\text{g g}^{-1}$)	18,31 \pm 1,45	18,28 \pm 1,58	12,00 \pm 1,23	8,31 \pm 0,92

Por su parte, la distribución del porcentaje de Hg recuperado en las diferentes fracciones ha sido esquematizada en el diagrama de barras de la figura 8.21.

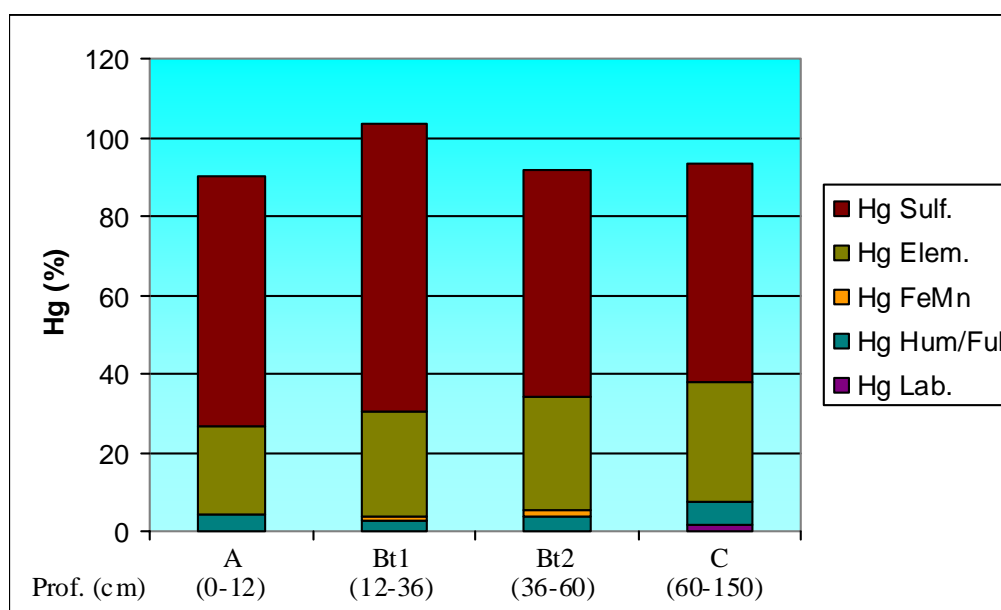


Figura 8.21. Porcentajes de Hg recuperados en las fracciones del método de extracción secuencial propio para los suelos de la parcela 4.

Los resultados muestran una recuperación aceptable para todos los horizontes, encontrándose ésta por encima del 90% en todos los casos.

Hg Lábil

No pudieron detectarse concentraciones apreciables de Hg en la fracción lábil para los 3 horizontes más superficiales y sólo aparece un 1,5% en el horizonte más profundo. Esta fracción es una medida del contenido de Hg más móvil, por ejemplo aquél que se asocia con iones hidroxilo o cloruro [33] y que puede extraerse con agentes extractantes más débiles como el empleado en esta etapa. Este comportamiento ya ha sido observado por otros autores empleando este tipo de agentes para extraer la fracción intercambiable tales como $MgCl_2$ 0,5M [29] ó CH_3COONH_4 1M [34] en suelos donde la mayoría del Hg aparecía en la fracción de Hg unido a sulfuro.

Hg asociado a materia húmica y fúlvica

Respecto al contenido de Hg en la fracción asociada a materia orgánica aparecen contenidos apreciables en los 4 horizontes estudiados, sin embargo en ninguno de ellos esta fracción es cuantitativamente muy importante, encontrándose el Hg asociado a

materia húmica y fúlvica en el intervalo de 2,7% al 5,8% del Hg total. Estos contenidos tan bajos pueden explicarse debido a que los suelos estudiados tienen un contenido muy escaso en materia orgánica, no superando el 3% en ninguno de los horizontes de la parcela 4, mientras que por otra parte la mayor parte del mismo aparece en forma de sulfuro que tiene una escasa tendencia a asociarse para formar complejos con la materia húmica.

Por otra parte, la mayor recuperación de Hg en esta fracción corresponde al horizonte más profundo (5,8%) que precisamente es el que menor contenido presenta en cuanto a carbono orgánico total (0,61%), indicando una posible migración de Hg iónico, susceptible de formar complejos con la materia orgánica, hacia las capas más profundas, bien por lixiviación u otros procesos. Con excepción de este horizonte (Bt2), los resultados muestran un comportamiento similar en líneas generales del contenido de Hg recuperado en la segunda etapa y el contenido de C Orgánico presente en las muestras (figura 8.22).

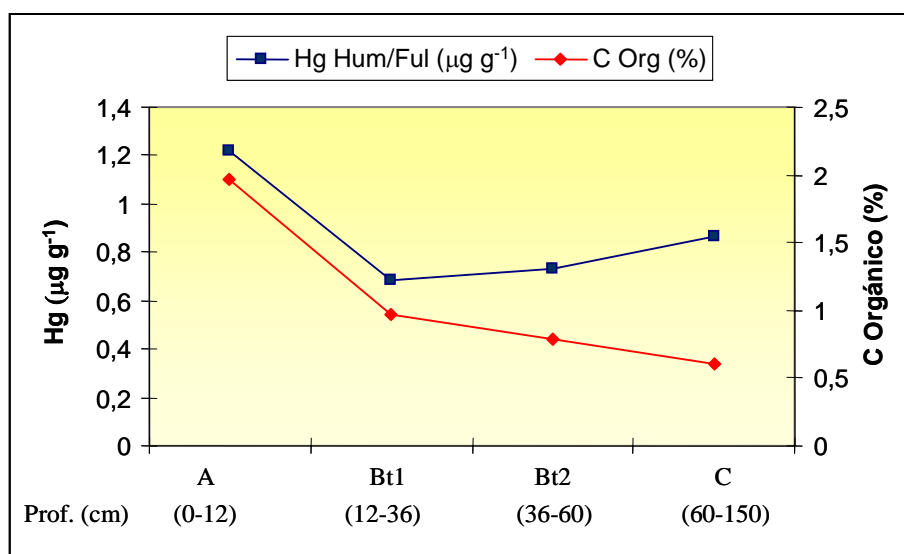


Figura 8.22. Relación entre la concentración de Hg recuperado en la etapa 2 y el contenido en materia orgánica en la parcela 4.

Como puede observarse, la concentración de Hg en esta fracción parece ser aproximadamente constante en torno a $1 \mu\text{g g}^{-1}$ para los cuatro horizontes estudiados, mientras que el contenido de C orgánico disminuye progresivamente con la profundidad si bien este descenso es poco pronunciado. El contenido de Hg y el contenido en C orgánico parecen correlacionarse bien en los dos primeros horizontes para los cuales el

descenso de Hg asociado a materia húmica coincide con un descenso similar en el contenido en C orgánico total. Sin embargo, en los dos horizontes más profundos, esta tendencia se invierte aumentando ligeramente el contenido de mercurio asociado a materia húmica al mismo tiempo que desciende levemente el contenido en materia orgánica. Este comportamiento, también ha sido observado por otros autores. Biester *et al.* [28] encontraron una falta de correlación evidente al estudiar suelos procedentes de bosques próximos a plantas de cloralcali, llegando a obtener recuperaciones de Hg asociado a materia húmica y fúlvica superiores al 80% en suelos pobres en materia orgánica (con aprox. 0,3% C orgánico), mientras que otros suelos mucho más ricos (8,5% en C orgánico) presentaban recuperaciones de Hg en esta fracción bastante inferiores (aprox. 35%).

Hg asociado a óxidos e hidróxidos amorfos de Fe y Mn

Respecto a la fracción de Hg asociada a óxidos e hidróxidos amorfos de Fe y Mn los contenidos recuperados son muy escasos para los 4 horizontes objeto de estudio. Únicamente en el caso del horizonte Bt2 llega a suponer un 2% del contenido total de Hg.

En la figura 8.23 están representadas las recuperaciones de Hg en esta tercera etapa, así como los contenidos porcentuales de Fe y Mn en los 4 horizontes de la parcela 4. A pesar del elevado contenido en Fe de estos suelos (en torno al 10%), es muy posible que éste se encuentre como pirita y formando otros compuestos cristalinos no lixiviables en $\text{NH}_4\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 0,25M en las condiciones establecidas en esta etapa, que sólo permiten la extracción de las formas amorfas de los óxidos junto a sus metales asociados.

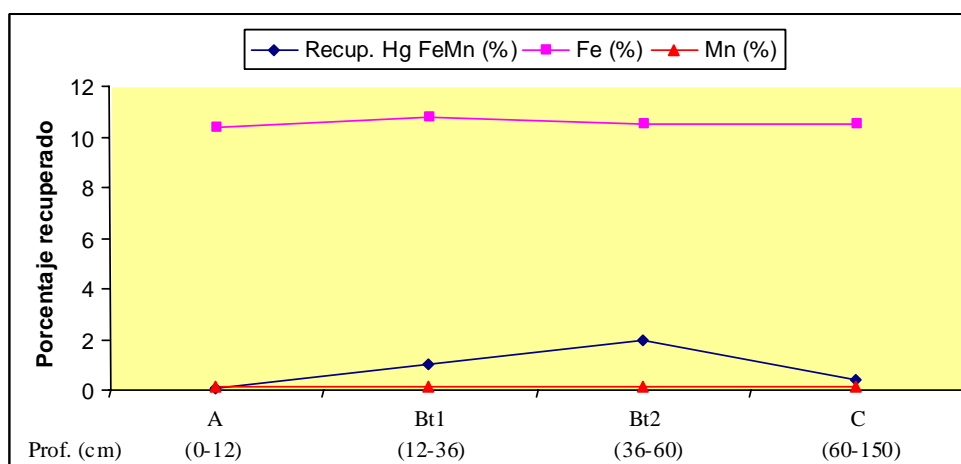


Figura 8.23. Relación entre el contenido de Hg recuperado en la etapa 3 y los contenidos totales de Fe y Mn en los suelos de la parcela 4.

La baja recuperación de Hg obtenida en esta etapa respecto al Hg total puede explicarse en base a que normalmente las especies lixiviadas en estas condiciones son los óxidos de Hg [30]. Dado que la parcela 4 corresponde a una zona de antigua minería es de esperar que en este caso la mayor parte del Hg se encuentre como cinabrio, y por tanto, el contenido en estos óxidos sea muy escaso, y en consecuencia, también lo sea su asociación a los óxidos e hidróxidos de Fe y Mn. También es posible que los óxidos e hidróxidos de Mn, debido a su mayor labilidad, hayan sido parcialmente lixiviados en las etapas precedentes, lo que disminuiría ligeramente la recuperación al aplicar esta lixiviación.

Hg elemental

Los contenidos de Hg recuperado en la fracción Hg elemental se situaron entre el 22,7% obtenido para el horizonte A y el 30,7% observado para el horizonte C (figura 8.24).

Como puede observarse el contenido de Hg en esta fracción aumenta progresivamente al aumentar la profundidad tal y como ocurría en el estudio de *Panyametheekul* antes citado [29], que observó porcentajes de recuperación en capas más profundas del suelo (15-30 cm) de hasta 2,8 veces el porcentaje recuperado en la capa más superficial (0-15 cm). Sin embargo, a diferencia de este estudio, el aumento del porcentaje recuperado de Hg en esta fracción es muy ligero, no suponiendo para la capa más profunda (horizonte C) más que 1,4 veces el porcentaje recuperado en la capa más superficial (horizonte A),

siendo además esta capa considerablemente más profunda que la considerada en el citado estudio, lo cual puede indicar que el proceso está menos desarrollado en el tiempo. Sin embargo, si comparamos los porcentajes recuperados para el horizonte Bt1, cuya profundidad se corresponde de forma aproximada con la empleada en el estudio de *Panyametheekul* [29] y el horizonte A, el aumento es sólo de 1,2 veces. Por tanto, si realmente en estos suelos se da, tal y como parece, el fenómeno del aumento de Hg elemental con la profundidad, éste no es muy acusado, sino que al contrario, el Hg elemental tiende a tener un porcentaje aproximadamente constante en todas las capas estudiadas, posiblemente debido a que el proceso de infiltración de Hg elemental hacia capas más profundas no se ha desarrollado suficientemente en el tiempo.

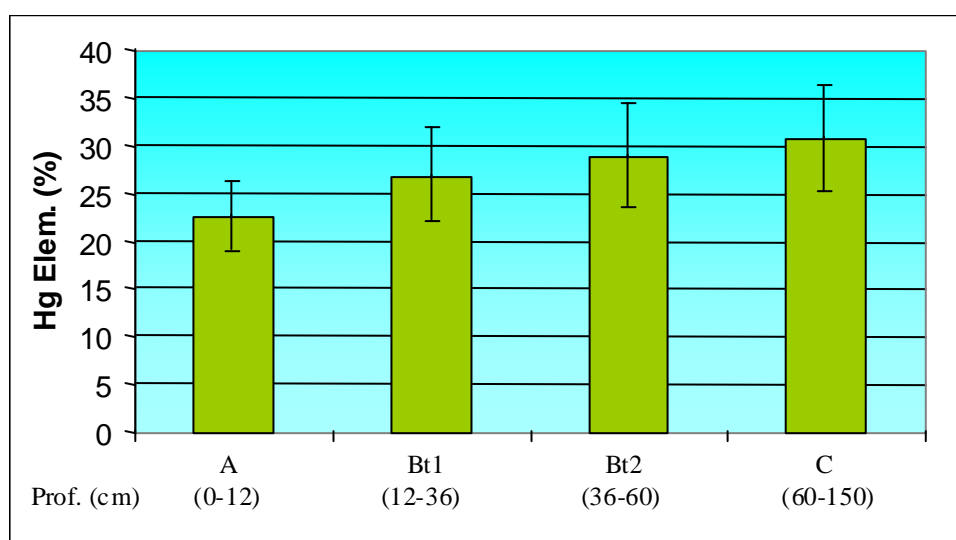


Figura 8.24. Porcentaje de Hg recuperado en la etapa 4 para los suelos de la parcela 4. Las barras de error representan tres veces la desviación estándar relativa

Hg asociado a sulfuro

Como era de esperar, a la vista de los resultados obtenidos de la aplicación de los métodos anteriores, el Hg se distribuye principalmente en la fracción de Hg unido a sulfuro, con recuperaciones que van desde el 55% obtenido para el horizonte más profundo (C) hasta el 63% obtenido para el horizonte más superficial (A) (Figura 8.25).

El porcentaje de Hg asociado a esta fracción disminuye ligeramente al aumentar la profundidad, tal y como ocurriría al aplicar los métodos de determinación de Hg unido a sulfuro y EPA 3200. En otros estudios de aplicación de métodos de extracción secuencial y que tienen en cuenta la profundidad de las muestras de suelos, como el

citado de *Panyametheekul* [29], también encontraron una disminución del porcentaje de Hg en la fracción de sulfuro con la profundidad, pero en este caso la tendencia es mucho más acusada, llegando a obtenerse recuperaciones para las capas más superficiales casi 5 veces superiores a las que se hallaron en las más profundas. En el caso de los suelos de Almadén de la parcela P4, la disminución del porcentaje de HgS es constante con la profundidad pero muy ligera, obteniéndose que el horizonte más superficial (A) presenta un contenido medio en Hg unido a sulfuro sólo 1,1 veces superior al encontrado en el horizonte más profundo (C), lo cual puede indicar que la distribución de Hg presenta un comportamiento similar, al menos hasta una profundidad de 1,5 m.

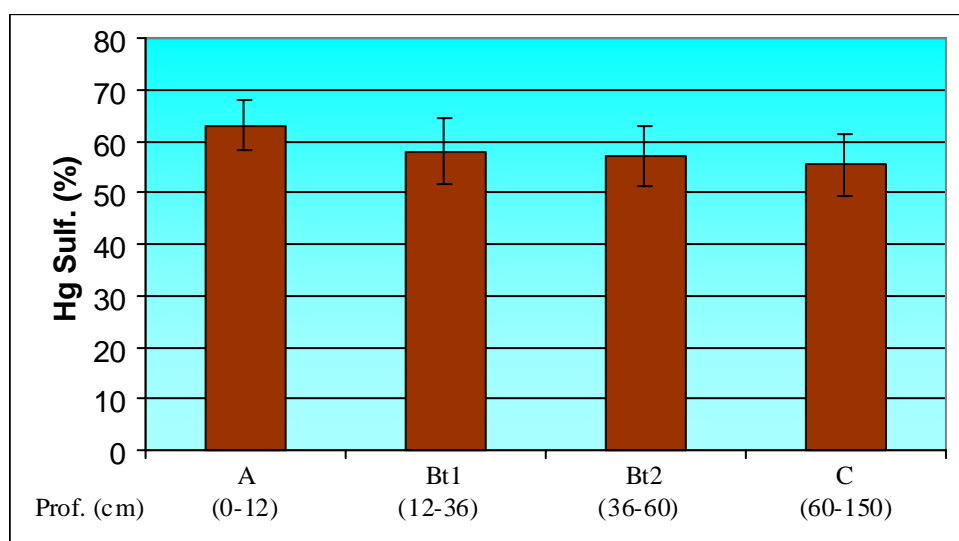


Figura 8.25. Porcentaje de Hg recuperado en la etapa 5 para los suelos de la parcela 4. Las barras de error representan tres veces la desviación estándar relativa.

Parcela P9:

En la tabla 8.10 se muestran los resultados obtenidos al aplicar el método de extracción secuencial a las muestras de la parcela P9.

Tabla 8.10. Distribución de Hg en la parcela 9 según el método de extracción secuencial propio.
n.d.: No detectable.

Concentraciones medias en suelos de la Parcela 9		
Horizonte	A	Bt1
Hg Total ($\mu\text{g g}^{-1}$)	64	13
Hg Lab. ($\mu\text{g g}^{-1}$)	n.d.	n.d.
Hg Hum/Ful ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$1,67 \pm 0,28$	$0,77 \pm 0,15$
Hg FeMn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	n.d.	n.d.
Hg Elem. ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$5,96 \pm 1,12$	$4,25 \pm 0,87$
Hg Sulf. ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$54,96 \pm 2,14$	$7,80 \pm 1,08$

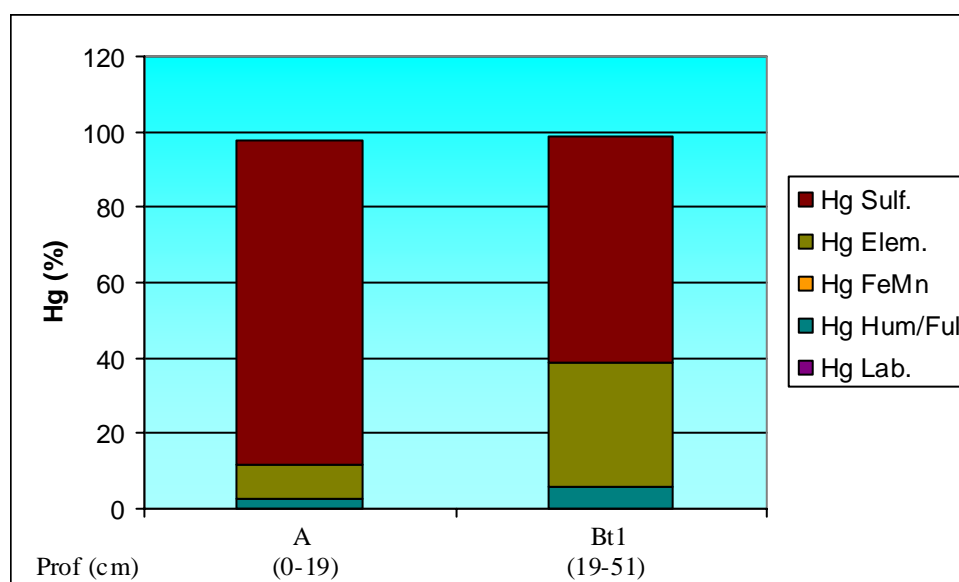


Figura 8.26. Porcentajes de Hg recuperados en las fracciones del método de extracción secuencial propio para los suelos de la parcela 9.

De nuevo se obtienen recuperaciones medias muy aceptables, del orden del 98%, para los dos horizontes estudiados (figura 8.26), lo que indica que el método de extracción propuesto es capaz de lixiviar todas las formas y fases asociadas del Hg presente en los suelos de esta parcela.

Hg Lábil

Al igual que sucede con los suelos de la parcela P4, no fue posible encontrar cantidades de Hg detectables en la fracción de Hg lábil, lo que indica que la presencia de formas

altamente solubles de Hg tales como cloruros, sulfatos o hidroxilos en estos suelos, es casi inexistente o muy escasa.

Hg asociado a materia húmica y fúlvica

Respecto al contenido de Hg recuperado en la etapa de extracción de Hg asociado a materia húmica y fúlvica, nuevamente se obtienen concentraciones significativas, si bien esta fracción es minoritaria no representando más que el 2,6% del Hg total para el horizonte A y el 5,9% para el horizonte Bt1. Al igual que ocurre con los suelos de la parcela 4, el escaso contenido en materia orgánica puede explicar las bajas recuperaciones de Hg obtenidas en esta fracción, ya que el contenido en C orgánico no supone más que el 1,0% en el horizonte más superficial (A) y sólo el 0,4% en el horizonte más profundo (Bt1).

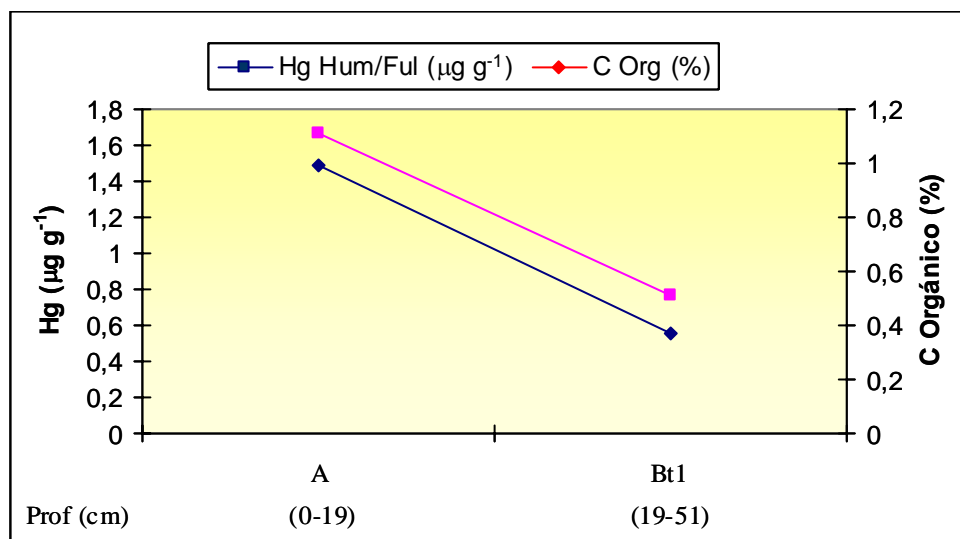


Figura 8.27. Relación entre la concentración de Hg recuperado en la etapa 2 y el contenido en materia orgánica en la parcela 9.

La figura 8.27 muestra la tendencia de la concentración de Hg recuperado en la segunda etapa y el contenido en materia orgánica total para ambos horizontes. Al contrario de lo que sucede en los horizontes de la parcela 4, en ésta se infiere que el contenido de Hg asociado a materia húmica disminuye al decrecer la cantidad de materia orgánica total presente en el suelo, si bien no se puede establecer una correspondencia clara con los suelos de P4 al haber seleccionado horizontes de distinta profundidad.

Hg asociado a óxidos e hidróxidos amorfos de Fe y Mn

Tampoco pudieron detectarse concentraciones significativas de Hg asociado a óxidos e hidróxidos de Fe y Mn. A pesar de que las concentraciones de ambos metales en los suelos de la parcela P9 son menores a los hallados en los de la parcela P4, su contenido es importante, especialmente en el caso del Fe que supone un 3,8% para el horizonte A y 5,8% en el horizonte Bt1, pero nuevamente parece suceder que la cantidad de óxidos e hidróxidos amorfos de Fe debe ser muy escasa al igual que es posible que una proporción de los óxidos de Mn, debido a su alta labilidad, sean lixiviados en las etapas anteriores, especialmente en la etapa de extracción de Hg Lábil, lo cual es coherente con los estudios realizados en el desarrollo de la metodología aplicada (ver apdo. 7.4.3).

Hg elemental

A pesar de que la concentración de Hg total es mucho mayor para el horizonte más superficial (A) que para el más profundo (Bt1), los resultados de la tabla 8.10 muestran contenidos de Hg recuperado en la etapa de Hg elemental del mismo orden de concentración para ambos suelos. Esto se traduce en que el contenido porcentual de Hg recuperado en esta etapa será mucho mayor para el horizonte Bt1. En la figura 8.28 puede verse el porcentaje de Hg recuperado en la fracción de Hg elemental para los dos suelos de la parcela P9. Al contrario que lo que sucede en los suelos de la parcela P4, en este caso el aumento del porcentaje de Hg recuperado en esta fracción es muy acusado, suponiendo el porcentaje de Hg en la fracción 4 para el horizonte más profundo (Bt1) unas 3,5 veces el correspondiente recuperado para el horizonte más superficial (A). Este aumento es incluso más pronunciado que aquéllos observados en el estudio de *Panyametheekul* [29], lo cual puede indicar una posible infiltración del Hg elemental, depositado en estos suelos, hacia las capas más profundas.

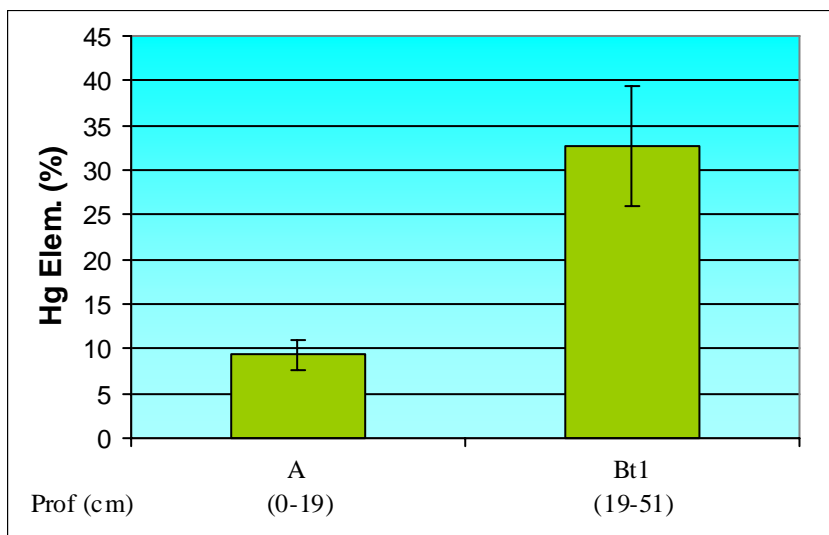


Figura 8.28. Porcentaje de Hg recuperado en la etapa 4 para los suelos de la parcela 9. Las barras de error representan tres veces la desviación estándar.

Hg asociado a sulfuro

De nuevo los contenidos más importantes de Hg los encontramos en la fracción 5, correspondiente al Hg unido a sulfuro (figura 8.29). En el caso del horizonte más superficial (A) encontramos el mayor porcentaje de Hg recuperado en esta fracción de cuantos suelos se han analizado (85%). Esto indica que el Hg en este horizonte presenta una clara preferencia a asociarse con el sulfuro y por tanto a encontrarse en una forma escasamente móvil. Además, el porcentaje de Hg en la fracción 5 disminuye con la profundidad, tal y como sucedía al aplicar los métodos de determinación de Hg unido a sulfuro y EPA 3200, aunque en este caso los porcentajes de recuperación de Hg en la fracción de Hg unido a sulfuro son inferiores a los obtenidos en las correspondientes fracciones Agua Regia y Hg No Móvil de los dos métodos anteriores, especialmente para el horizonte Bt1.

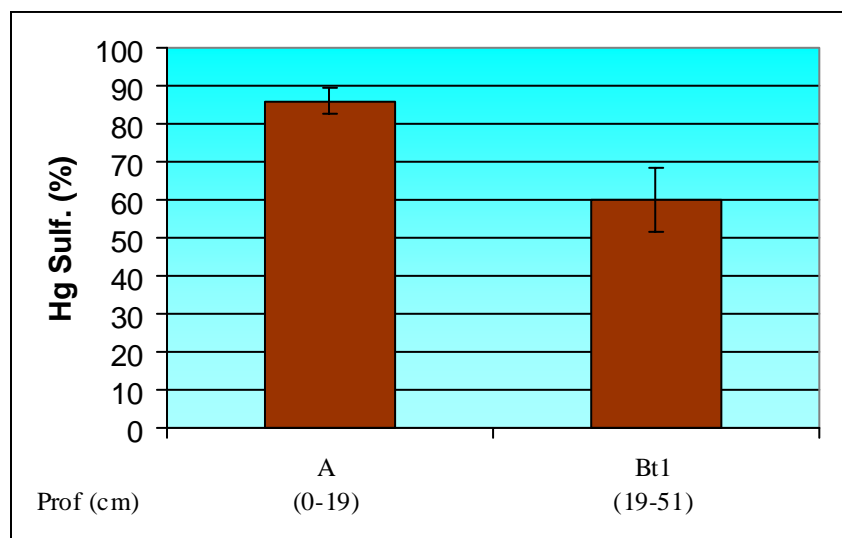


Figura 8.29. Porcentaje de Hg recuperado en la etapa 5 para los suelos de la parcela 9. Las barras de error representan tres veces la desviación estándar.

Las diferencias claras en el contenido de Hg en esta fracción en el horizonte más profundo ($7,8 \mu\text{g g}^{-1}$) y el más superficial ($55 \mu\text{g g}^{-1}$) indican que, aunque parte del Hg asociado a sulfuro es natural, un porcentaje considerable debe proceder de otras fuentes, posiblemente de la deposición atmosférica de cinabrio como materia particulada

8.6.3.5. Consideraciones globales. Comparación de métodos

La aplicación del método de extracción a los suelos de Almadén de las parcelas P4 y P9 proporciona recuperaciones superiores al 90% en todos los casos, lo que implica que el esquema de extracción secuencial propuesto es perfectamente adecuado para la extracción de todas las formas y fases asociadas del Hg presente en estos suelos, y no siendo necesaria la aplicación de una etapa final de extracción del Hg residual.

La concentración de Hg recuperada en la etapa de extracción de Hg lábil fue despreciable o muy poco significativa en todos los horizontes de las dos parcelas, indicando que la presencia de especies lábiles, altamente biodisponibles de Hg en forma libre es muy escasa. Todos los horizontes estudiados mostraron cantidades significativas de Hg recuperado en la segunda etapa, lo cual indica que parte del Hg se asocia con la materia húmica presente, aunque a tenor de las bajas concentraciones detectadas el contenido de ésta en los suelos objeto de estudio, ha de ser muy pequeño. La concentración detectada de Hg en esta fracción fue globalmente similar para todos los

horizontes estudiados de las dos parcelas, lo que parece indicar una distribución uniforme del Hg asociado a la materia húmica con la profundidad. Por otra parte la fracción de Hg unido a óxidos e hidróxidos amorfos de Fe y Mn no presentó contenidos detectables para prácticamente ninguno de los horizontes de ambas parcelas, lo cual indica que el Hg presente en estos suelos no se asocia de forma significativa con estos compuestos. La concentración de Hg en la fracción de Hg elemental demostró ser aproximadamente constante para todos los horizontes estudiados de las dos parcelas, lo que parece significar que esta forma de Hg se distribuye uniformemente en todas las capas de los suelos, siendo una consecuencia directa de que su contenido porcentual se va haciendo más importante al aumentar la profundidad, ya que en este sentido disminuye el contenido de Hg total. A su vez, las mayores recuperaciones de Hg las encontramos invariablemente en la fracción de Hg unido a sulfuro, no siendo nunca los porcentajes con respecto al Hg total inferiores al 55% e incluso llegan a ser de hasta el 85% en el caso del horizonte más superficial de la parcela 9. En este caso también fue apreciada una tendencia a la disminución del porcentaje recuperado en esta fracción con la profundidad.

Estos resultados corroboran el hecho, ya mencionado anteriormente, de que la mayor parte del Hg presente en estos suelos se encuentra en formas poco móviles, principalmente unido a sulfuro, lo cual es coherente teniendo en cuenta que la principal fuente de Hg en la zona es una mina de cinabrio. Pero además, la aplicación de este método, más completo, nos aporta una información más precisa sobre la distribución del Hg en los suelos y su capacidad para la movilización. En este sentido, el método de extracción secuencial desarrollado en esta Tesis muestra ser claramente superior a los métodos aplicados anteriormente en términos de predicción y estimación de la movilidad del Hg en los suelos.

Por otra parte, al comparar el método de determinación de Hg unido a sulfuro con el método de extracción secuencial aplicado, en principio podía pensarse que los resultados de la fracción nítrica de uno debían corresponder de forma aproximada con los de la fracción de Hg elemental del otro, pues las condiciones experimentales en ambas extracciones son idénticas. Sin embargo, los resultados que se obtienen en el método de determinación de Hg unido a sulfuro para esta etapa son claramente

inferiores a los que se obtienen por el método de extracción secuencial desarrollado en esta Tesis. Tampoco las recuperaciones de Hg en ambas etapas parecen correlacionarse de una forma clara (figura 8.30).

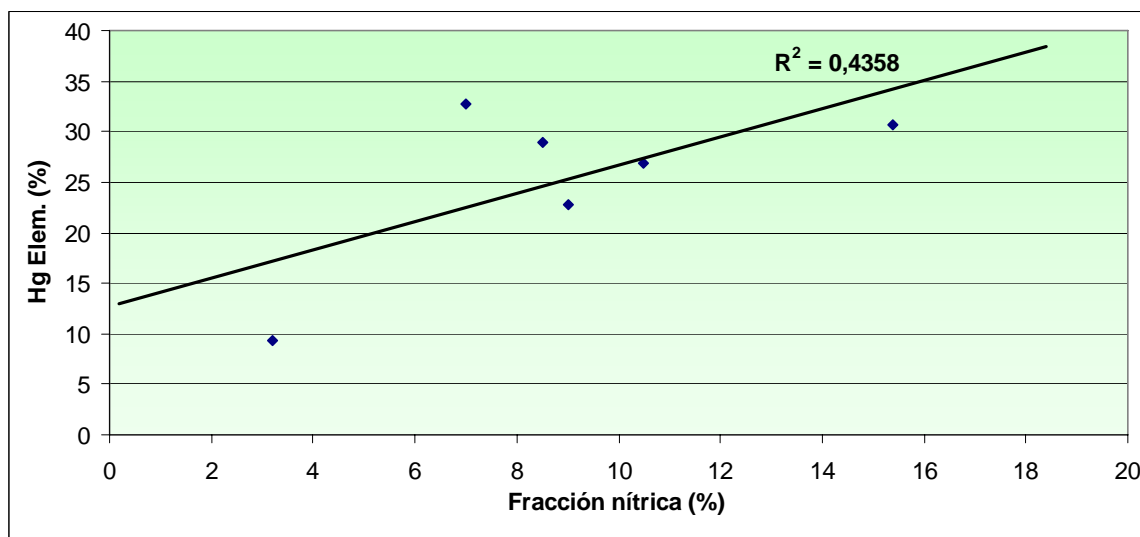


Figura 8.30. Correlación entre el porcentaje de Hg recuperado en la etapa 4 del método de extracción secuencial propio y el porcentaje de Hg recuperado en la fracción nítrica del método de determinación de Hg unido a sulfuro.

La fracción de Hg unido a sulfuro parece correlacionarse algo mejor con la correspondiente fracción Agua Regia del método de determinación de Hg unido a sulfuro (figura 8.31), si bien los resultados que se obtienen en el método de extracción secuencial aplicado son inferiores a los obtenidos de la aplicación del método de determinación de Hg unido a sulfuro.

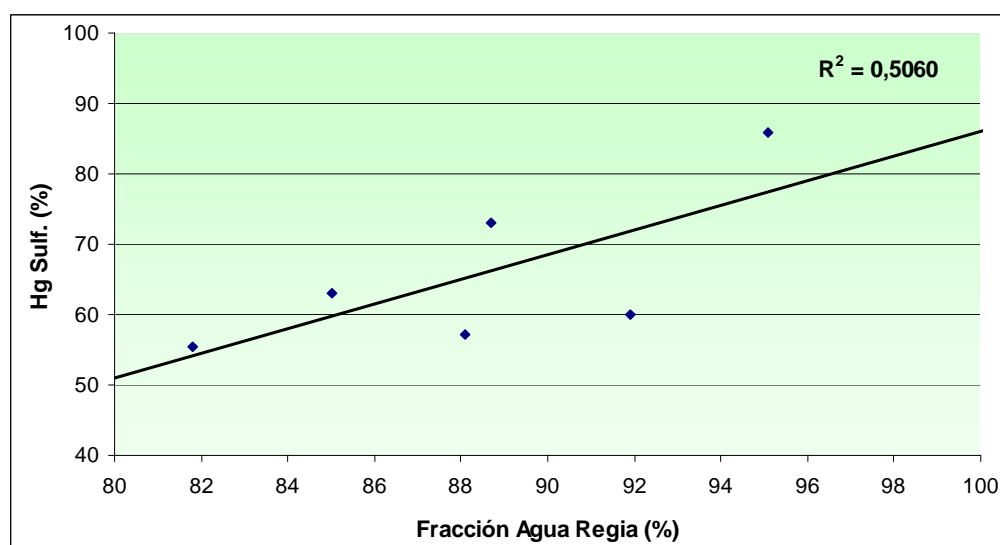


Figura 8.31. Correlación entre el porcentaje de Hg recuperado en la etapa 5 del método de extracción secuencial propio y el porcentaje de Hg recuperado en la fracción agua regia del método de determinación de Hg unido a sulfuro.

La diferencia existente entre el contenido de Hg recuperado en ambas etapas destinadas, a priori, a la extracción de la misma fracción demuestra la influencia que tiene sobre la cantidad de Hg extraído el hecho de haber aplicado previamente otros agentes extractantes. Este es un fenómeno que se encuentra ampliamente referenciado en la bibliografía [35, 36] y constituye uno de los inconvenientes más acusados de los métodos de extracción secuencial. En cualquier caso, para los suelos de Almadén estudiados, las concentraciones obtenidas en las fracciones de uno y otro método fueron aproximadamente del mismo orden, de modo que las conclusiones derivadas de la movilidad y distribución del Hg en los suelos no se ven influenciadas de modo significativo por este fenómeno.

La comparación entre los resultados obtenidos en la etapa de Hg elemental del método de extracción secuencial y la etapa Hg SM del método EPA 3200, en la cual, según sus autores, es lixiviado el Hg elemental, muestra a la vez algunas concordancias y falta de correlación. Por un lado, en ambos casos se observa que el contenido de Hg extraído es similar para las diferentes muestras y horizontes que implican un aumento global del porcentaje de Hg extraído en relación al Hg total con la profundidad y además este aumento es más acusado en la parcela 9, mientras que en la parcela 4 es más suave. Por otra parte, se observa la influencia de los agentes extractantes utilizados en ambos métodos en la falta de correlación de los resultados (figura 8.32).

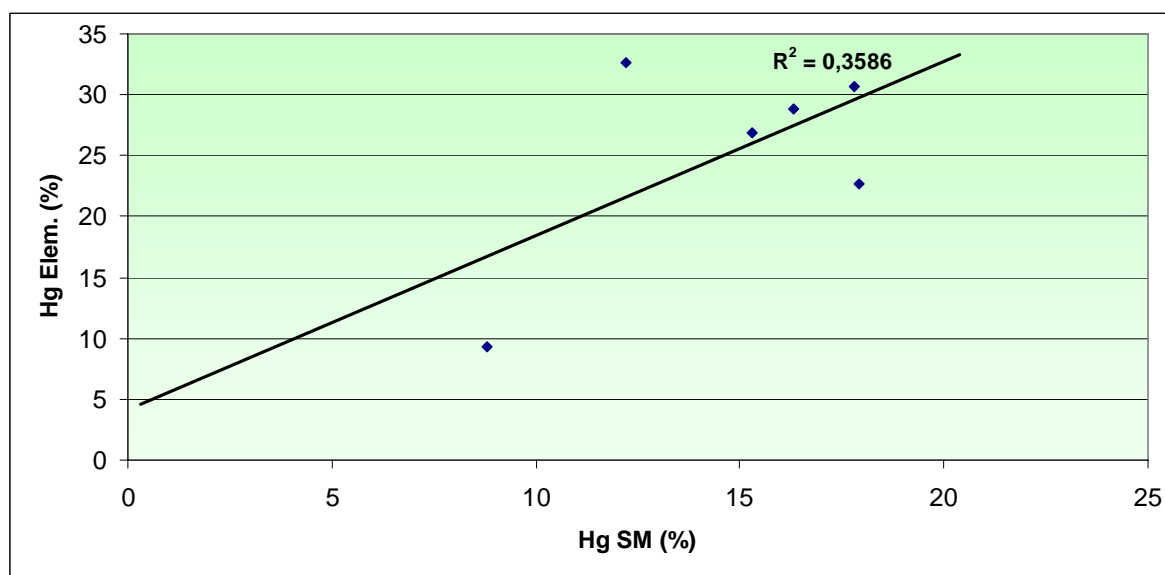


Figura 8.32. Correlación entre el porcentaje de Hg recuperado en la etapa 4 del método de extracción secuencial propio y el porcentaje de Hg recuperado en la fracción SM del método EPA 3200.

Más concordancia muestra la comparación de resultados obtenidos en las extracciones de Hg unido a sulfuro y Hg NM de ambos métodos (figura 8.33). En este caso el coeficiente de correlación es mejor ($R^2 = 0,8473$) y parece corroborar la proximidad de los propósitos de ambas extracciones diseñadas para la extracción del Hg menos soluble.

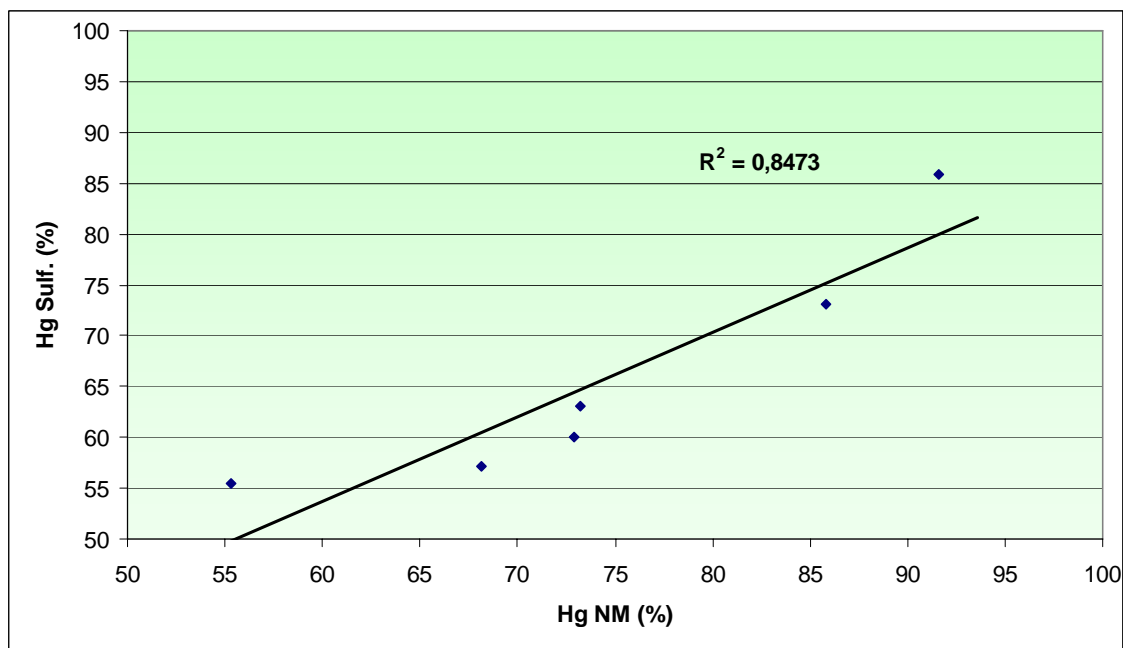


Figura 8.33. Correlación entre el porcentaje de Hg recuperado en la etapa 5 del método de extracción secuencial propio y el porcentaje de Hg recuperado en la fracción NM del método EPA 3200.

8.6.3.6. Aplicación del método de determinación de Hg Orgánico

Hasta la fecha, no existen datos publicados acerca de las concentraciones de metilHg y otras especies organomercúricas en suelos del área minera de Almadén. En un magnífico y reciente estudio, Gray *et al.* [20] estudiaron la especiación de Hg y las constantes de metilación y desmetilación en escombreras procedentes de la calcinación del mineral extraído de la mina, así como en sedimentos y aguas en el distrito minero de Almadén. Estos autores encontraron contenidos elevados de MeHg en las escombreras donde llegaron a detectar concentraciones de hasta $3100 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ de esta especie. También las concentraciones de MeHg encontradas en sedimentos fueron altas, llegando a detectarse hasta $82 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ en algunas muestras. Los experimentos de incubación demostraron a su vez un elevado potencial de metilación del Hg presente, tanto para los sedimentos como para las escombreras, sugiriendo los autores en este último caso la

presencia de especies de Hg altamente reactivas, disponibles para la metilación a través de la acción bacteriana.

En el desarrollo de la presente Tesis Doctoral, el método desarrollado para la determinación de la fracción de Hg orgánico en muestras sólidas se ha aplicado a las muestras de suelos de Almadén de las parcelas P4 y P9 con el propósito de evaluar y cuantificar la presencia de especies organomercúricas en estos suelos, que por su extrema toxicidad representan un importante riesgo desde un punto de vista medioambiental [33].

Los resultados de la aplicación se muestran en la tabla 8.11.

Tabla 8.11. Aplicación del método de determinación de Hg Orgánico a los suelos de las parcelas 4 y 9. Los resultados representan el valor medio \pm 3 veces el valor de la desviación estándar (n = 4).

Parcela	Horizonte	Hg Total ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Hg Org. ($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$)	Hg Org. (%)
P4	A	29	282 \pm 27	0,97 \pm 0,09
	Bt1	25	287 \pm 63	1,15 \pm 0,25
	Bt2	21	139 \pm 23	0,66 \pm 0,11
	C	15	82 \pm 12	0,55 \pm 0,08
P9	A	64	265 \pm 15	0,41 \pm 0,02
	Bt1	13	79 \pm 21	0,61 \pm 0,16

Los resultados muestran la presencia significativa de especies orgánicas de Hg en todos los horizontes estudiados de las dos parcelas. Estos resultados presentan un orden de concentración intermedio a los encontrados para el MeHg en los sedimentos y escombreras estudiados por Gray *et al.* [20]. Si bien cuantitativamente la fracción orgánica de Hg no representa una fracción importante, pues apenas supera el 1% del Hg total en los horizontes objeto de estudio, debido a la extrema toxicidad de las especies extraídas en esta fracción y a su relativamente alta concentración, su contenido ha de ser tenido en cuenta a la hora de evaluar el riesgo que suponen estos suelos para el medioambiente local, ya que demuestran la presencia de especies altamente biodisponibles para la flora y fauna del entorno.

Algunos autores han sugerido la idea de estudiar la correlación existente entre el contenido de Hg orgánico, principalmente como MeHg, y el Hg asociado a materia orgánica, determinable a través de la aplicación de una extracción sencilla o dentro de la aplicación de un esquema secuencial, como una forma de evaluar el potencial de metilación del Hg presente en suelos y sedimentos. Bloom *et al.* [37] estudiaron la correlación entre el contenido de MeHg en sedimentos marinos y la concentración de Hg en la fracción de Hg asociada a materia orgánica, entendiéndose por ésta tanto los ácidos húmicos y fúlvicos como los microorganismos vivos o muertos que puedan encontrarse presentes. En el citado estudio [37] se encontró una buena correlación entre ambos contenidos de Hg, concluyendo que el Hg extraído del total del Hg presente en el suelo en la etapa correspondiente del esquema de extracción secuencial, representaba el contenido más claramente asequible para la metilación. De modo similar, en el estudio de los suelos de Almadén recogidos de las parcelas P4 y P9, se han relacionado los contenidos de Hg Orgánico obtenido de la aplicación del método desarrollado en esta Tesis y el Hg asociado a materia húmica y fúlvica, extraído en la segunda etapa del método de extracción secuencial propio. Los datos que relacionan ambas fracciones se muestran en la figura 8.34.

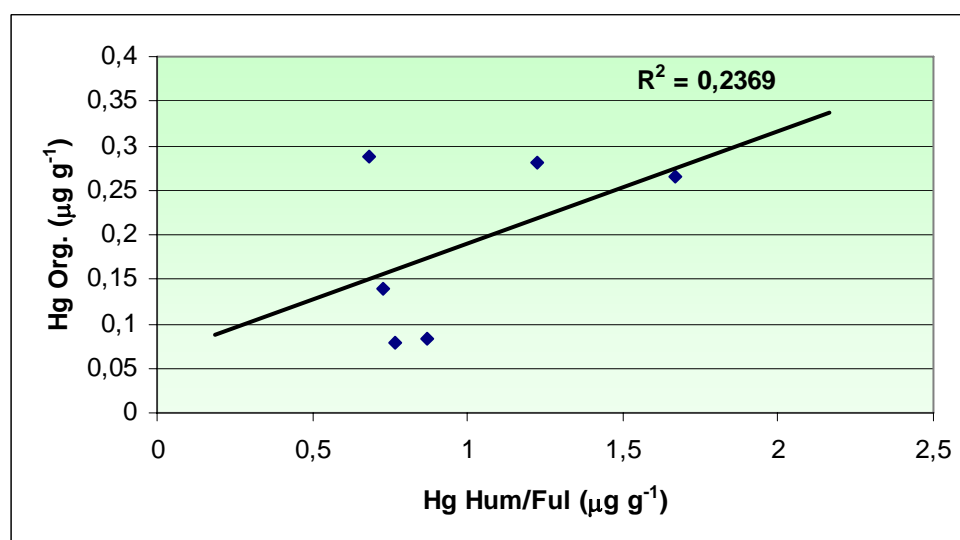


Figura 8.34. Correlación entre el contenido de Hg recuperado en la etapa 2 del método de extracción secuencial y el porcentaje de Hg recuperado en el método de determinación de Hg Orgánico.

Los resultados muestran una débil correlación positiva entre ambas fracciones, inferior a la obtenida por Bloom *et al.* [37]. Esta falta de correlación puede ser debida a que en

este caso, las muestras de Almadén pertenecen a un ambiente más bien aerobio y seco, al contrario que ocurre en el caso de sedimentos marinos, donde los procesos de biometilación están claramente asociados a ambientes anaerobios y por supuesto en condiciones de humedad muy alta.

En conclusión, la aplicación del método de determinación de Hg Orgánico a los suelos de Almadén recogidos de las parcelas P4 y P9 permitió detectar la presencia de especies organomercúricas en estos suelos en concentraciones significativas.

8.7. CONCLUSIONES DEL ESTUDIO

- Mediante la aplicación del método de Revis no fue posible extraer cuantitativamente el contenido de Hg en las muestras, presentando serias dificultades para evaluar el contenido de Hg asociado a sulfuro en los suelos estudiados de Almadén.
- A partir de la optimización de la etapa de lixiviación nítrica y el desarrollo de una segunda etapa más adecuada a la determinación de Hg, fue posible desarrollar una metodología específica que permitió estimar de manera fiable el contenido de Hg asociado a sulfuro en los suelos de las parcelas seleccionadas. La aplicación de este método mostró que el Hg asociado a sulfuro es la fase predominante en la distribución de Hg en todos los perfiles estudiados, si bien el porcentaje de Hg potencialmente disponible aumenta con la profundidad.
- La aplicación del método EPA 3200, proporcionó información adicional acerca de la distribución del Hg en los suelos, estimándose que la mayor movilidad del mismo en las capas más profundas era atribuible a un mayor contenido porcentual en especies inorgánicas solubles.
- De todos los métodos aplicados, el método de extracción secuencial propio, fue el que proporcionó mayor información acerca de la disponibilidad del Hg en estos suelos. Este esquema coincide en líneas generales con los anteriores, en el hecho de que el Hg se distribuye principalmente en la fracción de Hg asociado a sulfuro. Pero, al contrario que éstos, demuestra que el resto del Hg se asocia con fases estables y

poco solubles, como son la materia orgánica húmica y fúlvica y el Hg elemental, no apareciendo concentraciones significativas en las fracciones potencialmente más movilizables (Hg Lábil y Hg asociado a óxidos e hidróxidos amorfos de Fe y Mn).

- La aplicación del método de extracción de Hg Orgánico demostró la presencia de concentraciones significativas de especies orgánicas de Hg en los suelos estudiados que, si bien no suponen un porcentaje relevante del Hg total presente en las muestras, dada la extrema toxicidad de estas especies, merecen ser tenidas en cuenta a la hora de evaluar los riesgos que suponen estos suelos para el medioambiente.

8.8. REFERENCIAS

- [1] Lotze F (1945) *Geotekt. Forsch* 6: 78-92.
- [2] Julivert M, Fontbote M, Ribeiro A, Conde LE (1972). “Memoria explicativa del mapa tectónico de la Península Ibérica y Baleares”. *IGME*, 113 pp. Madrid.
- [3] Higuera P, Esbrí JM, Gray JE, Hines ME, Lillo J, Lorenzo S, Molina Abril JA, Oyarzun R, Sánchez Hernández JC (2004) “Un caso de contaminación milenaria: el distrito de Almadén”. *VII Congreso Nacional de Medio Ambiente*.
- [4] Hernández AM (1984). Memoria de Tesis “Estructura y Génesis de los Yacimientos de Mercurio de la Zona de Almadén”. *Universidad de Salamanca*.
- [5] Saupé F (1990) *Economic Geology* 85: 482-510.
- [6] Arnold M, Maucher A, Saupé F (1971) En *Amstutz, G.C.; Bernard, A.J. (eds) “Ores in sediments”*. Berlin, Heidelberg, London, Paris y Tokio, Springer-Verlag, pp. 7-19.
- [7] Almela A, Alvarado M, Coma J, Felgeroso C, Quintero I (1962) *Boletín del Instituto Geológico y Minero de España*. 73: 193-327.
- [8] Borrero J, Higuera P (1990) *Boletín Geológico y Minero*, 106-6: 48-65.
- [9] Ortega E.; Hernández, A. (1992) *Chronique de la Recherche Minière* 506: 3-24.
- [10] Rytuba JJ, Rye RO, Hernández AM, Dean JA, Arribas Sr. A (1988) “Genesis of Almaden type mercury deposits, Almaden, Spain”. *Abstract for the International Geological Congress, Washington*.
- [11] Hernández A, Jébrak M, Higuera P, Oyarzun R, Morata D, Munhá J (1999) *Mineralium Deposita* 34: 539-548

- [12] Morata D, Higuera P, Domínguez-Bella S, Parras J, Velasco F, Aparicio P (2001) *Clay Minerals* 36: 345-354
- [13] Matilla A (1958). “Historia de las Minas de Almadén. Vol.I desde la época romana hasta el año 1645”. *Consejo de Administración de Minas de Almadén y Arrayanes*, 506 pp.
- [14] Matilla A (1987). “Historia de las minas de Almadén. Vol. II. Desde 1646 a 1749”. *Minas de Almadén y Arrayanes, S.A., e Instituto de Estudios Fiscales, Ministerio de Hacienda*, 491 pp.
- [15] Lindberg SE, Jackson DR, Huckabee JW, Janzen SA, Levin MJ, Lund JR (1979) *J Environ Qual* 8: 572-578
- [16] Hildebrand SG, Huckabee JW, Sanz Díaz F, Janzen SA, Solomon JA, Kumar KD (1980) *Oak Ridge, Tenn., Oak Ridge National Laboratory, ORNL/TM-7446*.
- [17] Huckabee JW, Sanz Díaz F, Janzen SA, Solomon J (1983) *Environ Pollut (Series A)* 30: 211-224
- [18] Ferrara R, Maserti BE, Andersson M, Edner H, Ragnarson P, Svanberg S (1997) *Water Air Soil Pollut.* 93: 59-66.
- [19] Maserti BE, Ferrara R, Panichi MA, Storni M (1996). “Mercury concentrations in plants and soil of the cinnabar mineralized area of Almadén (Spain)”. *4th Int Conf on Mercury as a Global Pollutant, Hamburg, Germany, 4-8, August, 1966*, p. 140.
- [20] Gray JE, Hines ME, Higuera PL, Adatto I, Lasorsa BK (2004) *Environ Sci Technol* 38: 4285-4292.
- [21] Higuera P, Oyarzun R, Lillo J, Sánchez-Hernández JC, Molina JA, Esbrí JM, Lorenzo S (2006) *Science Total Environ* 356: 112-124.
- [22] Manzanares P, Tallos A, Recreo F, Carrasco JE (1999) “Biorremediation and Economic Renewal of Industrially Degraded Land Using Biomass Fuel Crops-Biorenew”. Mid-term report, contract ENV-CT97-0610, CIEMAT/DER-B/97-014/24/99.
- [23] Revis NW, Osborne TR, Sedgley D, King A. (1989) *Analyst*, 114: 823-825.
- [24] Revis NW, Osborne TR, Holdsworth G, Hadden C (1989) *Water Air Soil Pollut* 45: 105-113
- [25] Welz B, Melcher M, Sinemus HS, Maier D (1984) *At Spectrosc* 5: 37-42
- [26] Morita M, Yoshinaga, J, Edmonds JS (1998) *Pure & Appl Chem* 70: 1585-1615
- [27] Hall, G.E.M.; Pelchat, P (2005) *Geochem Explor Environ Anal* 5: 107-113

- [28] Biester H, Müller G, Schöler HF (2002) *Sci Total Environ* 284: 191-203
- [29] Panyametheekul S (2004) *Environ Geochem Health* 26: 51-57
- [30] Giulio RT, Ryan E (1987) *Water Air Soil Pollut* 33: 205-219.
- [31] Han Y, Kingston HM, Boylan HM, Rahman GMM, Shah S, Richter RC, Link DD, Bhandari S (2003) *Anal Bioanal Chem* 375: 428-436.
- [32] EPA METHOD 3200 “Mercury Species Fractionation and Quantification by Microwave Assisted Extraction, Selective Solvent Extraction and/or Solid Phase Extraction”. Revision 0, July 2005, pp. 27.
- [33] Schuster E (1991) *Water Air Soil Pollut* 56: 667-680
- [34] Hall GEM, Pelchat P (2005) *Geochem Explor Environ Anal.* 5: 115-121
- [35] Morabito R (1995) *Fres J Anal Chem* 351: 378-385
- [36] Calvet R, Bourgeois S, Msaky JJ (1990) *Intern J Environ Anal Chem* 39: 31-45
- [37] Bloom NS, Preus E, Katon J, Hiltner M (2003) *Anal Chim Acta* 479: 233-248

9.1. DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

Asturias es una región localizada en el norte de la península donde se encuentran abundantes depósitos de mercurio (Figura 9.1).

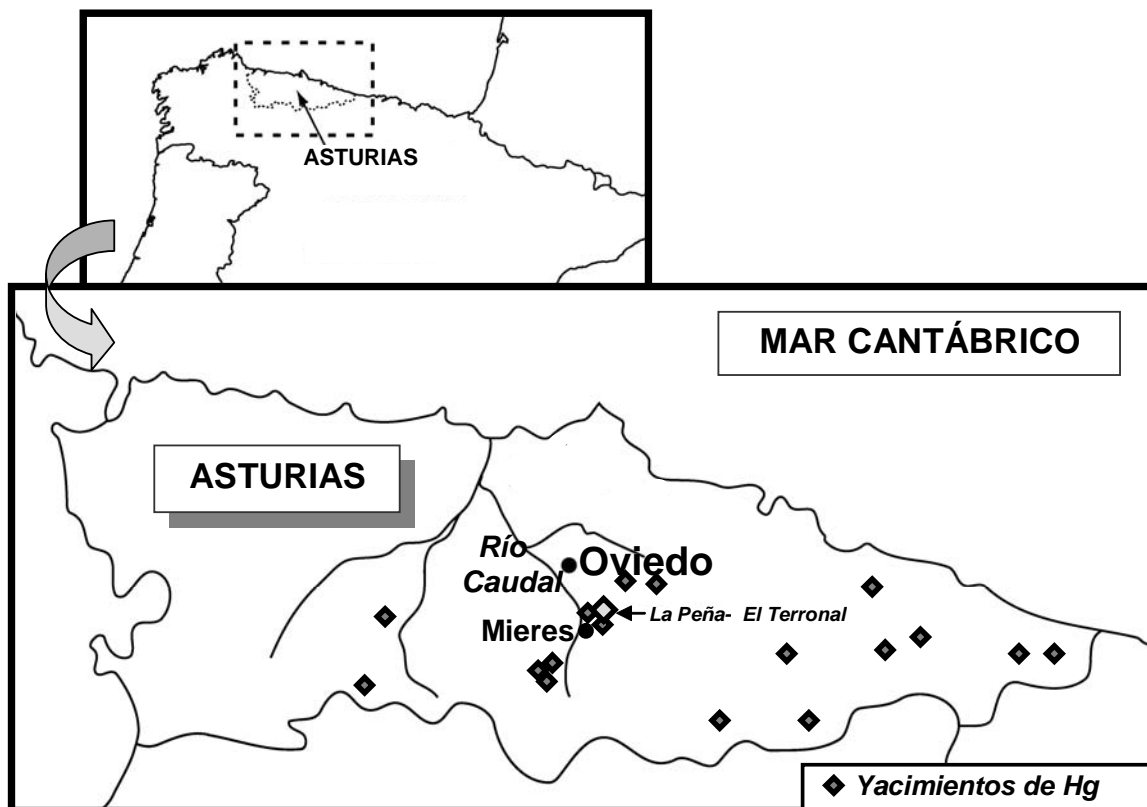


Figura 9.1. Mapa de Asturias y principales yacimientos de Hg en la zona

Los yacimientos de mercurio en Asturias muestran una morfología lenticular y están asociados a niveles de brechas constituidos por clastos de naturaleza silíceas de edad carbonífera. El mercurio generalmente aparece en forma de cinabrio aunque el metacinabrio y el mercurio nativo también se encuentran ocasionalmente en las menas. Otros minerales metálicos presentes en la paragénesis del depósito mineral son la pirita, esfalerita, marcasita, calcopirita, galena, estibina, rejalgar y, excepcionalmente, oro nativo [1].

Respecto a la climatología de la zona, en contraste con otras regiones de España, Asturias se caracteriza por presentar un clima húmedo con abundantes precipitaciones y temperaturas suaves [2]. A este respecto, es de esperar que la percolación en sentido

descendente sea el proceso dominante. De acuerdo con los datos meteorológicos de los últimos 20 años, la media anual de temperaturas máximas y mínimas es de 17 y 8 °C respectivamente. La media de precipitaciones anuales en el mismo periodo es de unos 966 mm, y la humedad relativa varía entre 74% y 84%. El potencial de evapotranspiración calculado de acuerdo con el método de Thornthwaite [3] es de 691 mm año⁻¹, de forma que la precipitación anual efectiva será de 275 mm año⁻¹. La combinación de los factores de lluvia y temperatura influyen de manera fundamental en la cantidad de agua que percola a través de las escombreras de residuos, material minado y subsuelo y en el grado de evaporación de sus materiales. Estas características climatológicas hacen de Asturias una región muy diferente al de las zonas áridas como por ejemplo Almadén y es de esperar que tengan una incidencia fundamental en la movilización del mercurio en los suelos de la zona.

9.2. EVOLUCIÓN HISTÓRICA DE LA EXPLOTACIÓN

Los depósitos de mercurio de Asturias, aunque menos conocidos que los de Almadén en Ciudad Real, también han sido explotados históricamente [4]. La extracción de mercurio en esta zona data de la época romana, conociéndose vestigios de labores antiguas que se asignan a este periodo, que se limitaron estrictamente a los niveles más superficiales.

A finales de la década de los años treinta, en el siglo XIX y como resultado del Real Decreto de la Ley Minera de 1825, resurge el interés por la actividad minera en España con un gran impulso para la minería del mercurio. En Asturias, las labores mineras más antiguas de las que se tiene constancia se emplazan en la zona de La Peña, en el valle del río Miñera, unos 5 Km al norte de la población de Mieres. En 1842 se crea en Asturias la primera sociedad minera de la era moderna dedicada a la explotación de mercurio, para extraer y calcinar el cinabrio descubierto en la zona de La Peña. A partir de esta fecha, se van creando varias las sociedades para la explotación de los diferentes yacimientos de mercurio conocidos en Asturias.

Como dato significativo de la gran importancia que durante el siglo XIX llegó a tener la explotación de mercurio en Asturias, en la figura 9.2 vienen indicados sus valores de

producción según datos de la época [5]. Solamente la Sociedad Minera del Porvenir, en el periodo comprendido entre 1843 y 1893 tuvo una producción de unos 20.463 frascos de mercurio [4] (un frasco de mercurio contiene unos 34,5 kg del metal líquido).

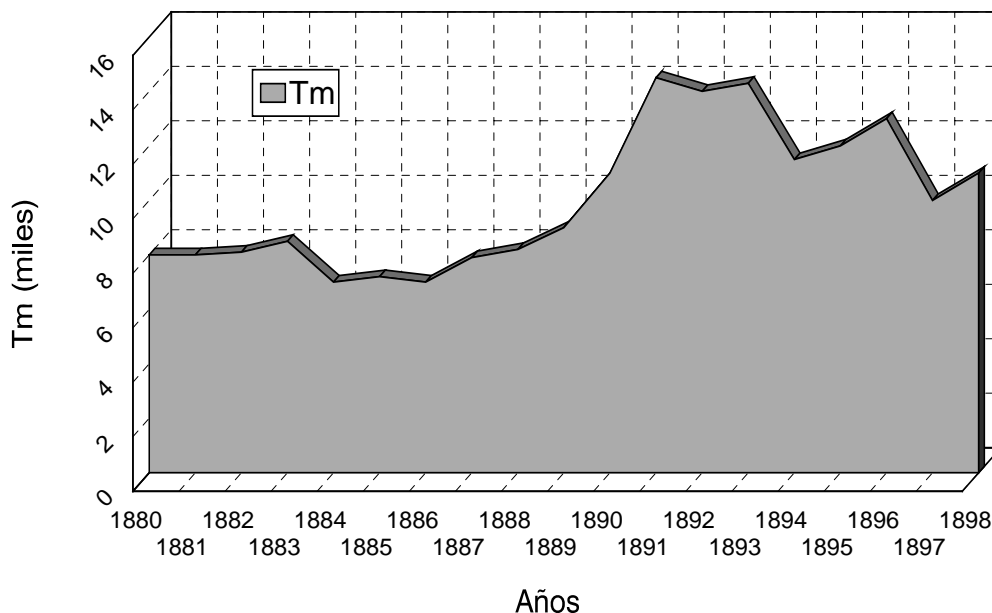


Figura 9.2. Producción de Mercurio en Asturias durante el siglo XIX

A comienzos del siglo XX tiene lugar una notable crisis, a escala internacional, en la minería del mercurio que repercute gravemente en las empresas mineras asturianas. Esto lleva al cierre de un gran número de ellas, y no es hasta los años cuarenta, cuando se reinician las explotaciones en diferentes yacimientos de la región. El decenio comprendido entre 1962 y 1972 representa para la minería de mercurio en Asturias su época más floreciente y de mayor actividad, y es en este periodo cuando las minas más importantes como las ubicadas en El Terronal, La Peña, Muñón-Cimero, Brañalamosa, Maramuñiz, Pidracea, Olicio, Caunedo, etc, están en su mejor momento de producción. Para dar cuenta de la importancia que en ese decenio alcanzó la producción de mercurio en la región la figura 9.3 muestra un gráfico de la producción en esa época en la que llegó a suponer un 5% de la producción mundial [6].

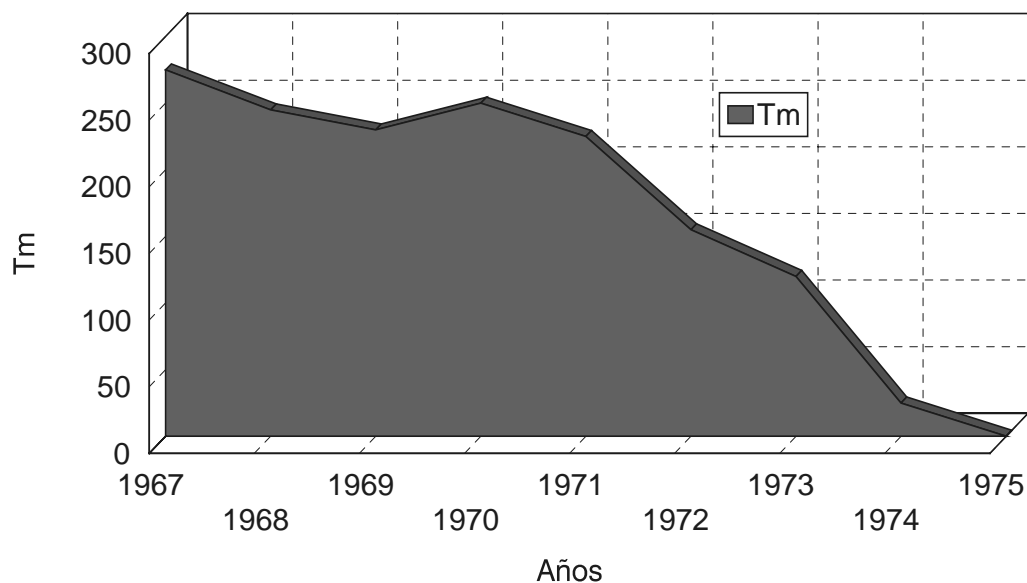


Figura 9.3. Producción de mercurio en Asturias durante el último decenio de actividad minera (SADEI).

La gran crisis que sufre el mercurio a escala internacional en 1972, dio lugar no sólo a la paralización de algunos proyectos mineros en la zona, sino también al cierre sucesivo, entre 1973 y 1974, de la totalidad de las minas hasta entonces activas.

Si bien las labores mineras dedicadas a la extracción de mercurio de las que queda constancia en Asturias son muy abundantes [7], las más importantes en cuanto al volumen de material extraído y por tanto con mayor capacidad de haber producido un importante impacto ambiental sobre los suelos y las aguas de su entorno, son las correspondientes a las minas de “La Peña – El Terronal” en el concejo de Mieres, y “La Soterraña”, en el concejo de Pola de Lena. En ambas existían también instalaciones metalúrgicas para la calcinación del mineral y concentración del mercurio, lo que ha influido notablemente a potenciar su impacto ambiental. La extracción moderna del área “La Peña – El Terronal” comprendía una explotación subterránea en 12 niveles y en la época de máxima actividad llegó a alcanzar una producción de 500 frascos de mercurio al mes, convirtiéndose en la segunda mina más importante de España, tras Almadén, y la octava a nivel mundial.

En esta explotación (“La Peña – El Terronal”) el mineral se trataba en las instalaciones inmediatas. En los hornos de tostación el mineral extraído se calcinaba a temperaturas de 580 °C, donde el sulfuro mercúrico se oxidaba produciéndose SO₂ y vapor de

mercurio. Los vapores producidos se hacían pasar a través de un sistema de condensadores para precipitar el mercurio líquido. Los gases que pasaban a través de los condensadores se transportaban mediante largas chimeneas que ascendían a través de la pendiente de las colinas o montañas con el fin de prevenir la contaminación de los trabajadores por estos gases tóxicos. Actualmente estas instalaciones se encuentran abandonadas y contribuyen de forma importante al impacto paisajístico de la zona (Figura 9.4).

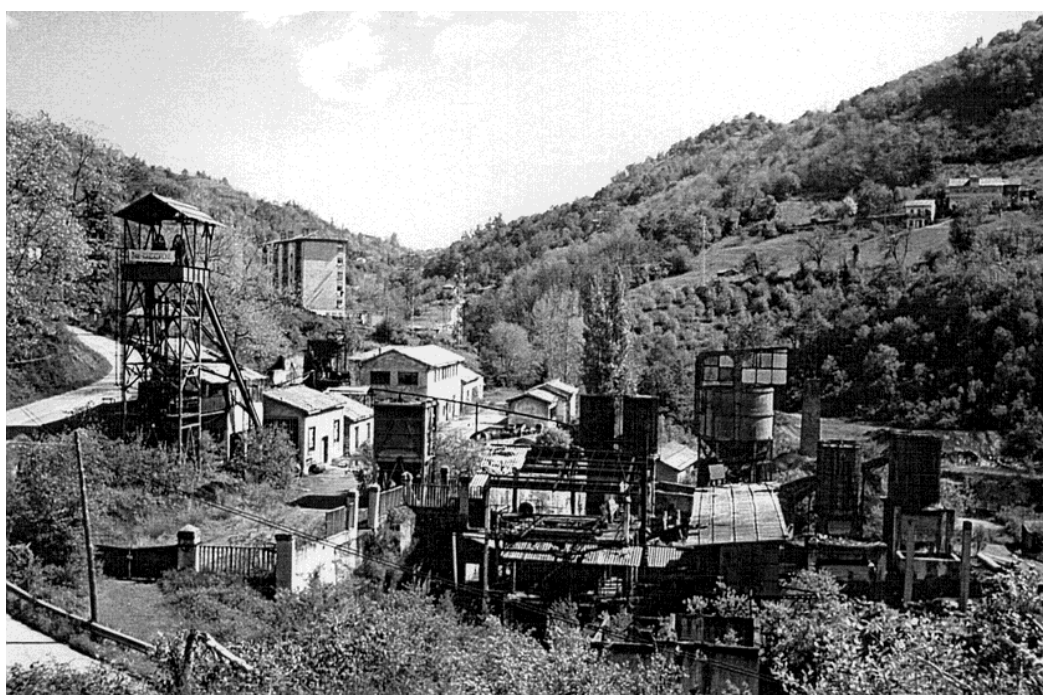


Figura 9.4. Aspecto actual de las instalaciones metalúrgicas en la zona de la mina de “El Terronal” (Mieres).

9.3. IMPACTO DEL MERCURIO EN EL MEDIOAMBIENTE DE LA ZONA

El principal estudio realizado con el fin de estudiar el impacto producido por el Hg en la zona se atribuye a Baldo [8]. En este se investigó el contenido de Hg así como de otros elementos (principalmente As) en diversos compartimentos medioambientales incluyendo suelos, plantas, aguas, sedimentos y algas. La zona del estudio se situó en las principales escombreras y sus alrededores. En el caso de los suelos se detectaron concentraciones totales de Hg en el intervalo de 1,7 a 1585 mg Kg⁻¹ con un valor medio

de 114 mg Kg⁻¹. También se analizó el contenido de Hg en plantas de la zona, encontrándose valores elevados, que en algunos casos, como el brezo y algunos pastos, superaron incluso los valores críticos establecidos para este metal en plantas. En aguas el contenido encontrado de Hg fue poco significativo, a pesar de que en algunas zonas (ej: Los Rueldos) los procesos de drenaje ácido de las escombreras, atribuidos según el autor a la oxidación de la pirita por acción bacteriana, conducen a unos valores de pH muy bajos (2,4-2,6). Por su parte, en los sedimentos muestreados se observaron concentraciones de Hg superiores a 300 mg Kg⁻¹. Finalmente, las algas de las vías fluviales de la zona, también mostraron concentraciones significativas de Hg sugiriéndose la posibilidad de actuar como bioacumuladores de Hg y otros metales pesados.

9.4. OBJETIVOS DEL ESTUDIO

El objetivo general del estudio del mercurio en la zona de Asturias es evaluar su concentración, distribución y movilidad del mercurio en muestras de suelos procedentes de la antigua explotación minera de “El Terronal” en Mieres.

Para realizar esta evaluación los objetivos específicos en el desarrollo del trabajo son los siguientes:

1. Caracterización de la zona, selección de los suelos, toma de muestra y fraccionamiento granulométrico de las muestras.
2. Caracterización química, mineralógica y micromorfológica de las muestras de suelos, así como de sus correspondientes fracciones granulométricas.
3. Estudio de la concentración total de mercurio en los suelos, así como su distribución entre las distintas fracciones granulométricas previamente establecidas.
4. Estudio de la movilidad del mercurio en las muestras originales y sus fracciones granulométricas mediante la aplicación de distintos métodos de extracción simple o secuencial.

5. Comparación de los resultados obtenidos mediante los distintos métodos y evaluación de la idoneidad de éstos para el estudio de la geoquímica y distribución del Hg en los suelos objeto de estudio.
6. Establecimiento de los factores que influyen en la movilización y distribución del mercurio en estos suelos. Esta etapa se basa en el análisis de los resultados obtenidos de la caracterización fisicoquímica de las muestras en relación con aquellos obtenidos para las concentraciones de mercurio en los distintos puntos de muestreo, su distribución entre las diferentes submuestras granulométricas y su fraccionamiento con las diferentes disoluciones extractantes empleadas en los métodos de extracción aplicados.

9.5. PARTE EXPERIMENTAL

9.5.1. Toma de muestra

El muestreo superficial del suelo se lleva a cabo en las inmediaciones de una chimenea del área de “El Terronal” (ver figuras 9.5 y 9.6), la cual asciende por la pendiente del valle donde estaban ubicadas las instalaciones de tratamiento del mineral extraído. Esta chimenea se utilizaba para la evacuación de los vapores tóxicos generados durante el tratamiento pirometalúrgico del mineral, y está rota en varios puntos (ver figura 5), lo cual presumiblemente ha contribuido a la liberación de mercurio, en forma particulada o como vapor, al medioambiente, lo que es manifiesto si se tiene en cuenta que en las proximidades de la misma es posible encontrar gotas de mercurio nativo impregnando el suelo.

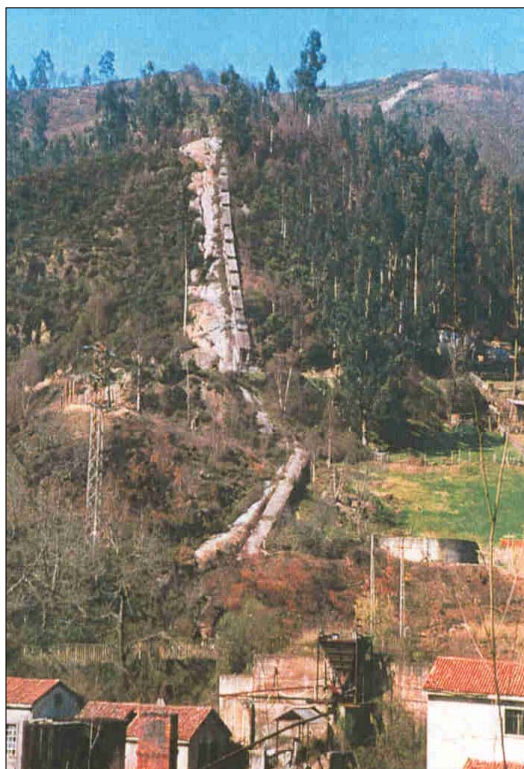


Figura 9.5. Aspecto actual de la chimenea empleada para la evacuación de gases tóxicos en las instalaciones metalúrgicas de “El Terronal” (Mieres)

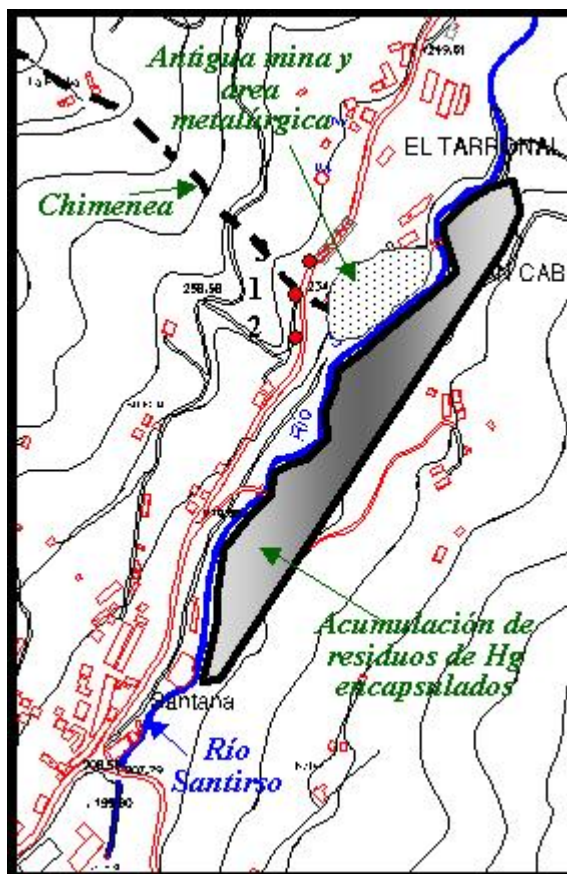


Figura 9.6. Localización de los puntos de muestreo.

El muestreo se realiza a una profundidad media de unos 25 cm, mediante un procedimiento estándar. Se recogen tres muestras en suelos próximos a la chimenea, tomadas a distintas alturas y a diferente distancia de la misma (Figura 9.6).

La muestra 1 se recoge en un punto en el cual el suelo se encuentra directamente en contacto con los restos de la chimenea, mientras las muestras 2 y 3 se toman aguas abajo y aguas arriba de la chimenea, respectivamente, a una distancia de la misma de aproximadamente 25 m.

9.5.2. Preparación de las muestras

Las muestras recogidas se secan en un horno a temperatura inferior a 40 °C para disminuir las pérdidas de elementos volátiles. Después del secado, se eliminan las piedras y otras partículas grandes y las muestras resultantes se disgregan en un mortero de ágata.

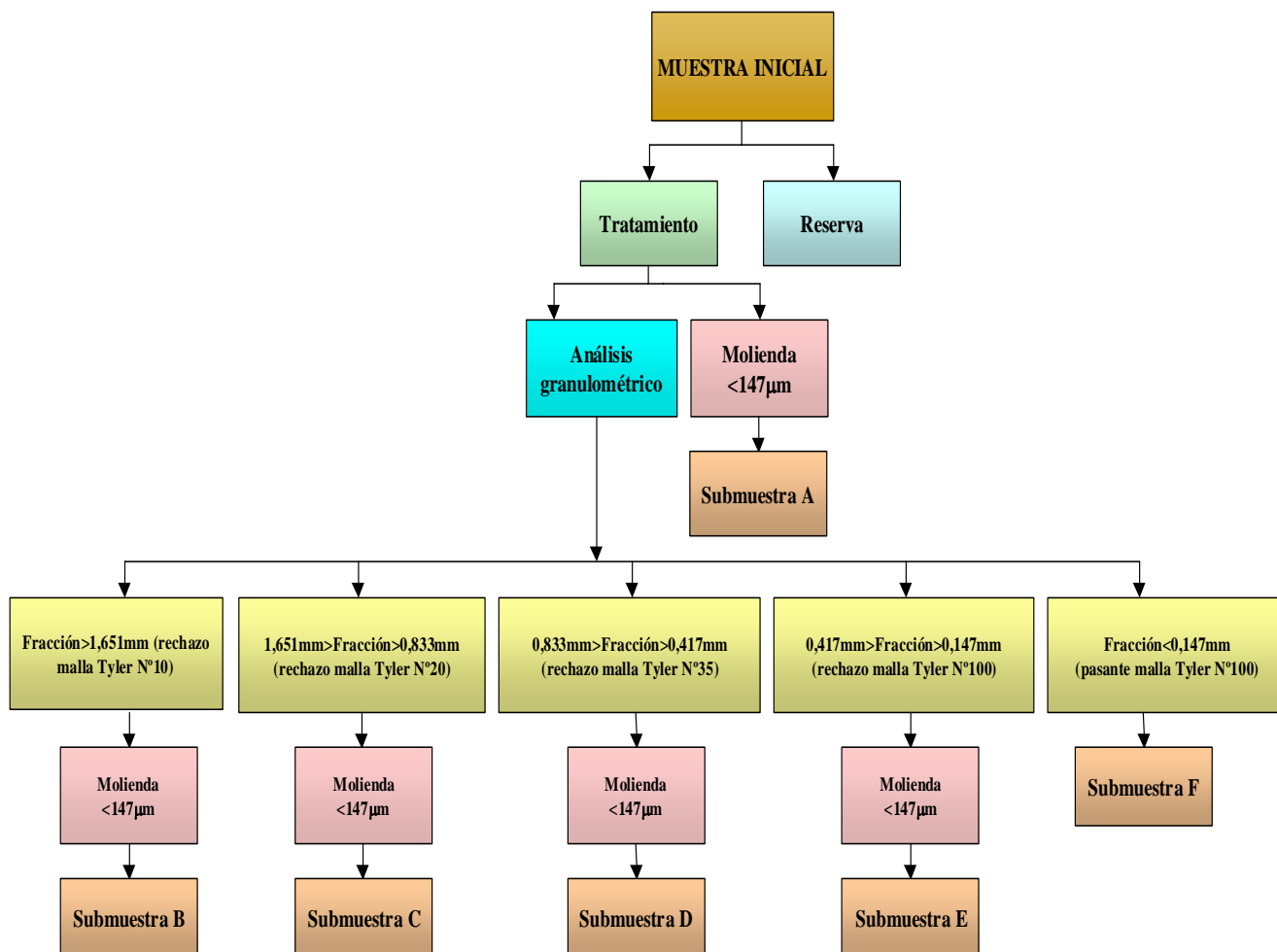


Figura 9.7. Fraccionamiento de las muestras por tamaño de grano.

El fraccionamiento de las muestras se realiza mediante su tamizado y clasificación de acuerdo con los diferentes tamaños de partícula preestablecidos. El tamizado se lleva a cabo empleando mallas Tyler normalizadas de números 10, 20, 35 y 100 (Figura 9.7) Las cinco submuestras resultantes, denominadas de aquí en lo sucesivo como B, C, D, E y F para diferenciar las fracciones de la más gruesa a la más fina, tal y como puede observarse en la figura 9.7, así como las originales, denominadas genéricamente como A se homogeneizan y cuarteán empleando un cuarteador de canales de aluminio, que se limpia entre una muestra y otra empleando un chorro de aire comprimido. De este modo, se obtienen las muestras y submuestras representativas. Finalmente, se pulverizaron tanto las muestras originales como las submuestras hasta obtener un tamaño de grano inferior a 0,147 mm necesario para la realización de las siguientes experiencias.

9.5.3. Caracterización de las muestras

Se realizan *análisis químicos de los mayores y menores constituyentes* de las 3 muestras recogidas y de sus correspondientes fracciones granulométricas. Éstos se llevan a cabo mediante la digestión de las muestras en una mezcla ácida de $\text{HNO}_3/\text{HCl}/\text{HF}$ a 95 °C y su análisis mediante ICP-AES en las condiciones indicadas en la tabla 3.3. Además se lleva a cabo la determinación del pH y la materia orgánica. La *composición mineralógica* de las muestras y sus correspondientes fracciones granulométricas se determinó mediante el análisis de las mismas por Difracción de Rayos X (DRX). Los *análisis micromorfológicos* de ciertas muestras se realizaron mediante Microscopía de Barrido Electrónico.

9.5.4. Aplicación de métodos de extracción secuencial

Se aplican los métodos EPA 3200 [9] y el de extracción secuencial desarrollado en la presente Tesis en las condiciones establecidas para ambos (capítulo 4, apartados 4.3.2.3 y 4.3.2.4), a las muestras originales y sus correspondientes fracciones granulométricas. Todos los ensayos se hicieron por triplicado.

9.6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

9.6.1. Distribución por tamaño de grano en las muestras

El tamizado de las muestras a través de las mallas Tyler, muestra una distribución por tamaño de grano en general bien graduada, tal y como se observa en las curvas correspondientes a cada muestra representadas en la figura 9.8. La mayor proporción de muestra se encuentra principalmente en la fracción de mayor tamaño de grano ($B > 1,651 \text{ mm}$), cuyo porcentaje respecto a la muestra original es en los tres casos superior al 40%.

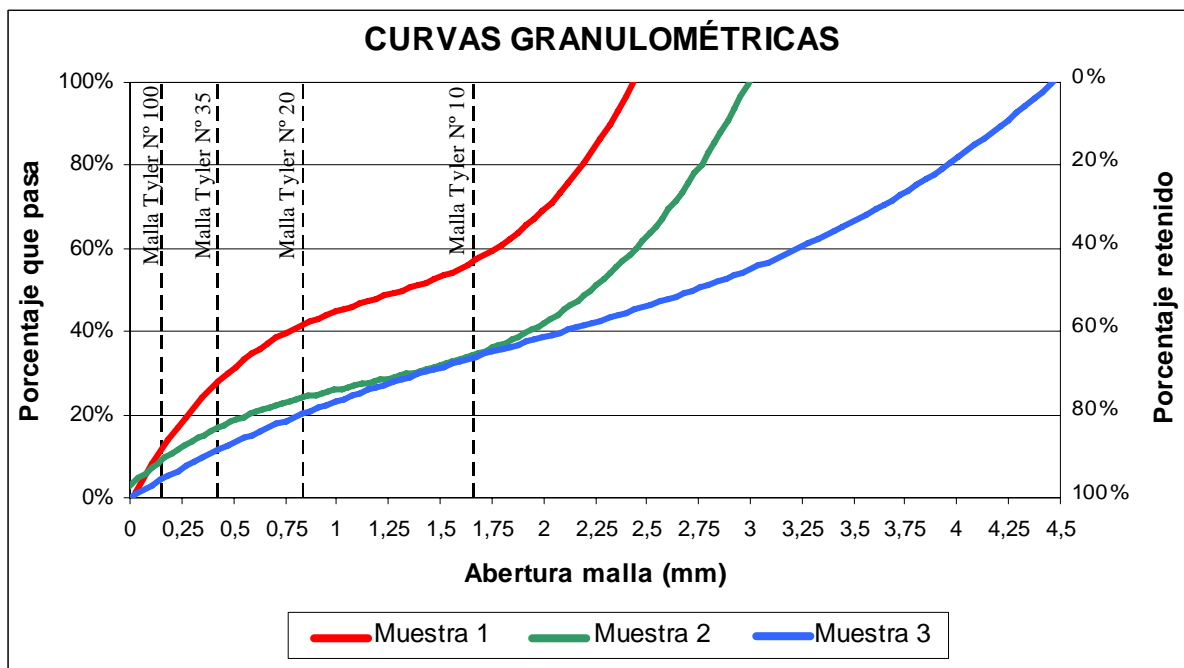


Figura 9.8. Curvas de distribución por tamaño de grano en las tres muestras de suelo.

9.6.2. Caracterización de las muestras

9.6.2.1. Análisis químico

De acuerdo con los resultados del *análisis multielemental* (tabla 9.1), la muestra 1 es radicalmente diferente de las otras dos. Su contenido en mercurio es unas 100 veces mayor que el correspondiente a las muestras 2 y 3. Además presenta elevadas concentraciones de Se, Sb, Bi, Au, etc, que, en principio, no son elementos característicos de suelos naturales. Esto se debe a que la muestra 1 en realidad no corresponde a un verdadero suelo sino a la mezcla de un suelo muy deteriorado, los restos de la chimenea y los residuos procedentes de las operaciones que en ella tuvieron lugar.

Tabla 9.1. Análisis multielemental de las muestras originales y sus fracciones granulométricas

MUESTRAS	Hg	Al	Ca	Fe	K	Na	Mg	P	S	Ag	As	Ba	Bi	Cd	Co	Cr		
	$\mu\text{g g}^{-1}$	%	%	%	%	%	%	%	%	$\mu\text{g g}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$		
1A	10197	1,14	3,55	0,13	0,07	<0,001	0,3	0,112	<0,05	2,3	825,7	226	118	<0,1	<0,1	1,2		
1B	4796	0,48	2,12	0,41	0,18	<0,001	0,01	0,009	1,41	0,2	500,3	67	11,4	<0,1	<0,1	77,1		
1C	8471	0,55	1,15	0,03	<0,01	<0,001	<0,01	0,009	<0,05	<0,1	668	33	53,7	<0,1	<0,1	219,9		
1D	10510	0,58	1,82	<0,01	<0,01	<0,001	<0,01	0,073	<0,05	0,5	786,9	<1	64,3	<0,1	<0,1	373		
1E	23459	0,51	1,54	0,49	<0,01	<0,001	<0,01	<0,001	<0,05	<0,1	1059,2	34	53,8	<0,1	<0,1	259,2		
1F	29304	0,12	3,33	0,03	<0,01	<0,001	<0,01	<0,001	<0,05	1,1	1124,8	6	40,4	17,5	<0,1	310		
2A	101	0,93	0,26	4,41	0,26	0,002	0,07	0,036	<0,05	0,1	617,1	65	1,0	0,1	16,2	62,5		
2B	54	0,55	0,28	4,95	0,15	<0,001	0,06	0,037	0,27	<0,1	566,9	47	0,9	<0,1	16,6	36,1		
2C	155	1,00	0,39	3,89	0,28	0,003	0,09	0,039	0,25	0,1	904,2	96	0,6	0,1	17,2	119,5		
2D	245	1,30	0,48	3,6	0,37	0,005	0,10	0,049	0,10	0,1	1137,8	102	1,2	0,3	19,0	146,9		
2E	225	0,99	0,43	3,08	0,29	0,001	0,10	0,041	0,07	0,1	1121,7	81	0,9	0,2	15,3	190		
2F	325	0,52	0,45	2,92	0,11	<0,001	0,08	0,05	<0,05	0,1	1444,4	73	1,0	0,4	12,4	15,6		
3A	107	1,16	1,20	3,92	0,24	0,002	0,22	0,095	0,24	0,1	573,9	133	0,8	0,4	24,4	46,7		
3B	110	1,07	1,19	4,26	0,23	<0,001	0,23	0,088	0,23	<0,1	557,9	114	0,7	0,4	24,3	44,1		
3C	134	1,17	1,32	3,75	0,26	0,005	0,27	0,102	0,10	0,1	636,7	137	0,6	0,6	27,8	68,7		
3D	131	1,49	1,42	3,85	0,32	0,013	0,33	0,117	0,38	0,2	696	148	0,6	0,7	34,5	119,4		
3E	144	1,58	1,28	3,69	0,32	0,001	0,32	0,108	0,18	0,1	698,8	154	0,6	0,4	32,8	129,5		
3F	159	0,99	1,18	3,45	0,15	<0,001	0,24	0,104	0,18	0,2	738,5	133	0,8	0,4	31,3	26		
MUESTRAS	Cu	Ga	La	Mn	Mo	Ni	Pb	Sb	Sc	Se	Sr	Th	Tl	U	V	W	Zn	Au
	$\mu\text{g g}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$
1A	<0,1	15	<1	<1	7,4	<0,1	79	18,1	76	139	120	<0,1	8,5	1,9	11	<0,1	404	754,7
1B	<0,1	2	<1	20	3,0	<0,1	21	8,3	<0,1	11	86	0,9	0,1	0,5	7,0	0,8	24	84,9
1C	<0,1	15	<1	<1	14,7	<0,1	<0,1	12,7	<0,1	116	45	0,4	<0,1	4,2	8,0	0,6	455	561,9
1D	<0,1	19	<1	<1	18,9	<0,1	29	25,6	10	<0,5	48	<0,1	<0,1	2,0	8,0	<0,1	<1	97,1
1E	<0,1	<1	<1	<1	23,2	<0,1	19	49,5	<0,1	225	91	<0,1	<0,1	1,0	8,0	13	266	10,6
1F	<0,1	7	<1	<1	7,6	<0,1	21	38,5	<0,1	191	79	<0,1	<0,1	1,1	4,0	<0,1	101	287,8
2A	30,5	3	7	425	1,4	38,8	24,4	0,9	4,9	2,1	27	4,5	0,1	0,7	33	0,3	69	2,7
2B	33,6	1	8	462	1,2	33,5	21,6	0,6	5,6	3,5	26	4,6	<0,1	0,9	30	<0,1	67	6,3
2C	35,6	3	7	635	1,5	36,2	37,7	1,6	5,0	1,8	33	3,8	0,1	0,8	34	0,2	77	<0,5
2D	38,1	4	9	750	2,5	30,4	48,5	2,0	4,4	1,1	51	4,1	0,2	0,7	38	0,7	96	<0,5
2E	31,3	3	8	677	1,8	24,5	46,5	1,7	3,5	<0,5	36	3,0	0,1	0,8	31	0,4	86	8,4
2F	28,4	2	7	646	1,0	24,2	57,9	1,9	3,0	0,9	30	2,4	0,1	0,7	24	0,3	93	<0,5
3A	43,5	3	12	1295	1,5	48,2	60	1,3	5,4	1,0	73	4,8	0,1	1,0	34	0,3	172	5,7
3B	43,6	3	12	1170	2,2	60,4	46,7	1,3	5,6	1,2	74	4,3	0,1	1,1	35	0,1	157	0,7
3C	51,2	3	12	1420	1,8	56,2	86	1,4	5,4	<0,5	76	3,6	0,1	1,3	35	0,4	217	1,7
3D	59	4	14	1660	1,6	63,8	83,9	1,9	5,8	2,3	86	4,4	0,1	1,2	38	0,4	265	<0,5
3E	54,7	4	13	1690	1,9	58,7	78,5	1,5	5,3	<0,5	76	3,9	0,1	1,0	39	0,3	228	5,0
3F	52,1	3	11	1562	1,4	51,5	75,6	2,2	4,6	<0,5	59	3,5	0,1	1,2	31	0,2	229	1,2

La muestra 1 presenta un mayor contenido en Ca, tanto en la muestra original como en las submuestras granulométricas. Esta elevada concentración en Ca puede proceder del desgaste y erosión del propio material de la chimenea, que como ya se indicó anteriormente, se encuentra rota en distintos puntos (ver figura 5). Por su parte las muestras 2 y 3, que sí corresponden a auténticos suelos bien desarrollados presentan contenidos en Fe, K, Mn, Co, Ni, Cu y V significativamente mayores a los encontrados en la muestra 1. El tratamiento estadístico de los resultados revela una relación entre los elementos Hg, Sb, Mo y As, mientras que otros elementos como Ca, Mg, o Na, K y Al, que suelen estar relacionados de forma natural, lo están aquí también.

La distribución de las fracciones granulométricas se representa en la figura 9.9, indicando también el porcentaje que representa el contenido de *materia orgánica* en cada una de las fracciones granulométricas, así como en las muestras originales.

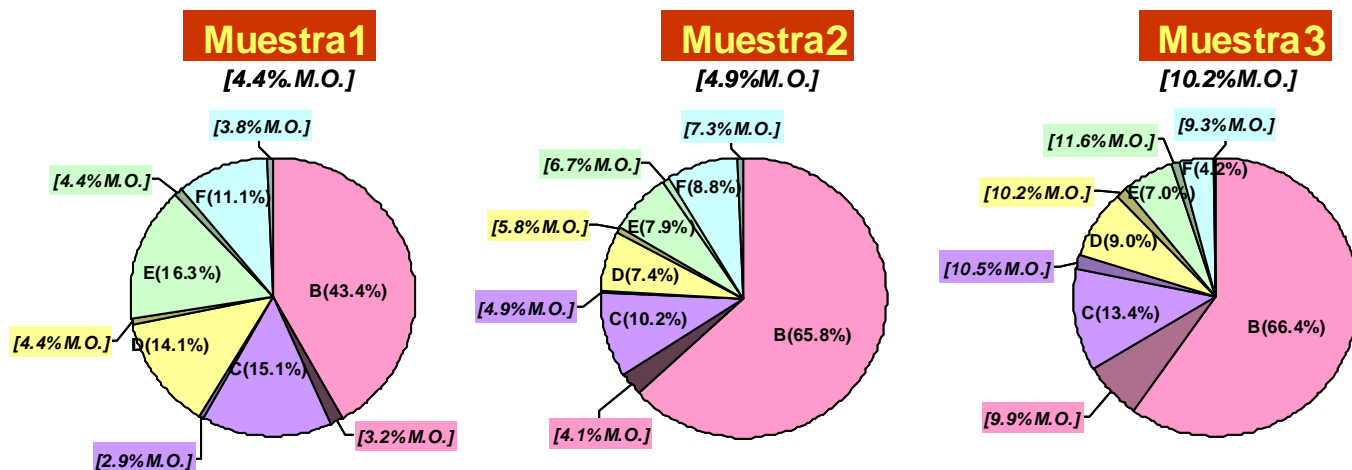


Figura 9.9. Contenido en materia orgánica y su distribución en las diferentes fracciones granulométricas.

Como se puede observar, las muestras 1 y 2 presentan contenidos globales en materia orgánica similares (4,4% y 4,9% respectivamente), mientras que la muestra 3 presenta un contenido claramente mayor (10,2%). Además, este parámetro está asociado a elementos como P, Mg, Al y algunos metales pesados. Respecto a la concentración de materia orgánica en las fracciones granulométricas, en general ésta se distribuye de manera más o menos uniforme en todas las fracciones, especialmente en las muestras 1 y 3, mientras que en la muestra 2, la concentración de materia orgánica se incrementa al disminuir en tamaño de grano.

La baja concentración de materia orgánica en la muestra 1 puede explicarse, atendiendo al hecho ya comentado anteriormente, de que no se trata de un suelo bien desarrollado sino de una mezcla de suelo reciente, escombros y residuos. En cuanto a la muestra 2, que sí corresponde a un suelo bien desarrollado, la explicación a su bajo contenido en materia orgánica puede encontrarse en que esta muestra se encuentra aguas abajo de la chimenea, en una cota algo inferior, y por tanto está expuesta a la deposición y a la acción de materiales procedentes de ésta por agua de lluvia y otros agentes atmosféricos. Por su parte la muestra 3, recogida aguas arriba, estará menos afectada por la acción de los materiales procedentes de la chimenea, lo cual explicaría su mayor

contenido en materia orgánica. Estas hipótesis parecen avaladas por los resultados de la determinación de *pH* realizados a las muestras originales (A) y a sus correspondientes subfracciones (B-F) y que se representan en la figura 9.10. La muestra 1 es la que presenta una mayor acidez ($pH = 4,51$) mientras que la 3 es la más alcalina ($pH = 6,3$) y la muestra 2 presenta un valor intermedio ($pH = 5,61$). Estos valores explican por un menor deterioro del suelo en el punto 3 de muestreo, al no estar sometido a los lixiviados ácidos procedentes del material de la chimenea, que sí afectan de forma más importante en el punto 2, situado aguas abajo de la misma, y sobre todo en el punto 1, situado directamente junto a la chimenea. Por añadidura, los resultados de *pH* y materia orgánica presentan una buena correlación entre ellos ($r = 0,746$). También es posible observar una correlación positiva entre el *pH* y el Fe, lo cual es lógico ya que la precipitación de este metal está claramente asociada al aumento del *pH*.

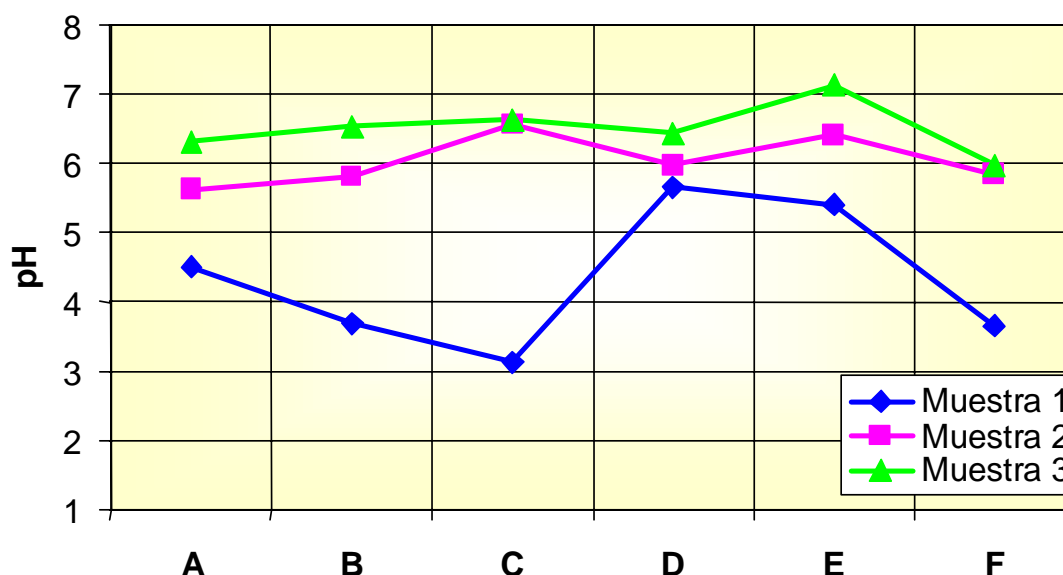


Figura 9.10. Valores de *pH* en muestras originales (A) y sus correspondientes fracciones granulométricas (B-F).

En cuanto a la distribución de valores de *pH* en las diferentes fracciones granulométricas de las muestras estudiadas, en la figura puede observarse una distribución más uniforme para las muestras 2 y 3, es decir, aquellas que corresponden a verdaderos suelos. Sin embargo en la muestra 1, de origen principalmente antropogénico, los valores de *pH* menores corresponden a las fracciones más gruesas, que precisamente son las que representan un mayor porcentaje de la muestra.

9.6.2.2. Análisis mineralógicos

Los resultados del análisis multielemental son concordantes con aquellos obtenidos en el análisis mineralógico mediante DRX para las muestras y sus fracciones granulométricas (Figura 9.11) y muestran claramente la diferente naturaleza de la muestra 1 respecto a las otras dos. De modo esquemático podemos comentar estos resultados de la siguiente forma:

- La muestra 1 y sus submuestras (1A, 1B, 1C, 1D, 1E, 1F) presentan cuarzo, moscovita y yeso, como minerales mayoritarios y diquita y rutilo como constituyentes minoritarios
- En la muestra 2 y sus submuestras (2A, 2B, 2C, 2D, 2E, 2F) aparecen cuarzo y moscovita como minerales mayoritarios y diquita, rutilo y goetita como minerales minoritarios.
- La muestra 3 y sus submuestras (3A, 3B, 3C, 3D, 3E, 3F) presentan cuarzo, moscovita y diquita como constituyentes mayoritarios y calcita, rutilo y goetita como constituyentes minoritarios.
- No se observan grandes diferencias entre las muestras originales y sus correspondientes submuestras.
- La muestra 3 presenta un mayor contenido en carbonatos, indicativos de un suelo más alcalino y más reactivo frente a lixiviaciones ácidas.
- Las muestras 2 y 3 y sus submuestras contienen cantidades importantes de goetita, mientras que la muestra 1, de diferente naturaleza, presenta abundancia de sulfatos de Na y Ca (yeso). El yeso presente en esta muestra puede provenir de la reacción del SO₂ formado en la tostación de los sulfuros (HgS y otros presentes) con calcio procedente de otros minerales e incluso de la propia estructura de la chimenea.

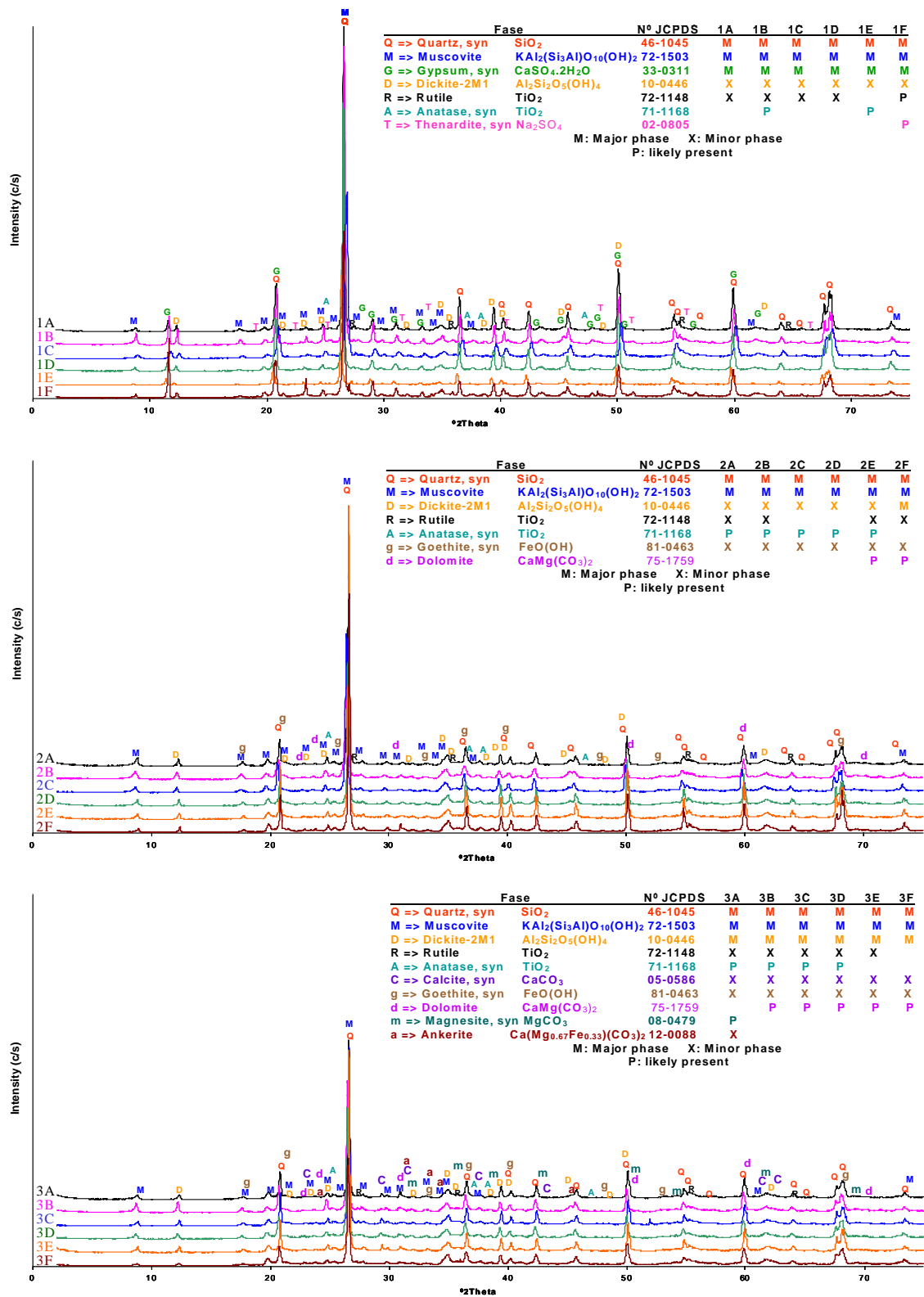


Figura 9.11. Difractogramas de rayos X de las muestras originales y sus fracciones granulométricas.

9.6.3. Contenido en mercurio total en las muestras originales

Los resultados de la medida de mercurio total en los puntos seleccionados para el muestreo se resumen en la tabla 9.2. Como puede verse la concentración de mercurio disminuye con la distancia a la chimenea. La muestra 1, tomada en el punto más cercano a la misma, presenta un contenido de mercurio muy importante (del orden del 1% en peso). Su cercanía a la fuente de contaminación explica su elevada concentración. La aparición de gotas de mercurio nativo en el punto de muestreo parece avalar esta hipótesis. Por su parte las muestras 2 y 3, tomadas en puntos más alejados a la chimenea presentan un contenido en mercurio similar entre sí y mucho menor al correspondiente a la muestra 1, lo cual supone que, al menos, en las inmediaciones de la chimenea, la deposición de material procedente de la misma no está influenciada de manera importante por las direcciones preferentes de los vientos. Por otro lado, las diferencias de cota a la cual fueron tomadas las muestras son pequeñas lo cual no nos permite establecer relaciones entre la dispersión del mercurio y la altura de los puntos de muestreo.

Tabla 9.2. Determinación de mercurio total (concentración \pm 3 veces la desviación estándar) en las muestras originales

Muestra	Hg ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Distancia a la chimenea (m)	Altura (m)
1A	10197 ± 319^a	0	234
2A	101 ± 9.67	30	231
3A	107 ± 2.32	20	234

9.6.4. Distribución del mercurio entre las diferentes fracciones granulométricas

En la figura 9.12 se muestran los resultados de la determinación de mercurio total en las fracciones granulométricas obtenidas en los tres puntos de muestreo, comparándolas con el contenido total de mercurio en su correspondiente muestra original.

En general, los resultados obtenidos muestran un incremento de la concentración de mercurio al disminuir el tamaño de grano para los tres puntos seleccionados. Esta tendencia es muy acusada en el caso de las muestras 1 y 2, en las cuales se observa una importante acumulación del mercurio en la fracción más fina ($F < 0,147$ mm), cuya concentración es unas 6 veces mayor que la correspondiente para la fracción más gruesa

(B>1,651 mm) y unas 3 veces mayor que la concentración de su correspondiente muestra original (A). Las posibles causas de este enriquecimiento de Hg hacia las fracciones de menor tamaño de grano pueden ser, por un lado, la condensación y deposición atmosférica en los suelos del material liberado desde la fuente (chimenea) en forma de vapor de mercurio elemental y principalmente como mercurio particulado. Éstos pueden ser adsorbidos posteriormente en los minerales arcillosos que forman las fracciones más finas de la muestra. Otra posible causa puede ser la fractura de los cristales de cinabrio que pueda haber presentes debido a la cercanía de la mina, los cuales debido a su fragilidad son propensos a la rotura en partículas más pequeñas, no sólo por procesos naturales, sino también como consecuencia de los procesos transporte, manipulación y segregación de las muestras que son ajenos a la evolución natural de las mismas.

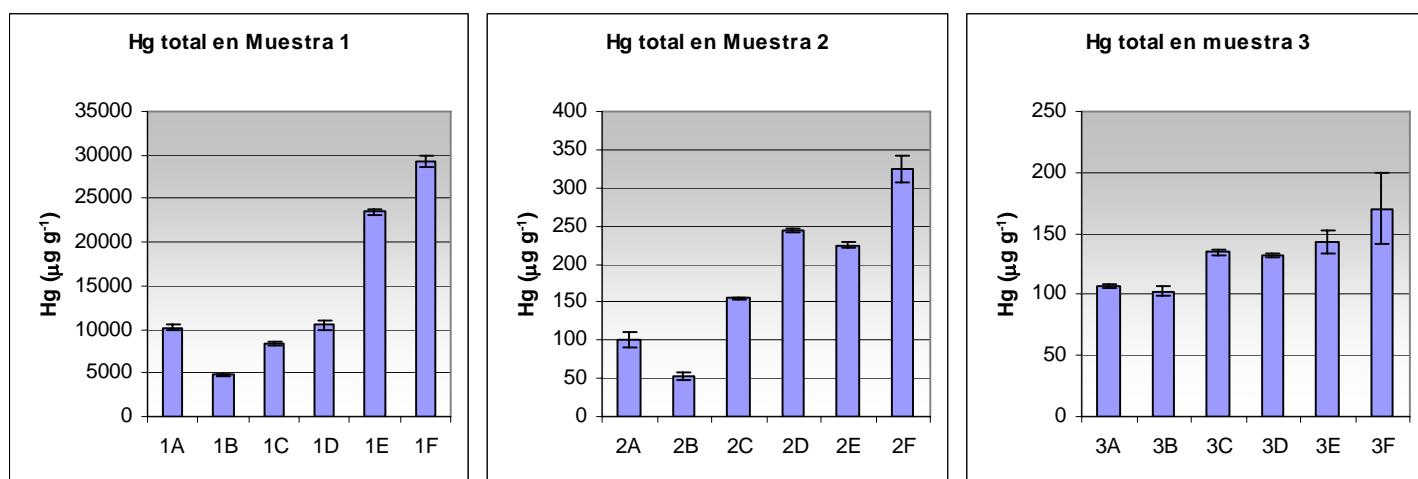


Figura 9.12. Contenido total de mercurio en las diferentes fracciones granulométricas (B-F).

La muestra 3 presenta un comportamiento diferente a las otras dos. En ésta ya no se observa una tendencia tan marcada a la acumulación de mercurio en las fracciones más finas sino que, por el contrario, el enriquecimiento que se produce es mucho más suave y gradual, como se puede constatar por el hecho de que la fracción más fina (F<0,147 mm) es sólo 1.5 veces más concentrada que la más gruesa (B>1,651 mm). Por tanto, para esta muestra, el contenido de mercurio es menos sensible al tamaño de partícula y presenta una distribución de la concentración más uniforme entre las distintas fracciones granulométricas.

9.6.5. Estudio de la movilidad del mercurio

9.6.5.1. Aplicación del método EPA 3200

9.6.5.1.1. Muestras originales

Los resultados obtenidos de la aplicación del método de extracción secuencial a las muestras originales se muestran en la figura 9.13.

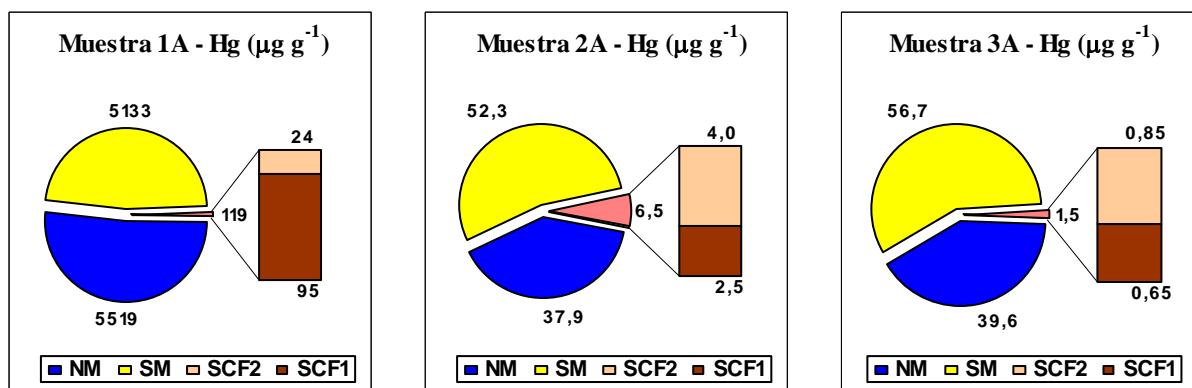


Figura 9.13. Distribución de mercurio en las muestras originales (A), en Hg no móvil (NM), Hg semimóvil (SM), Hg móvil inorgánico (SCF2) y Hg móvil orgánico (SCF1)

La muestra 1A, la más cercana a la chimenea, presenta una distribución similar del mercurio entre las fracciones SM y NM, siendo el porcentaje de mercurio cercano al 50% para ambas fracciones. De acuerdo con el método de extracción empleado, es predecible que el mercurio recuperado en la fracción No Móvil corresponda de forma mayoritaria a cinabrio (HgS), lo cual parece lógico teniendo en cuenta la extrema insolubilidad de esta especie y que se trata de suelos procedentes de un área minera de este mineral. También es posible que las especies de mercurio extraídas en esta fracción correspondan a aquellas ocluidas en las redes cristalinas de los silicatos presentes en las muestras, y que sólo podrán ser lixiviadas en condiciones muy enérgicas como las empleadas en la etapa de extracción No Móvil. Para confirmar estas hipótesis, se analizó la muestra 1A mediante microscopía electrónica de barrido. Las observaciones revelaron la presencia de pequeñas partículas de silicatos ($< 10 \mu\text{m}$) con elevadas concentraciones en mercurio y otros elementos como As, las cuales proceden probablemente de la combustión del mineral de mercurio en el horno.

La concentración de “mercurio semimóvil” es también muy importante y puede atribuirse, teniendo en cuenta la distribución de especies dada en el método empleado, a la extracción del mercurio nativo presente en la muestra y que abunda en este punto de

muestreo, siendo visible tanto a escala macroscópica como microscópica (ver figura 9.14). La elevada concentración de mercurio semimóvil en esta muestra ($5133 \mu\text{g g}^{-1}$) no puede explicarse únicamente por la condensación de vapores de mercurio elemental procedentes de la chimenea, sino que también ha de atribuirse a la deposición de mercurio en forma particulada, también generado en el proceso metalúrgico y posiblemente lixiviado en esta etapa.

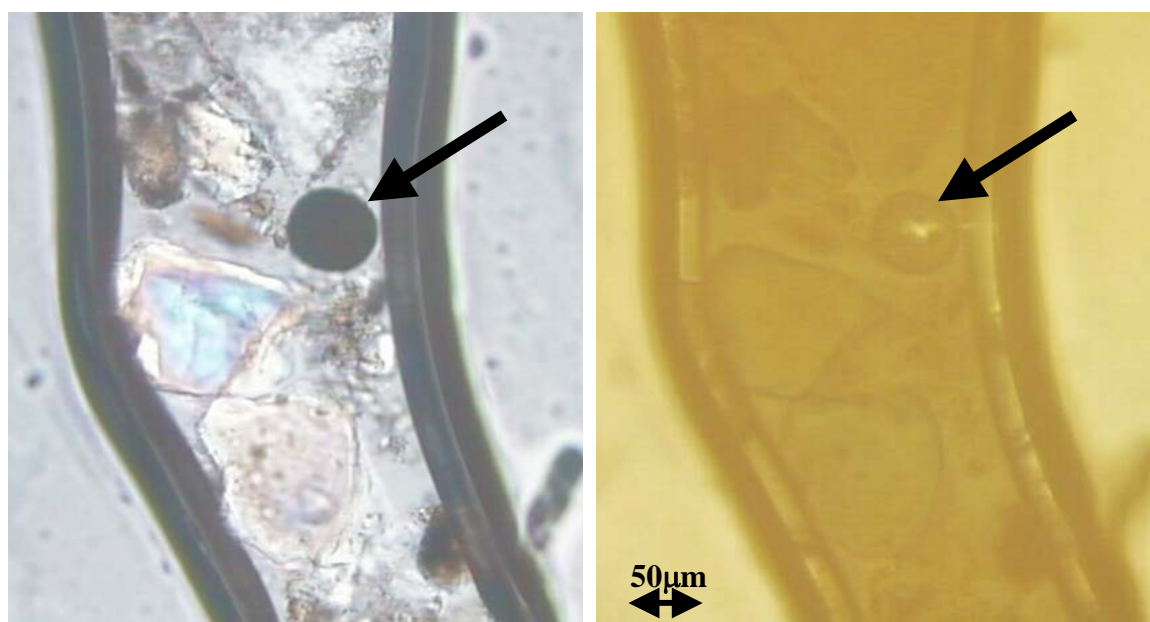


Figura 9.14. Mercurio nativo observado en la muestra 1A bajo microscopía óptica con aceite de inmersión, empleando luz transmitida (izquierda) y reflejada (derecha).

Por otra parte, con respecto al mercurio recuperado en la fracción Móvil debemos tener en cuenta que de acuerdo con el método EPA 3200 el contenido de mercurio lixiviado en esta etapa corresponderá a la fracción más movilizable del mismo. Así, pese a suponer sólo un 1,1% del mercurio total presente en la muestra, dada la elevadísima concentración de esta ($10200 \mu\text{g g}^{-1}$), cuantitativamente representa una concentración relativamente importante de unos $120 \mu\text{g g}^{-1}$. Más aún, los resultados del subfraccionamiento mediante el procedimiento de extracción en fase sólida muestran que el Hg Móvil se encuentra mayoritariamente distribuido en la subfracción SCF1, que de acuerdo con el método empleado, corresponderá a las especies orgánicas y por tanto más tóxicas y biodisponibles de mercurio, tales como el metilmercurio.

En las muestras 2A y 3A, el mayor porcentaje de mercurio recuperado corresponde a la fracción Semimóvil, encontrándose en ésta alrededor del 52-56 % del mercurio total, mientras que la recuperación en la fracción No Móvil es algo inferior al 40 %. El elevado contenido en Hg SM puede ser debido a la deposición del mercurio en forma de HgO, Hg⁰ y Hg particulado en el área circundante a la fuente (chimenea). Estas especies, según el método de extracción EPA 3200, serán lixiviadas preferentemente en la fracción Semimóvil. Además estas muestras, en contraste con la 1A, presentan elevados contenidos en Fe y Mn, presumiblemente presentes en forma de óxidos y oxihidróxidos, los cuales actúan como adsorbentes de especies de mercurio y se lixivian preferentemente en la etapa Semimóvil. El mayor contenido porcentual en Hg SM respecto al obtenido para la muestra 1A, indica también una mayor movilidad del mercurio en estas muestras.

Por otro lado, respecto al contenido en Hg M, ambas muestras (2A y 3A) presentan un comportamiento bien diferenciado. Mientras la muestra 2A presenta un contenido de Hg M apreciable de 6,5 % del mercurio total, la muestra 3A presenta un contenido de sólo un 1,4 %. La razón para el mayor porcentaje de “mercurio móvil” encontrado en la muestra 2A podemos hallarla en que esta muestra fue recogida aguas abajo de la chimenea y por tanto es de suponer que ha sufrido una mayor alteración debido a los procesos de drenaje procedentes de la misma. Como consecuencia de los procesos de calcinación del cinabrio en el horno de tostación, la dispersión del SO₂ generado pudo dar lugar a la deposición ácida en los suelos circundantes en forma de lluvia. Esta deposición ácida afectará de forma más importante a los suelos situados aguas abajo, produciendo la destrucción de la materia orgánica y una disolución parcial de los elementos asociados, lo cual a su vez, provocaría una movilización parcial del mercurio presente en el suelo, lo que explicaría el mayor contenido de mercurio móvil en la muestra 2A. La muestra 3A, situada aguas arriba de la chimenea, estaría menos afectada por la deposición ácida y el grado de movilización de Hg sería por tanto menor, lo cual es coherente con la mayor concentración de materia orgánica y mayor alcalinidad encontradas en esta muestra. En ambos casos, la subespeciación realizada mediante el método de extracción en fase sólida demostró que el posible contenido de mercurio orgánico (subfracción SCF1), 2,5 y 0,7 µg g⁻¹ respectivamente, era poco relevante con respecto a la muestra 1, y la mayor parte del mercurio movilizado se distribuye en la

fracción SCF2 que corresponde, según el método EPA 3200, a las especies móviles inorgánicas de mercurio. Esto significa que, si bien el mercurio es movilizado, en su dispersión a través de la fuente de contaminación, no hay evidencias de que se produzcan procesos de metilación en grado importante en estos suelos.

9.6.5.1.2. Fracciones granulométricas

De acuerdo con el procedimiento de muestreo, este estudio se efectúa para tres áreas representativas de interés.

Residuos de combustión del mineral en chimenea: La muestra 1 corresponde a esta área y en la figura 9.15 se representa la concentración de mercurio para cada fracción granulométrica (altura de la barra) en relación con la proporción de dicha fracción con respecto al total de la muestra (anchura de la barra). Por tanto, en esta gráfica y las correspondientes obtenidas para las demás muestras el contenido de mercurio total en cada subfracción granulométrica viene dado por el área de cada barra. Este contenido, a su vez, se subdivide según su movilidad, en las diferentes fracciones operacionalmente definidas en el método EPA 3200, y los resultados se representan con diferentes colores en cada barra.

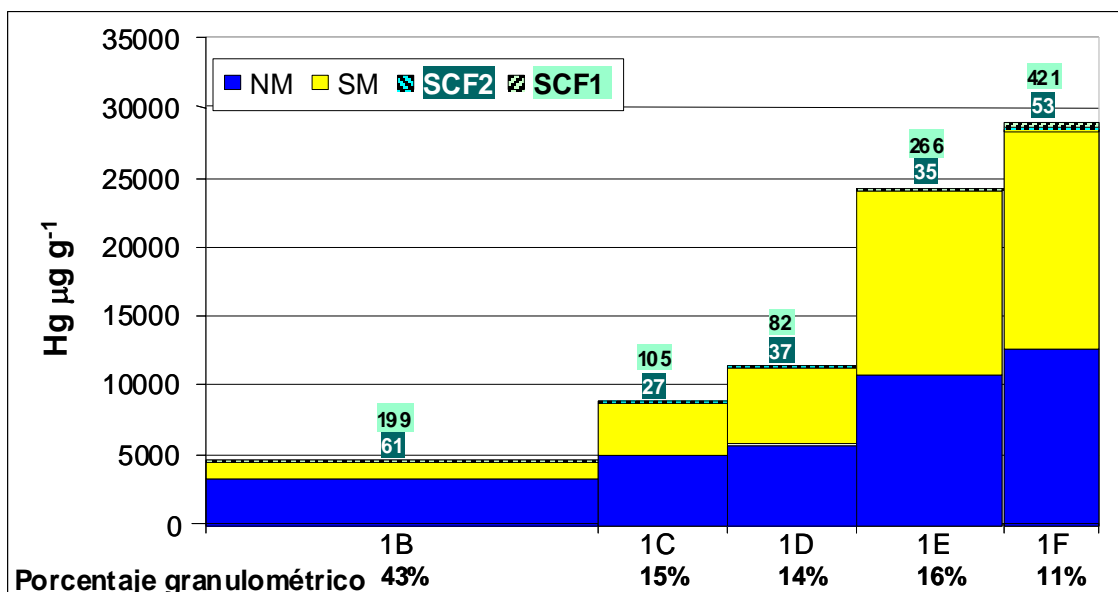


Figura 9.15. Distribución del mercurio en las distintas fracciones granulométricas obtenidas de la muestra 1 en Hg no móvil (NM), Hg semimóvil (SM), Hg móvil inorgánico (SCF2) y Hg móvil orgánico (SCF1).

A partir de ellos se observa que la submuestra más gruesa (1B), a pesar de ser la menos concentrada (ver figura 9.15), presenta un contenido en mercurio muy considerable debido a que esta submuestra es la más abundante. En esta submuestra el mercurio se lixivia principalmente en la fracción No Móvil que representa alrededor del 70 % del mercurio recuperado en esta submuestra. Presenta un contenido apreciable de Hg Móvil, distribuido principalmente en la subfracción SCF1 que como hemos dicho anteriormente corresponde, al contenido en mercurio orgánico en la muestra.

Las fracciones de tamaño de grano intermedias (1B y 1C) son las que menor cantidad de mercurio acumulan. En éstas el mercurio está equitativamente distribuido entre las fracciones Semimóvil y No Móvil. Por su parte, la concentración de Hg Móvil no representa más del 2 % del mercurio total en ambas.

Las fracciones más finas (1E y 1F) son las de mayor concentración de mercurio. La proporción de Hg Móvil, al igual que ocurre en las fracciones de tamaño de grano intermedio, es muy pequeña. Sin embargo, en éstas el porcentaje de Hg SM es significativamente mayor que el de Hg NM y por tanto debemos concluir que en estas subfracciones el mercurio se encuentra más disponible que en aquellas más gruesas.

Suelos aguas abajo: Los resultados del estudio de movilidad del mercurio en la muestra 2, representativa de estos suelos, se resumen en la figura 9.16.

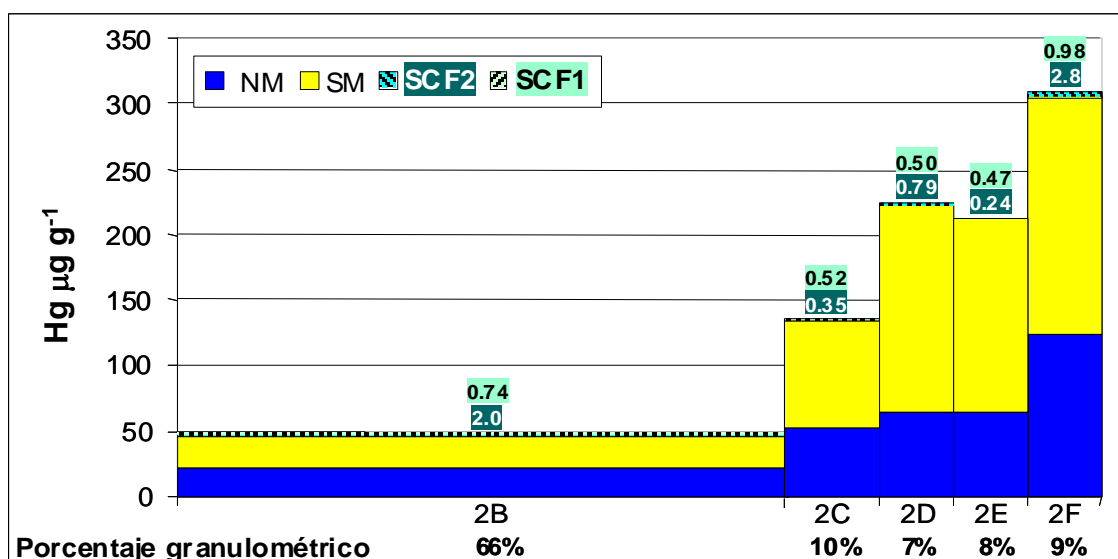


Figura 9.16. Distribución del mercurio en las distintas fracciones granulométricas obtenidas de la muestra 2 en Hg no móvil (NM), Hg semimóvil (SM), Hg móvil inorgánico (SCF2) y Hg móvil orgánico (SCF1).

Como puede observarse en la figura, el contenido de mercurio en la submuestra más gruesa (2B) es algo mayor que para el resto de submuestras más finas. Presenta, al igual que sucede con su correspondiente muestra original, un contenido apreciable de Hg Móvil distribuido principalmente en la subfracción SCF2 que corresponde al contenido en mercurio móvil inorgánico.

Las submuestras de tamaño de grano intermedio (2C, 2D y 2E) presentan una distribución de mercurio similar, con un contenido en Hg Móvil inferior al 1 % para todas ellas, y con el mayor porcentaje de mercurio recuperado en la etapa Semimóvil.

La fracción granulométrica más fina (2F) acumula un contenido de mercurio muy apreciable, sólo ligeramente inferior al de la fracción más gruesa (2B). Presenta un porcentaje apreciable de Hg Móvil (3,8 %) distribuido principalmente en la fracción SCF2, al igual que ocurre en la submuestra 2B. El resto del mercurio sigue el mismo comportamiento que las fracciones de tamaño de grano intermedio correspondiendo el mayor porcentaje de recuperación a la etapa Semimóvil y por tanto, en estas submuestras el mercurio muestra una mayor movilidad que para la submuestra más gruesa.

Suelos aguas arriba: Los resultados del estudio de la movilidad del mercurio en la muestra 3, representativa de estos suelos, se muestran en la figura 9.17.

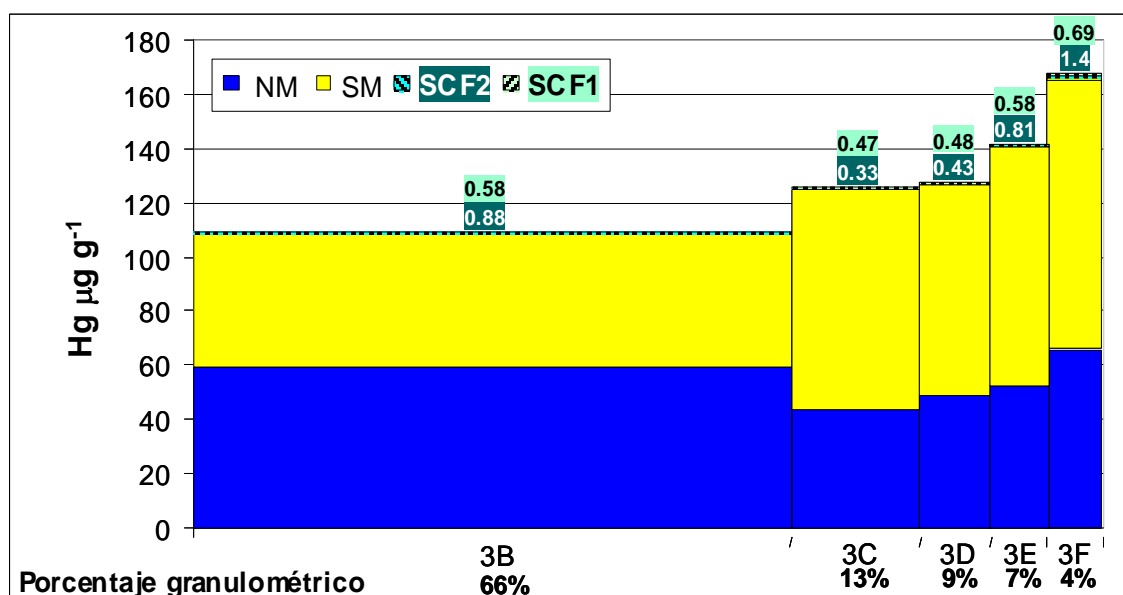


Figura 9.17. Distribución del mercurio en las distintas fracciones granulométricas obtenidas de la muestra 3 en Hg no móvil (NM), Hg semimóvil (SM), Hg móvil inorgánico (SCF2) y Hg móvil orgánico (SCF1).

Como puede verse en la figura, el contenido en mercurio disminuye al decrecer el tamaño de grano. Ninguna de las submuestras presenta un contenido en Hg Móvil superior al 2 % del mercurio total de cada submuestra. La fracción granulométrica más gruesa (3B) acumula claramente el mayor contenido de mercurio, siendo éste lixiviado principalmente en la fracción No Móvil. La distribución de mercurio entre las distintas fracciones derivadas de la aplicación del método de extracción secuencial es similar para el resto de submuestras (3C-3F). En todas ellas, la mayor cantidad de mercurio se lixivia en la etapa Semimóvil, la cual representa aproximadamente el 60 % del mercurio total para cada submuestra. Por el contrario, la fracción No Móvil representa sólo alrededor de un 35 % del mercurio total de cada submuestra. Por tanto, al igual que ocurre con las muestras 1 y 2, la movilidad del mercurio es mayor en las fracciones granulométricas más finas que en las más gruesas.

De los resultados obtenidos se desprende que, en general, el contenido en la fracción Hg SM aumenta al disminuir el tamaño de partícula. En la muestra 1, de naturaleza diferente a las otras dos, esta tendencia puede explicarse debido al hecho de que el mercurio extraído en esa fracción corresponde a mercurio nativo y mercurio particulado

generado en los procesos de tostación. Estas dos formas de mercurio son adsorbidas preferentemente en los minerales arcillosos más finos y que, como consecuencia, presentan una mayor área superficial. En las muestras 2 y 3, además de esta causa, debemos tener en cuenta el elevado contenido en Fe y Mn que presentan estas muestras. Estos metales se encontrarán en forma de óxidos y oxihidróxidos, adsorbiendo de manera efectiva las especies de mercurio, que se lixivian en la etapa Semimóvil. Si bien el contenido en Fe es similar en todas las fracciones granulométricas, en el caso del Mn la concentración aumenta al disminuir el tamaño de grano, obteniéndose una correlación positiva entre el contenido de mercurio en la fracción Semimóvil y la concentración de Mn, con unos coeficientes de correlación $r = 0,908$ para la muestra 2, y $r = 0,836$ para la muestra 3.

9.6.5.2. Aplicación del método de extracción secuencial propio

9.6.5.2.1. Muestras originales

En las figuras 9.18, 9.19 y 9.20 se muestran los resultados de la aplicación del método propio de extracción secuencial a las muestras originales 1A, 2A y 3A respectivamente.

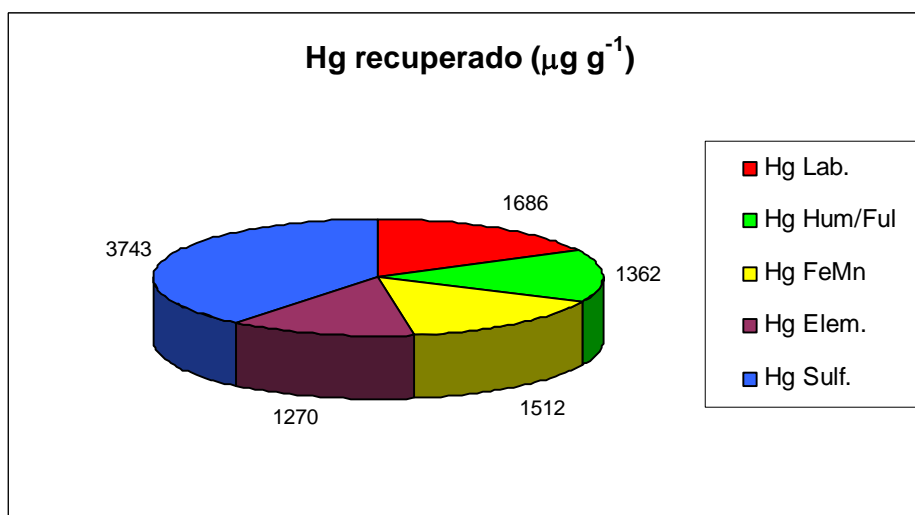


Figura 9.18. Distribución del Hg en la muestra 1A en las fracciones de especies lábiles de Hg (Hg Lab.), asociado a ácidos húmicos y fúlvicos (Hg Hum/Ful), asociado a oxihidróxidos amorfos de Fe y Mn (Hg FeMn), Hg elemental (Hg Elem.) y asociado a sulfuro (Hg Sulf.)

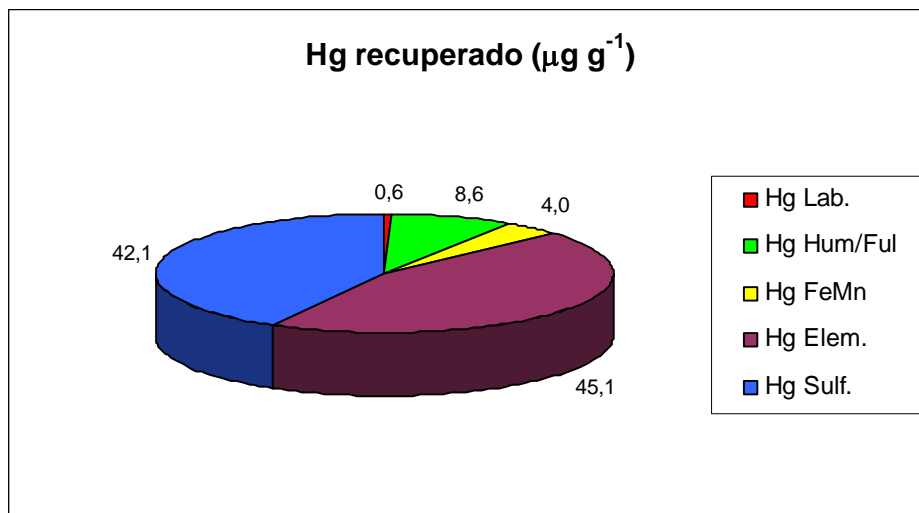


Figura 9.19. Distribución del Hg en el punto 2 en las fracciones de especies lábiles de Hg (Hg Lab.), asociado a ácidos húmicos y fúlvicos (Hg Hum/Ful), asociado a oxihidróxidos amorfos de Fe y Mn (Hg FeMn), Hg elemental (Hg Elem.) y asociado a sulfuro (Hg Sulf.)

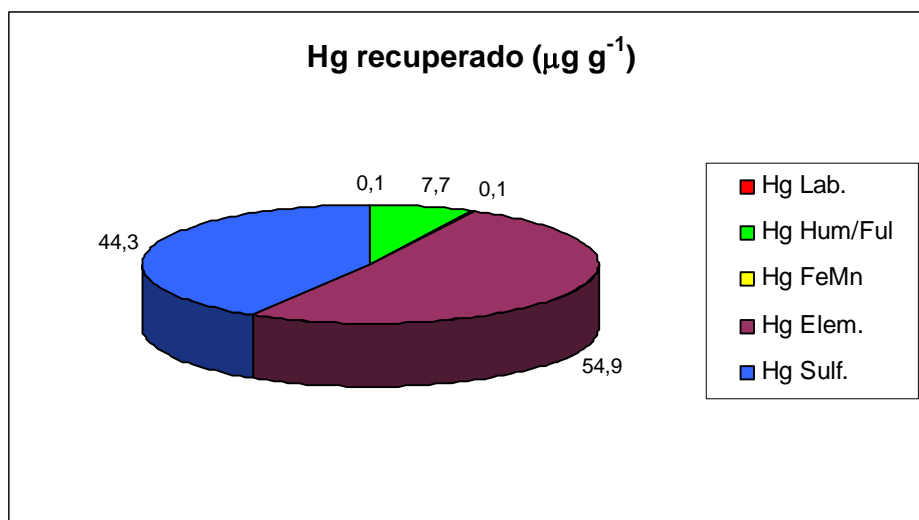


Figura 9.20. Distribución del Hg en el punto 3 en las fracciones de especies lábiles de Hg (Hg Lab.), asociado a ácidos húmicos y fúlvicos (Hg Hum/Ful), asociado a oxihidróxidos amorfos de Fe y Mn (Hg FeMn), Hg elemental (Hg Elem.) y asociado a sulfuro (Hg Sulf.)

Punto 1:

Según los resultados obtenidos, el Hg en esta muestra aparece en concentraciones significativas en cada una de las fracciones operacionalmente definidas, siendo el menor porcentaje recuperado de un 12,5% con respecto al Hg total correspondiente a la fracción de Hg elemental.

El contenido en Hg lábil es muy elevado ($1686 \mu\text{g g}^{-1}$), suponiendo un 16,5% del Hg total. Esta fracción corresponde a las especies de Hg más móviles, solubles en HNO_3 0,2N como son el HgCl_2 , HgNO_3 , HgO , HgSO_4 y oxiclорuros. La recuperación de Hg tan alta en esta fracción hace suponer la presencia de especies altamente móviles y por tanto biodisponibles en esta muestra que, como se ha mencionado anteriormente, no corresponde a un auténtico suelo sino a una mezcla de residuos procedentes de la tostación del mineral y restos de la chimenea. Algunos autores han señalado la presencia de especies altamente reactivas de Hg, tales como Hg_2ClO y $\text{Hg}_4\text{Cl}_2\text{O}$ durante la extracción y posterior tratamiento del mineral de Hg y que quedan formando parte de los residuos de la tostación [10]. También se ha señalado la posibilidad de que parte del Hg elemental perdido durante el tratamiento del mineral y presente en los residuos, con el tiempo pueda ser convertido en otras especies de Hg(II) principalmente a través de procesos de oxidación [11, 12]. Ambas posibilidades se ajustan bien en el caso del suelo del punto 1 y pueden considerarse como las posibles causas del elevado contenido en Hg lábil.

El contenido de Hg asociado a materia húmica y fúlvica también es muy elevado ($1362 \mu\text{g g}^{-1}$ que corresponde a un 13,3% del Hg total) y puede explicarse debido al hecho de que sobre la mezcla de residuos de tostación del cinabrio y restos de la chimenea se ha desarrollado un suelo incipiente con un contenido significativo en materia orgánica (4,4%, ver figura 9.9). Es posible suponer la formación parcial de complejos de las especies reactivas de Hg formadas durante la tostación del mineral y a través de la oxidación del Hg elemental con la materia húmica presente en el suelo. Algunos autores han demostrado este hecho a través de experimentos de incubación, encontrando que las especies lábiles de Hg tienen una elevada tendencia a formar complejos con la materia húmica disminuyendo así su movilidad y biodisponibilidad [13].

La recuperación de Hg en la tercera etapa ($1512 \mu\text{g g}^{-1}$ correspondientes a un 14,8% del Hg total) sugiere la presencia en esta muestra de elevadas cantidades de óxidos y oxihidróxidos amorfos de Fe y Mn, formados probablemente a partir de la pirita presente en la mena durante el tratamiento pirometalúrgico del mineral. Estas especies tienen una elevada capacidad de formación de complejos [14] y pueden competir con la materia húmica y el sulfuro en la formación de complejos con las especies lábiles de Hg presentes en los residuos de la tostación del mineral. A pesar de que el Hg presenta una clara preferencia por la formación de complejos con materia húmica [15], la abundancia de estos hidróxidos y oxihidróxidos puede explicar el elevado contenido de Hg en esta fracción.

El contenido de Hg recuperado en la fracción de Hg elemental también es muy significativo ($1270 \mu\text{g g}^{-1}$ que supone un 12,5% del Hg total de la muestra). Éste probablemente procede de las pérdidas de Hg durante la extracción del mismo en el proceso de tostación del mineral, en el cual parte de los vapores de Hg formados pudieron condensar quedando formando parte de los residuos. La abundancia del Hg elemental es evidente además por la presencia de gotas de Hg nativo en el punto de muestreo, visibles incluso a simple vista. Sin embargo, dada la naturaleza del punto de muestreo, el rendimiento de esta etapa se antoja relativamente bajo. La explicación a este rendimiento puede encontrarse en que las condiciones en el punto de muestreo favorecen los procesos de oxidación que pueden transformar el Hg elemental en otras especies más reactivas de Hg(II) que formarían parte de la fracción lábil y además podrían formar complejos con la materia orgánica, oxihidróxidos de Fe y Mn y con el azufre presente en el suelo [16].

Como puede suponerse, teniendo en cuenta la naturaleza de la fuente de contaminación, el Hg aparece mayoritariamente en la fracción unida a sulfuro, probablemente como cinabrio, aunque también en esta etapa se lixiviarán las especies sulfuradas formadas a partir del Hg(II) reactivo por formación de complejos con el azufre presente en el suelo. Además de ello, es posible que las especies de Hg ocluidas en los silicatos se lixivien en esta etapa. Sin embargo el porcentaje de Hg unido a sulfuro es mucho menor que el encontrado por otros autores en muestras de la misma naturaleza que la recogida en el punto 1. En un estudio realizado en el área minera de New Almaden (California, EEUU)

mediante la técnica EMPA (Análisis Microelectrónico), llegaron a observarse contenidos de cinabrio de hasta el 98% en muestras de residuos de los procesos de calcinación del mineral [17].

Puntos 2 y 3:

Los puntos 2 y 3 corresponden a auténticos suelos y presentan una distribución del Hg diferente respecto a la encontrada en el punto 1.

Los resultados muestran la diferente naturaleza entre los puntos de muestreo analizados. En las muestras 2 y 3 que corresponden a auténticos suelos bien desarrollados, la fracción de Hg lábil no representa un porcentaje significativo del Hg presente, al contrario de lo que ocurre en el punto 1. En el caso del punto 2 (figura 9.19), situado aguas abajo de la chimenea, se observa un mayor contenido de Hg lábil debido probablemente a los efectos de los procesos de lixiviación ácida que tienen lugar en este punto. A diferencia de éste, en el punto 3 (figura 9.20), situado aguas arriba de la chimenea, la presencia de Hg lábil es prácticamente inexistente ($< 0,1\%$ del Hg total) debido a que en este punto no se dan este tipo de procesos.

La ausencia de cantidades significativas de Hg lábil no es sorprendente, al tratarse de suelos bien desarrollados considerando que las muestras presentan un contenido mayor de materia orgánica y que contendrán otros ligandos como cloruros y sulfuros que competirán por el Hg disponible débilmente asociado a otros ligandos. Por tanto, la ausencia de cantidades significativas de Hg en esta etapa es atribuible al resultado de la competencia de otras reacciones. Este comportamiento ya ha sido observado por otros autores tales como *Giulio y Ryan* (1987) [18], *Breward y Peachy* (1983) [19] y *Gupta y Chen* (1975) [20], quienes al estudiar el fraccionamiento del Hg y otros metales traza en sedimentos observaron que sólo una fracción muy pequeña del contenido total de los metales estaba asociado a las fracciones más lábiles. En lugar de ello, encontraron que la mayor parte del contenido metálico se asociaba a las fracciones orgánicas y sulfuros.

A pesar de la diferencia entre el contenido de materia orgánica (4,9% para el punto 2 y 10,2% para el punto 3), el porcentaje de Hg recuperado en la fracción asociada a ácidos húmicos y fúlvicos (etapa 2 del método de extracción) es similar en ambos suelos (8,6%

y 7,2% respectivamente). Estos porcentajes son ligeramente superiores a los encontrados en las muestras de Almadén estudiadas de las parcela P4 y P9. Sin embargo otros estudios realizados en suelos encontraron contenidos más importantes de Hg asociado a materia orgánica. *Biester et al.* (2002) [21] al estudiar suelos contaminados por emisiones de plantas de cloroálcali observó concentraciones de Hg asociado a materia húmica y fúlvica en el intervalo de 13,4%-106% del Hg total. *Fitzgerald y Lyons* [22] también determinaron concentraciones de Hg asociado a materia orgánica que suponían hasta un 50%-60% del Hg en sedimentos costeros. También es sorprendente el hecho de que el porcentaje de Hg en esta fracción es notablemente inferior al encontrado en el punto 1 (13,3%), que a su vez es el que presenta un menor contenido global de materia orgánica (4,4%). Nuevamente podemos justificar este comportamiento en base a la elevada concentración en el punto 1 de Hg lábil que hace que se encuentre una elevada cantidad de Hg disponible para los procesos de formación de complejación, lo cual no ocurre en los suelos 2 y 3 donde el contenido de Hg lábil es muy pequeño.

La fracción de Hg unido a óxidos e hidróxidos de Fe y Mn, al contrario de lo que ocurre en el punto 1, tampoco constituye una fracción importante en ambos suelos. Sólo el punto 2 presenta un porcentaje de Hg algo mayor en esta etapa (4,0%), a pesar de presentar contenidos globalmente similares de Fe y Mn (ver tabla 9.1). Este mayor porcentaje puede ser consecuencia de los procesos de lixiviación ácida que tienen lugar en el punto 2, ya que algunos autores han demostrado que adsorción de Hg en óxidos de Fe aumenta al disminuir el pH [23].

En ambos suelos el Hg se distribuye principalmente en la fracción de Hg elemental (ver figuras 9.19 y 9.20) que constituyen respectivamente el 44,6% y el 51,4% del Hg total presente. Llama la atención que el porcentaje de Hg en esta fracción es muy superior a aquel encontrado en el punto 1 (12,5%). De nuevo este hecho ilustra la diferente naturaleza del punto 1 respecto a los puntos 2 y 3 y las diferencias en cuanto a concentración global de Hg. En estos últimos, equidistantes del punto 1, el contenido de Hg elemental procede principalmente de la dispersión desde la fuente de contaminación y es globalmente similar para ambos puntos, lo que implica que la dispersión del Hg a través de la chimenea es uniforme. El Hg elemental en los suelos 2 y 3, además,

posiblemente no se encuentra sujeto a sufrir procesos de oxidación de una forma tan intensa a como debe ocurrir en el punto 1 que dan lugar a especies más reactivas. Esto explicaría el mayor porcentaje de Hg en esta etapa, lo cual también es coherente con el bajo contenido encontrado en la fracción de Hg lábil. Adicionalmente, en los suelos, debido a su elevado contenido en Fe, el Hg recuperado en esta etapa no corresponderá únicamente al Hg elemental sino que también puede proceder del Hg asociado a las formas cristalinas de Fe presentes.

La fracción de Hg unido a sulfuro representa el mismo porcentaje en ambos suelos (alrededor del 41%), siendo por tanto una de las fracciones mayoritarias, como era de esperar tratándose de suelos procedentes de un área minera de cinabrio. Sin embargo, el porcentaje de Hg en esta etapa es sensiblemente inferior al encontrado en las muestras de suelos de Almadén estudiados en las parcelas P4 y P9 (ver figuras 8.21 y 8.26). Otros estudios realizados en suelos de áreas mineras de cinabrio también encontraron porcentajes superiores de Hg en la etapa de extracción de Hg unido a sulfuro pudiendo suponer esta fracción más de un 90% del Hg total [24]. Así pues, pese a que la fracción de sulfuro representa un porcentaje importante en estos suelos indicando la presencia de cinabrio, el Hg presente en los mismos parece tener otros orígenes más diversos como la dispersión y deposición del Hg elemental y particulado desde la fuente de contaminación.

9.6.5.2.2. Fracciones granulométricas

Residuos de combustión del mineral en chimenea

Al igual que se ha realizado en la aplicación del método EPA 3200, el método de extracción secuencial de Hg desarrollado en esta Tesis se aplica también a las diferentes fracciones granulométricas establecidas en el estudio de los suelos de Asturias recogidas en los puntos de muestreo 1, 2 y 3. El objetivo de esta aplicación es estudiar la distribución y geoquímica del Hg en estos suelos en función de su clasificación granulométrica en las áreas de interés previamente seleccionadas.

Las figuras 9.21, 9.23 y 9.26 muestran la distribución del Hg en las fracciones granulométricas obtenidas para los puntos 1, 2 y 3 respectivamente. Cada barra representa las concentraciones de Hg obtenidas en las etapas operacionalmente definidas del método de extracción propuesto para todas las fracciones granulométricas (B-F) multiplicadas por su correspondiente porcentaje granulométrico. Esta distribución a su vez se compara con aquella obtenida en la correspondiente muestra original (A).

Como puede verse en la gráfica, en la fracción más gruesa (B), el Hg se asocia principalmente a las fases menos móviles, como son la de Hg elemental y Hg unido a sulfuro. Tal y como ocurre en la correspondiente muestra original (A), todas las submuestras granulométricas presentan concentraciones significativas de Hg lábil. Este contenido es similar en las tres primeras submuestras (B, C y D) así como en la fracción más fina (F). Sin embargo, la submuestra E (0,417 mm > Fracción > 0,147 mm) presenta un contenido mucho mayor de Hg, indicando una acumulación de especies reactivas de Hg(II) en esta submuestra granulométrica.

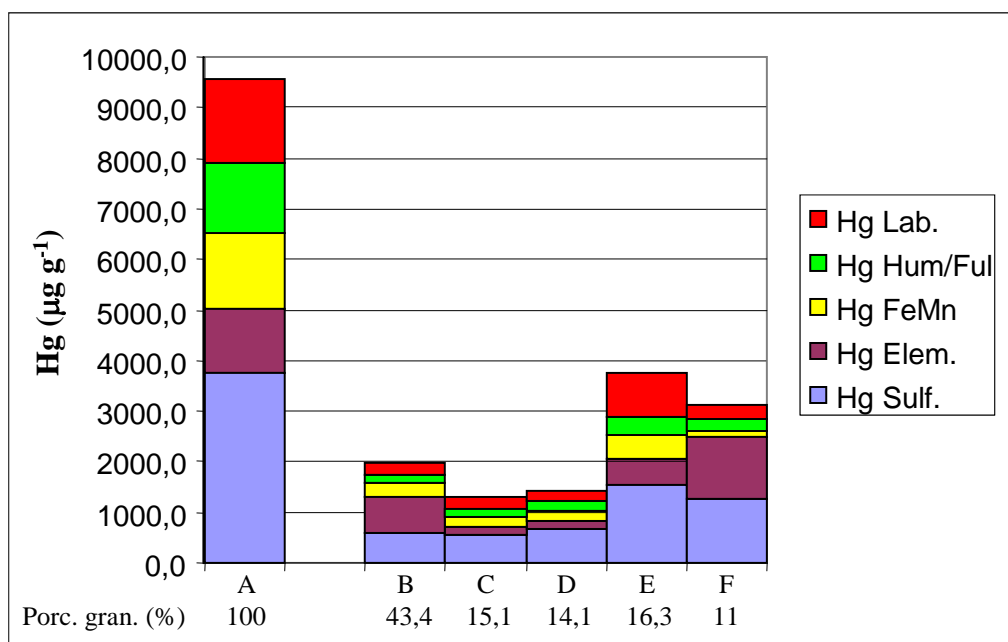


Figura 9.21. Distribución del Hg en la muestra 1 (A) y en sus distintas fracciones granulométricas (B-F) en las fracciones de especies lábiles de Hg (Hg Lab.), asociado a ácidos húmicos y fúlvicos (Hg Hum/Ful), asociado a oxihidróxidos amorfos de Fe y Mn (Hg FeMn), Hg elemental (Hg Elem.) y asociado a sulfuro (Hg Sulf.).

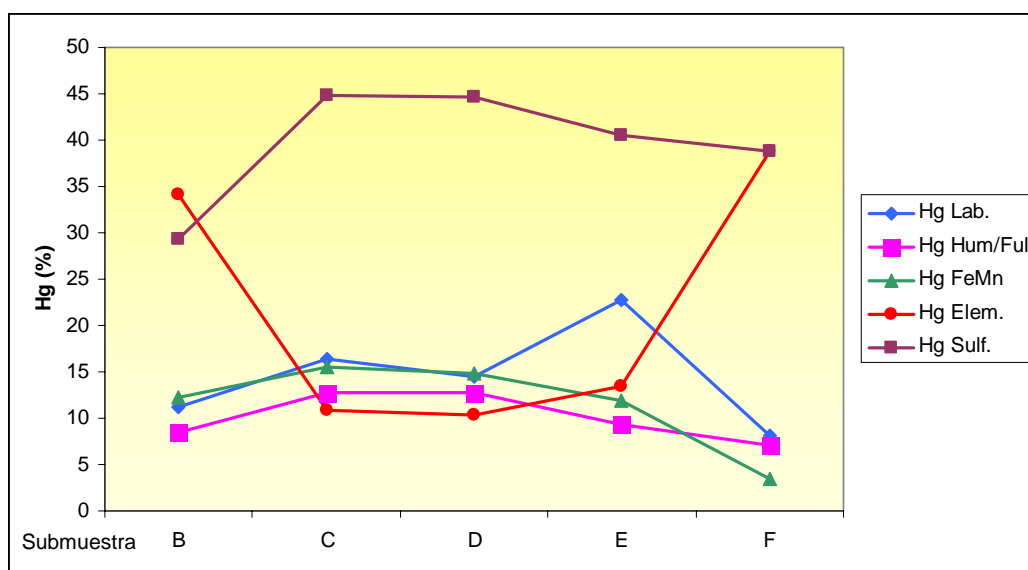


Figura 9.22. Porcentajes de recuperación de Hg en las diferentes etapas de extracción para las submuestras granulométricas del punto de muestreo 1 en las fracciones de especies lábiles de Hg (Hg Lab.), asociado a ácidos húmicos y fúlvicos (Hg Hum/Ful), asociado a oxihidróxidos amorfos de Fe y Mn (Hg FeMn), Hg elemental (Hg Elem.) y asociado a sulfuro (Hg Sulf.).

Además la evolución de los porcentajes de *Hg lábil* (figura 9.22) muestra una tendencia a la acumulación de especies de reactivas al disminuir el tamaño de grano mientras que en la fracción más fina el porcentaje de Hg asociado en esta fracción cae bruscamente, lo cual puede ser debido a que en esta misma fracción es posible que tengan lugar de un modo más intenso los procesos de formación de complejación de las especies de Hg(II) debido a que presenta una mayor superficie de contacto favorable a que se den estas reacciones.

Respecto a la fracción de *Hg asociado a materia húmica* las tres submuestras más gruesas (B, C y D) presentan un contenido similar (figura 9.21), mientras que las dos muestras más finas (E y F) presentaron una concentración mayor, a pesar de que el contenido de materia orgánica global es aproximadamente similar para todas las submuestras granulométricas (ver figura 9.9). Sin embargo, la evolución de porcentajes de Hg recuperado en esta etapa en las distintas fracciones granulométricas (figura 9.22) muestra una recuperación de Hg en el rango 7,1%-12,8% para todas las fracciones granulométricas, es decir, no se observan grandes diferencias de unas submuestras a

otras, lo cual parece concordar bien con la constancia en el contenido de materia orgánica.

El contenido de *Hg asociado a óxidos e hidróxidos de Fe y Mn* también fue muy similar para las que submuestras granulométricas más gruesas (B, C y D), demostrando una distribución uniforme de esta fase de Hg en ellas, mientras que la concentración encontrada en la submuestra E (0,417 mm > Fracción > 0,147 mm) fue significativamente superior (figura 9.21). Además estos resultados no guardan correlación con los contenidos globales de Fe y Mn que presentan diferencias significativas de unas submuestras a otras (ver tabla 9.1). Sin embargo, el hecho más llamativo con respecto a la aplicación de esta etapa, lo constituye la baja concentración de Hg observada en la submuestra más fina (F < 0,147 mm), cuando es de esperar que en ésta se acumule el material arcilloso y óxidos que adsorben el Hg reactivo presente y serían lixiviados en esta etapa. Algunos autores han demostrado que en suelos con pH ácido, el Hg adsorbido en componentes minerales tales como óxidos y oxihidróxidos de Fe puede ser parcialmente desorbido [25], lo cual podría explicar el comportamiento encontrado en esta etapa. Este comportamiento se refleja también en la figura 9.22, el Hg se distribuye uniformemente entre las fracciones más gruesas (B-E) con porcentajes de recuperación similares, mientras que en la fracción más fina este porcentaje cae al 3,5% probablemente debido a fenómenos de desorción como consecuencia del pH ácido, que además serán más intensos en esta fracción debido a su menor tamaño de grano y por tanto a su mayor superficie expuesta.

En cuanto al contenido de Hg en la fracción de *Hg elemental*, la distribución del mismo no parece regular entre las diferentes fracciones granulométricas establecidas. En la submuestra más gruesa (B), que a su vez representa una parte mayoritaria de la muestra (43,1%), el contenido de Hg recuperado en la etapa 4 del método de extracción secuencial es muy importante, llegando a representar la fracción mayoritaria en esta submuestra (figura 9.21). Las submuestras de tamaño de grano intermedio (C y D) presentan una concentración bastante inferior, al tiempo que el contenido del mismo aumenta de nuevo en las fracciones más finas. Estudiando la distribución del mismo en cuanto a los porcentajes de Hg recuperados en cada submuestra granulométrica (figura 9.22) podemos observar la tendencia del Hg elemental a acumularse en la submuestra

más gruesa (B) y en la más fina (F), al tiempo que en las fracciones de tamaño intermedio (C, D y E) presenta una distribución uniforme. Es posible que la naturaleza del Hg elemental extraído en cada submuestra sea ligeramente diferente. En las fracciones más gruesas aparecerán las gotas de Hg elemental formadas durante el tratamiento pirometalúrgico del mineral y que constituyen pérdidas del proceso de extracción, mientras que en las fracciones más finas podrá aparecer el Hg elemental depositado por condensación de vapores y que constituirá partículas de tamaño más fino.

Las concentraciones de *Hg unido a sulfuro*, entendidas como una medida del Hg extraído en la última etapa del método de extracción secuencial, son similares para las tres submuestras granulométricas más gruesas (A, B y C) y aumentan significativamente en las más finas (E y F) (figura 9.21). A nivel global esta fracción constituye la fracción mayoritaria en todas las submuestras granulométricas, como es de esperar tratándose de un área minera de cinabrio. En la figura 9.22 puede observarse como, a excepción de la submuestra más gruesa (B) que presenta un contenido menor de Hg unido a sulfuro (29%), en el resto de submuestras el porcentaje de Hg recuperado en esta etapa no presenta diferencias significativas, encontrándose en el intervalo 39%-45%.

Suelos aguas abajo

Los resultados de la aplicación del método de extracción secuencial de Hg propuesto a las submuestras granulométricas del punto 2 se pueden ver en la figura 9.23. En éstos puede observarse como, al igual que ocurre en la correspondiente muestra original (A), no aparecen concentraciones significativas de Hg en la fracción de *Hg lábil* en ninguna de las submuestras establecidas (B-F), prueba de que en este suelo bien desarrollado el Hg se encuentra asociado a otras fracciones menos disponibles, probablemente como consecuencia de la competencia entre reacciones de formación de complejación con otros ligandos presentes en el suelo. Sólo la submuestra de tamaño de grano más grueso (B) presenta un porcentaje de recuperación algo superior al resto (Figura 9.24). Esta submuestra es la que representa la mayoría de la muestra y el contenido de Hg Lábil en

la misma podría explicar el que a su vez aparece en la muestra original (A), atribuible a los procesos de lixiviación ácida que tengan lugar en el punto de muestreo.

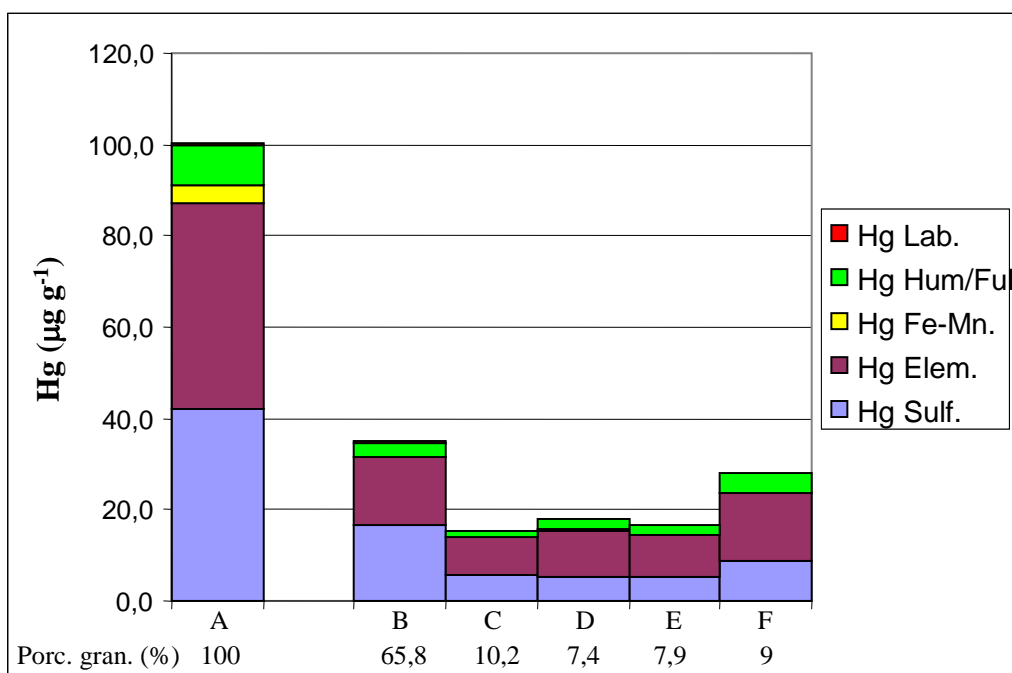


Figura 9.23. Distribución del Hg en la muestra 2 (A) y en sus distintas fracciones granulométricas (B-F) en las fracciones de especies lábiles de Hg (Hg Lab.), asociado a ácidos húmicos y fúlvicos (Hg Hum/Ful), asociado a oxihidróxidos amorfos de Fe y Mn (Hg FeMn), Hg elemental (Hg Elem.) y asociado a sulfuro (Hg Sulf.).

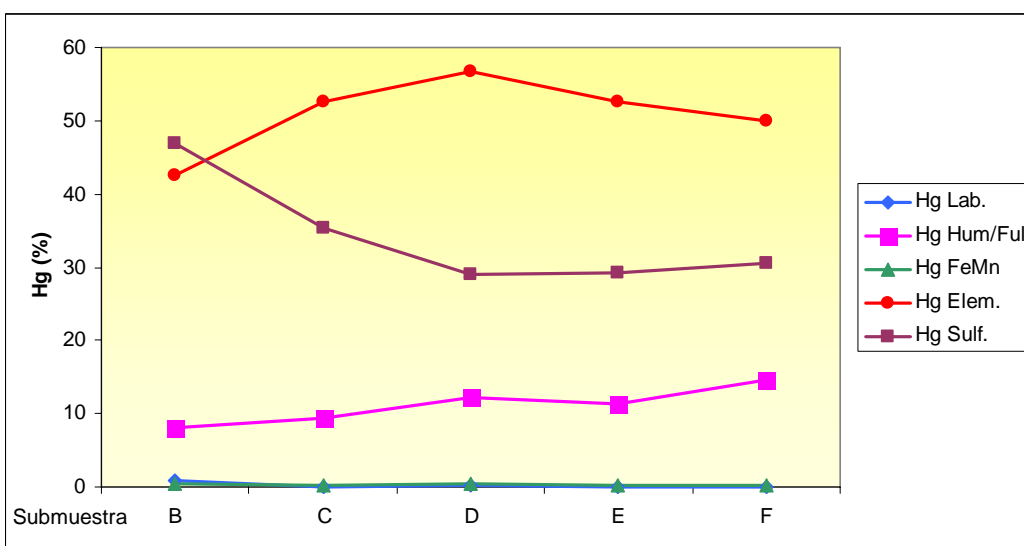


Figura 9.24. Porcentajes de recuperación de Hg en las diferentes etapas de extracción para las submuestras granulométricas del punto de muestreo 2 en las fracciones de especies lábiles de Hg (Hg Lab.), asociado a ácidos húmicos y fúlvicos (Hg Hum/Ful), asociado a oxihidróxidos amorfos de Fe y Mn (Hg FeMn), Hg elemental (Hg Elem.) y asociado a sulfuro (Hg Sulf.).

Todas las submuestras granulométricas presentaron concentraciones significativas de Hg en la fracción de *Hg asociado a materia húmica y fúlvica*. Las concentraciones de Hg encontradas en esta fracción fueron bastante similares en el caso de las submuestras más gruesas (B-E), encontrándose en el intervalo 1,5-2,8 $\mu\text{g g}^{-1}$, mientras que la fracción más fina (F) presentó una concentración algo mayor (4,3 $\mu\text{g g}^{-1}$). Al estudiar los porcentajes de Hg recuperados en esta etapa para cada submuestra granulométrica (figura 9.24), se observa una tendencia a la acumulación del Hg asociado a la materia húmica en las fracciones más finas, pasando de representar el 8,1% del Hg total en la submuestra más gruesa (B) al 14,7% en la submuestra más fina (F). Esta tendencia es coherente con la evolución del contenido de materia orgánica en las diferentes submuestras (ver figura 9.9), el cual también aumenta al disminuir el tamaño grano. La figura 9.25 demuestra una fuerte correlación entre el contenido de Hg extraído en esta etapa y el contenido de materia orgánica en las submuestras granulométricas de la muestra 2. Este comportamiento ya ha sido observado por otros autores [26] y contrasta con aquél encontrado en la muestra 1, donde no existe una tendencia clara en cuanto a la evolución del contenido de Hg asociado a la materia orgánica.

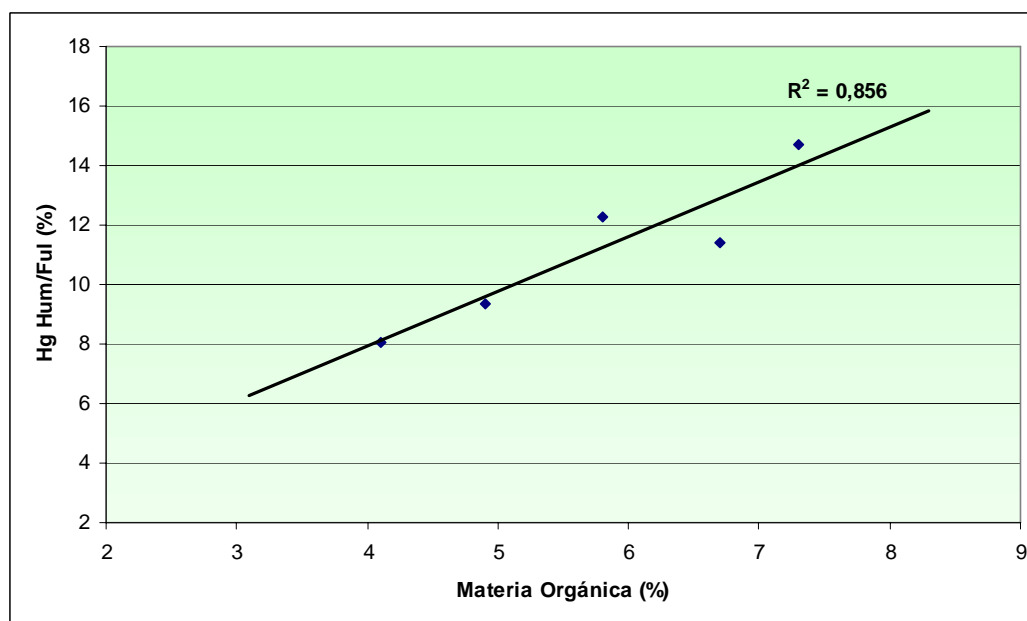


Figura 9.25. Correlación entre el porcentaje de Hg recuperado en la segunda etapa y el contenido en Materia Orgánica en las submuestras granulométricas del punto 2.

Los contenidos de *Hg asociado a óxidos e hidróxidos de Fe y Mn* son despreciables en todas las submuestras granulométricas, pues apenas alcanza 0,9 $\mu\text{g g}^{-1}$ para la

submuestra más fina (F, figura 9.23) y sólo supone un 0,5% del Hg total presente en la submuestra más gruesa (B, ver figura 9.24), por tanto ésta no constituye una fracción destacable en este suelo. Nuevamente estos resultados contrastan con aquellos obtenidos para las submuestras del punto 1 y demuestran la diferente naturaleza de esta muestra respecto a las recogidas en los puntos 2 y 3.

Al contrario de lo que sucede en la etapa anterior, la fracción de *Hg elemental* aparece como la más significativa dentro de las submuestras granulométricas tomadas de la muestra 2 (figura 9.23). El contenido de Hg recuperado en todas ellas oscila en el intervalo de $8,3 \mu\text{g g}^{-1}$ a $15,0 \mu\text{g g}^{-1}$. Teniendo en cuenta la evolución del porcentaje de recuperación (figura 9.24) podemos ver como, con excepción de la submuestra más gruesa (B), el Hg recuperado en esta fracción supone algo más del 50% del Hg total para todas las demás submuestras granulométricas (C-F). Además la distribución del mismo en estas últimas submuestras es uniforme, no observándose grandes diferencias de unas submuestras a otras.

Respecto al contenido de *Hg unido a sulfuro*, las concentraciones observadas son, en general, ligeramente inferiores a las halladas en la etapa anterior (figura 9.23), encontrándose en el intervalo de $5,2 \mu\text{g g}^{-1}$ a $16,5 \mu\text{g g}^{-1}$. En cuanto a los porcentajes de recuperación encontrados (figura 9.24), nos encontramos con la situación inversa al caso del Hg elemental, es decir, en este caso la submuestra más gruesa (B) es la que acumula el mayor contenido de Hg asociado a sulfuro (47%), mientras que las submuestras más finas presentan un contenido inferior y globalmente similar entre ellas (29%-35%), lo que indica la uniformidad de la distribución de esta fase de Hg entre las diferentes fracciones granulométricas más finas (C-F).

Suelos aguas arriba

Los resultados de la aplicación del método de extracción secuencial a las submuestras granulométricas de la muestra 3, representativa de estos suelos, se muestran en la figura 9.26.

Al igual que sucede en la muestra 2, la fracción de *Hg lábil* no presenta concentraciones significativas en ninguna de las submuestras. En este caso, al contrario de lo que ocurre en los suelos aguas abajo, no pudieron detectarse concentraciones apreciables, ni siquiera en la submuestra más gruesa (B), lo que parece indicar que en este punto, situado aguas arriba de la chimenea, los procesos de lixiviación ácida tienen una importancia menor que en aquellos situados aguas abajo.

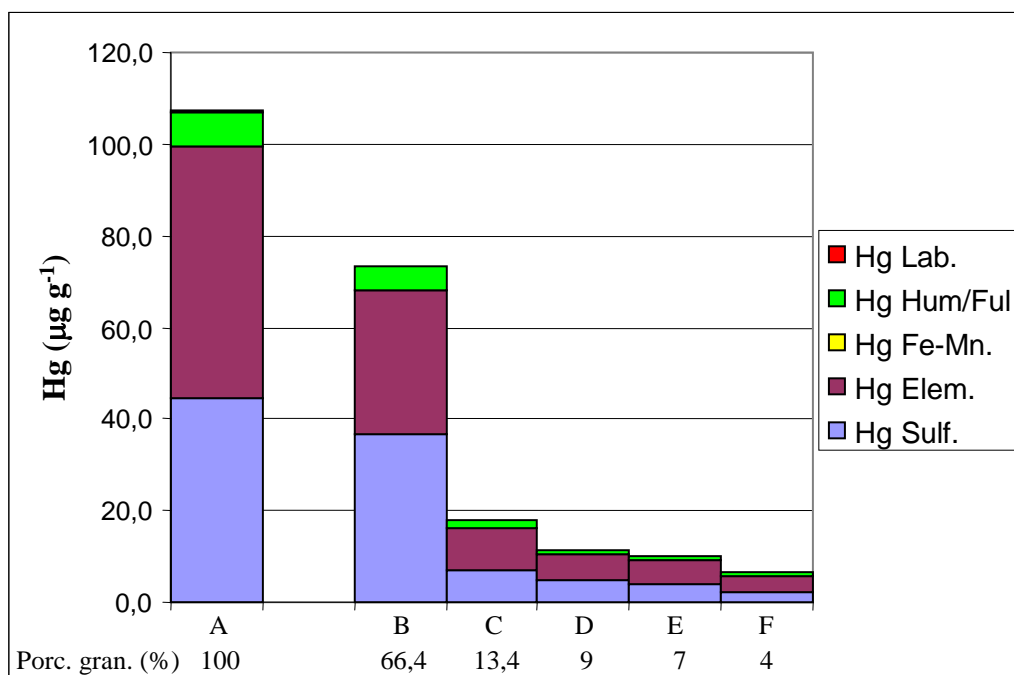


Figura 9.26. Distribución del Hg en la muestra 3 (A) y en sus distintas fracciones granulométricas (B-F) en las fracciones de especies lábiles de Hg (Hg Lab.), asociado a ácidos húmicos y fúlvicos (Hg Hum/Ful), asociado a oxihidróxidos amorfos de Fe y Mn (Hg FeMn), Hg elemental (Hg Elem.) y asociado a sulfuro (Hg Sulf.).

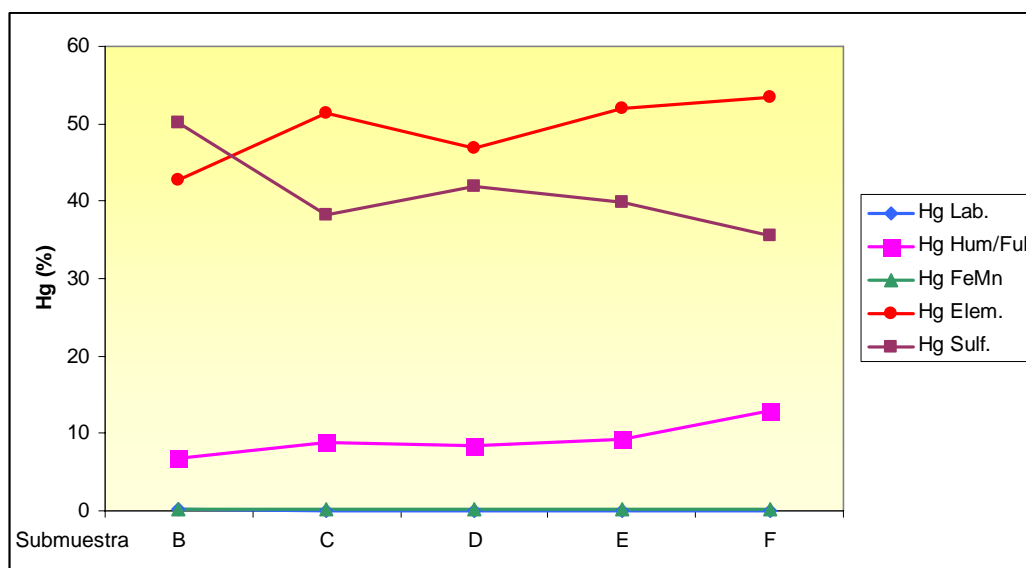


Figura 9.27. Porcentajes de recuperación de Hg en las diferentes etapas de extracción para las submuestras granulométricas del punto de muestreo 3 en las fracciones de especies lábiles de Hg (Hg Lab.), asociado a ácidos húmicos y fúlvicos (Hg Hum/Ful), asociado a oxihidróxidos amorfos de Fe y Mn (Hg FeMn), Hg elemental (Hg Elem.) y asociado a sulfuro (Hg Sulf.).

La mayoría del *Hg asociado a materia húmica y fúlvica* presente en el suelo, aparece en la submuestra más gruesa (B, figura 9.26) y el contenido del mismo va disminuyendo al disminuir el tamaño de grano, aunque con muy escasas diferencias, tal y como ocurre con el contenido de materia orgánica (figura 9.9). Con excepción de la submuestra B, los contenidos de Hg en esta fracción son menores que aquellos obtenidos para las submuestras del punto 2, si bien no difieren mucho y se encuentran en el mismo orden de concentración que las de aquéllas. Por añadidura, y tal y como sucede en la muestra tomada aguas abajo, la evolución de los porcentajes de Hg recuperado muestra una ligera tendencia a la acumulación al disminuir el tamaño de grano (figura 9.27) pasando de suponer un 6,8% del Hg total en la submuestra más gruesa (B) a un 12,9% en la más fina (F). Por tanto el comportamiento del Hg asociado a materia húmica es globalmente similar en las muestras de suelos bien desarrollados, demostrando ser una fracción significativa del Hg presente en ambas áreas de interés.

Análogamente al comportamiento observado en la muestra 2, en el caso de las submuestras granulométricas del punto 3, no pudieron detectarse concentraciones significativas de *Hg asociado a óxidos e hidróxidos de Fe y Mn* (figura 9.26), lo que significa que en el comportamiento geoquímico del Hg en el caso de los auténticos

suelos (puntos 2 y 3) este tipo de asociación están prácticamente ausentes y el Hg se asocia preferiblemente a otros ligandos más fuertes o bien queda como Hg elemental. La evolución de los porcentajes de recuperación para la tercera etapa (figura 9.27) corrobora esta última afirmación. En ninguna de las submuestras granulométricas pudieron obtenerse recuperaciones superiores al 0,2% en esta fracción y por tanto no debe considerarse como una fracción significativa del Hg en los suelos de las áreas estudiadas.

La fracción de *Hg elemental*, aparece como la más significativa dentro de las fracciones operacionalmente definidas del método de extracción propuesto (figura 9.26). Las concentraciones obtenidas en esta fracción oscilan en el intervalo de 3,4 $\mu\text{g g}^{-1}$ a 31,3 $\mu\text{g g}^{-1}$, correspondiendo la mayor concentración a la submuestra granulométrica más gruesa (B), que representa la mayoría de la muestra (66,4%) y la menor a la fracción más fina (F), que sólo representa un 4% de la muestra total. Sin embargo esta tendencia se invierte en el caso de los porcentajes de recuperación de Hg en esta etapa (figura 9.27), es decir, al igual que sucede en el caso del punto 2, la submuestra más gruesa presenta el menor porcentaje de recuperación (42,8%) mientras que el resto de submuestras presentan porcentajes de recuperación globalmente similares en torno al 50% del Hg total. Nuevamente, por tanto, encontramos un comportamiento análogo entre las muestras de auténticos suelos, que contrasta con aquel observado en la muestra tomada al pie de la chimenea, donde el Hg elemental no representa una fracción mayoritaria del Hg presente en el suelo.

La mayor parte del *Hg unido a sulfuro* aparece en la submuestra más gruesa (B, figura 9.26) con una concentración de 36,8 $\mu\text{g g}^{-1}$, mientras que el resto de submuestras presentan una concentración mucho menor, disminuyendo ésta al disminuir el tamaño de grano y el porcentaje granulométrico, por tanto el Hg asociado a esta fracción tiende a acumularse en las submuestras más gruesas, al contrario de lo que sucede con el Hg elemental. La misma tendencia se observa al estudiar los porcentajes de recuperación (figura 9.27), aunque en este caso no es tan acusada. Tal y como sucedía en el caso del punto 2, el mayor porcentaje de recuperación corresponde a la submuestra más gruesa (B), mientras que las más finas presentan un contenido menor y en general muy similar encontrándose en el rango de 35,6% a 41,9%, indicando una uniformidad en la

distribución del Hg asociado a sulfuro en estas submuestras. Estos porcentajes son ligeramente superiores a aquellos observados en las submuestras del punto 2 y esto indica una mayor presencia de Hg asociado a sulfuro en el punto 3 y por tanto una mayor inmovilidad del mismo en este suelo.

9.6.5.3. Comparación entre los métodos EPA 3200 y método de extracción secuencial propuesto

Los dos métodos aplicados al estudio del Hg en las muestras de suelos del área minera de Asturias, en principio, pretenden el mismo objetivo, que no es otro que evaluar la movilidad, disponibilidad y en el caso del método desarrollado en esta Tesis, establecer la distribución geoquímica del Hg en los suelos. Sin embargo, las conclusiones a las que se llega a partir de los resultados obtenidos en la aplicación de ambos son bastante diferentes en algunos aspectos fundamentales. Estas diferencias son más acentuadas en el caso del estudio del suelo y las submuestras granulométricas del punto 1. Este punto es de especial interés dada la gran concentración de Hg que presenta (aprox. 1,0%) y que se trata de una muestra tomada muy próxima a la fuente de contaminación (chimenea). Así pues, el adecuado establecimiento de la movilidad del Hg en este punto es fundamental para la comprensión de la evolución del Hg en la zona de interés. Mediante la aplicación del método EPA 3200 se establece que la gran mayoría del Hg se encuentra presente en las fracciones SM y NM, mientras que sólo una pequeña parte (1,1%) aparece en la fracción más móvil y disponible y por tanto según estos resultados podría pensarse que la gran mayoría del Hg presente en este suelo se encuentra asociado a fracciones de escasa movilidad y no presenta un riesgo elevado para el medio ambiente circundante. Por el contrario, la aplicación del método de extracción secuencial desarrollado en esta Tesis aportó una información mucho más completa sobre la distribución del Hg, encontrando que gran parte del mismo se encuentra asociado a la fracción lábil y a la asociada a óxidos e hidróxidos amorfos de Fe y Mn, que a su vez son fracciones de gran movilidad y que sí representan riesgos para el medioambiente en términos de movilidad y disponibilidad.

La diferencia de información suministrada por ambos métodos es mucho menor en el caso del estudio de auténticos suelos (puntos de muestreo 2 y 3) y sus correspondientes submuestras granulométricas. En estos, las fracciones Hg lábil y Hg asociado a óxidos e hidróxidos de Fe y Mn se encuentran prácticamente ausentes. De esta forma el contenido de Hg extraído en las etapas segunda y cuarta del método de extracción secuencial propio deberá coincidir aproximadamente con aquél extraído en la etapa de extracción de Hg Semimóvil del método EPA 3200. Esta coincidencia puede observarse en la figura 9.28, donde se pone de manifiesto la relación entre los contenidos de Hg recuperados en ambos métodos de extracción. Por tanto, en el caso los auténticos suelos, donde el contenido de Hg asociado a fracciones más móviles es muy pequeño, la información suministrada por ambos métodos resulta mucho más próxima, pues en éstos el Hg estará principalmente vinculado a las fracciones menos móviles presentes en los suelos y el empleo de uno u otro parece ser igualmente válido para la evaluación del riesgo del Hg presente en los suelos. En cualquier caso, el método de extracción secuencial propio suministra una información mucho más completa acerca de la geoquímica del Hg y sus posibles asociaciones en los suelos.

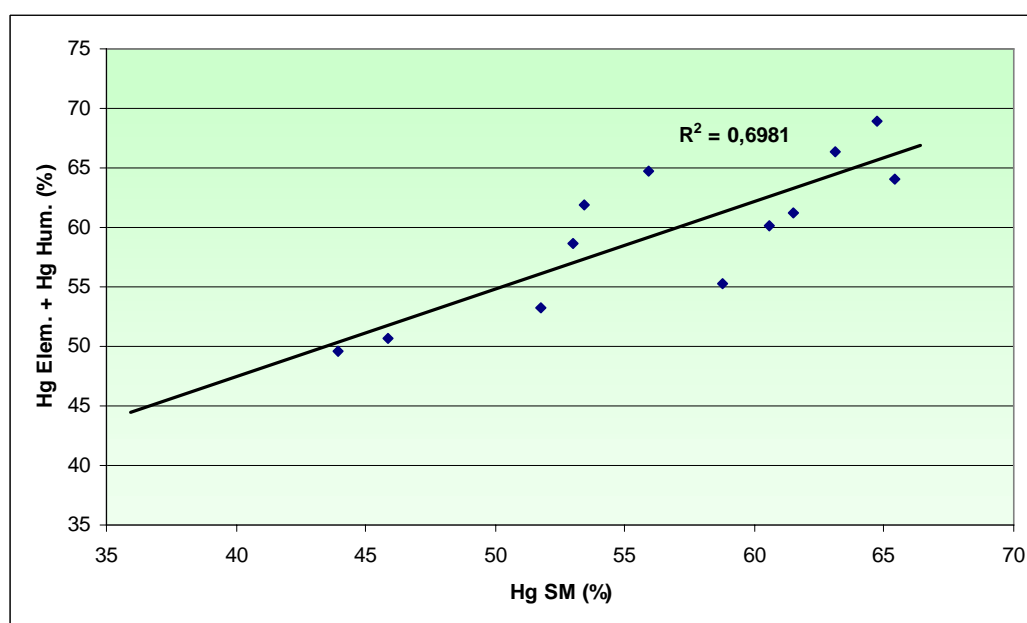


Figura 9.28. Correlación entre el porcentaje de recuperación de Hg en la etapa SM del método EPA 3200 y la suma de los porcentajes de recuperación de las fracciones segunda y cuarta del método de extracción secuencial propio en las muestras originales y submuestras granulométricas de los puntos 2 y 3.

9.6.5.4. Aplicación del método de extracción de Hg Orgánico

Al igual que sucedió en el caso de las muestras recogidas en el área minera de Almadén de las parcelas P4 y P9, el método de extracción de la fracción de Hg Orgánico desarrollado en esta Tesis, se aplica a las muestras recogidas en el área minera de Asturias en los puntos de muestreo seleccionados, así como a sus correspondientes submuestras granulométricas. El objetivo de esta aplicación es evaluar el contenido de Hg Orgánico en estas muestras, así como su distribución en las submuestras granulométricas establecidas. Como ya se ha hablado en otros capítulos y aplicaciones de la presente Tesis Doctoral, no hay que olvidar que esta fracción representa el contenido global de las especies más peligrosas de Hg desde un punto de vista medioambiental, debido a su extrema toxicidad y biodisponibilidad. Por tanto, puede resultar muy útil la aplicación de este método para establecer de forma aproximada el contenido de especies organomercuríicas presentes en el suelo y estimar el riesgo que supone el mismo para el medioambiente circundante.

En su aplicación a las muestras de Asturias, el método de extracción se adoptó prácticamente sin modificaciones, con alguna excepción, derivada del hecho de que debido a las altas concentraciones de Hg en la muestra del punto 1 y sus correspondientes submuestras granulométricas, es necesario tomar volúmenes inferiores de fase orgánica al establecido en las condiciones experimentales del método (200 μ L) en los extractos de algunas de estas muestras con objeto de no saturar la célula de detección del equipo DMA-80. Los volúmenes tomados de fase orgánica para estas muestras se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 9.3. Volúmenes de fase orgánica tomados en la aplicación del método de determinación de la fracción orgánica de Hg a las muestras originales y submuestras granulométricas.

Muestra	Vol. Fase Orgánica (μ L)
1A, 1C, 1D	100
1B	200
1E, 1F	50
2A-2F	200
3A-3F	200

Como en el caso de las muestras de Almadén, se analizaron cuatro réplicas de cada muestra y submuestra ($n = 4$).

Los resultados de la aplicación del método se muestran en la tabla 4. En éstos se observa como el contenido de Hg orgánico es apreciable en todas las muestras y submuestras granulométricas. La reproducibilidad de los resultados varía de 3,7% a 27,7% siendo el valor medio 13,4%, lo cual parece aceptable tratándose de un método de extracción. Los mayores resultados se obtienen en el punto más contaminado, es decir, en la chimenea empleada para la evacuación de gases procedentes de los hornos de tostación del mineral. En este punto, el contenido de Hg Orgánico varía entre $22 \mu\text{g g}^{-1}$ para la submuestra más gruesa (B) y $236 \mu\text{g g}^{-1}$ para la submuestra más fina (F), siendo el contenido de la muestra original (A) tan alto como $49 \mu\text{g g}^{-1}$. Estas concentraciones encontradas en los residuos de calcinación del mineral son excepcionalmente altas comparadas con otras de la bibliografía para muestras de la misma naturaleza. Gray (2004) [27] encontró concentraciones de hasta $1,5 \mu\text{g g}^{-1}$ de metilmercurio en pilas de calcinación de minas abandonadas en Texas (EEUU). Algo mayores fueron las concentraciones encontradas por Gray *et al.* (2004) [12], quienes llegaron detectar hasta $3,1 \mu\text{g g}^{-1}$ de metilmercurio en residuos de la tostación del mineral en el área minera de Almadén.

Tabla 9.4. Concentraciones y porcentajes de Hg Orgánico en las muestras y submuestras granulométricas recogidas en el área minera de “El Terronal” (Mieres, Asturias). Los valores a la derecha representan 3 veces la desviación típica (n = 4).

Muestra	Hg Org. ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Hg Org. (%)
<i>Punto 1</i>		
1A	49,0 \pm 13,6	0,48 \pm 0,13 ^a
1B	22,4 \pm 3,0	0,47 \pm 0,06
1C	52,1 \pm 4,5	0,62 \pm 0,05
1D	64,9 \pm 3,8	0,62 \pm 0,04
1E	191,3 \pm 13,9	0,82 \pm 0,06
1F	236,0 \pm 16,7	0,81 \pm 0,06
<i>Punto 2</i>		
2A	0,4 \pm 0,1	0,39 \pm 0,07
2B	0,3 \pm 0,1	0,58 \pm 0,16
2C	0,7 \pm 0,1	0,43 \pm 0,05
2D	1,4 \pm 0,1	0,56 \pm 0,04
2E	1,1 \pm 0,1	0,48 \pm 0,05
2F	2,8 \pm 0,1	0,86 \pm 0,03
<i>Punto 3</i>		
3A	0,5 \pm 0,1	0,46 \pm 0,11
3B	0,5 \pm 0,1	0,46 \pm 0,05
3C	0,9 \pm 0,0	0,66 \pm 0,03
3D	0,8 \pm 0,1	0,58 \pm 0,06
3E	0,7 \pm 0,1	0,51 \pm 0,10
3F	1,3 \pm 0,3	0,80 \pm 0,22

Por su parte, las muestras de suelos tomadas en las inmediaciones de la chimenea, presentan contenidos significativos de Hg orgánico y globalmente similares entre ellas. Las concentraciones se encuentran en el rango de 0,3 a 2,8 $\mu\text{g g}^{-1}$. Estos contenidos, a su vez, son notablemente altos, tratándose de suelos de áreas mineras. No existen en la bibliografía demasiadas publicaciones acerca del contenido de metilmercurio y otras especies organomercuriales en suelos de este tipo. Bailey (2001), observó concentraciones de hasta 41 ng g^{-1} en suelos tomados en las proximidades de una antigua mina de Hg en Alaska (EEUU) [28]. Por otra parte, el contenido en sedimentos,

mucho más estudiados por su mayor implicación en el ciclo biogeoquímico del metilHg, suele ser menor en otras antiguas áreas mineras de Hg. Se han encontrado concentraciones de hasta 82 ng g^{-1} en sedimentos de Almadén [12] e incluso mayores en antiguas zonas mineras de la costa de California (EEUU) [29], sin embargo las encontradas en estos suelos son netamente superiores. También hay que tener en cuenta que no existe una correspondencia plena entre el contenido de Hg orgánico medido a través del método de extracción desarrollado en esta Tesis y el contenido de MeHg, determinable a partir de la aplicación de un método de especiación adecuado, sino que este último siempre será una fracción mayoritaria dentro del primero, con lo que es de esperar que los contenidos observados a través de la aplicación del método de extracción aplicado sean superiores al propio de metilmercurio en el suelo.

Como era de esperar, las mayores concentraciones de Hg orgánico se obtienen en aquellas muestras que presentan un mayor contenido en Hg Total. En la figura 9.29, puede observarse como existe una intensa correlación entre el contenido de Hg Total y Hg Orgánico. Estos resultados son consistentes con aquellos obtenidos por otros autores [24, 26] y demuestran que el contenido en Hg Orgánico está influenciado de una manera notable por el contenido en Hg Total presente en el suelo.

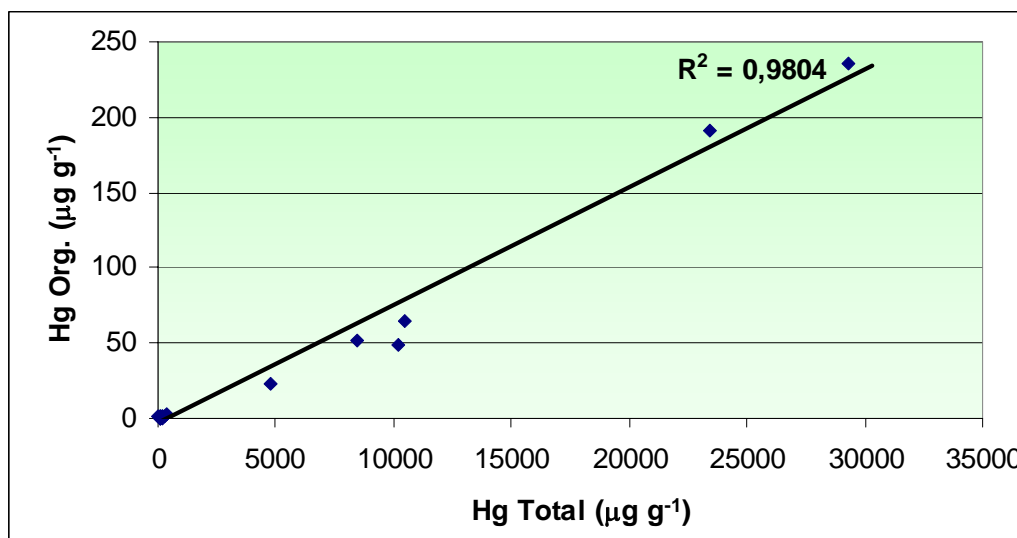


Figura 9.29. Correlación entre las concentraciones de Hg Total y Hg Orgánico en las muestras originales y submuestras granulométricas de los 3 puntos.

No ocurre lo mismo al estudiar la correlación entre el contenido en materia orgánica global y las concentraciones de Hg orgánico observadas en los puntos de muestreo

seleccionados. A pesar de que muchos autores han encontrado que este parámetro, y más concretamente, la concentración de carbono orgánico total (TOC), suele ser determinante en el contenido de metilmercurio en muestras de sedimentos [26, 32], en el caso de las muestras de los suelos del área minera estudiada, no se encontró correlación alguna entre el contenido de Hg orgánico y la materia orgánica global. Sólo entre las submuestras granulométricas del punto 2, que es aquél que presenta mayores diferencias entre los contenidos de materia orgánica (figura 9.9), pudo hallarse una clara correlación entre ambos parámetros ($R^2 = 0,76$).

Algunos autores también han sugerido el hecho de que el Hg elemental presente, puede ser un factor importante en la metilación del mercurio en suelos de áreas mineras. Este, puede propiciar la formación de metilmercurio y otras especies organomercúricas a través de procesos de oxidación, transformándose previamente en especies reactivas de Hg (II), susceptibles de biometilarse a través de la acción bacteriana [12, 27]. La figura 9.30 muestra que existe una fuerte correlación entre el contenido de Hg Elemental, obtenido de la aplicación del método de extracción secuencial propio y el contenido en Hg Orgánico. Esta correlación es consistente con los estudios previamente citados y también con aquellos resultados obtenidos en la aplicación del método de extracción secuencial, según los cuales, en el primer punto de muestreo obteníamos concentraciones altas de Hg Lábil (figuras 9.18, 9.21 y 9.22), fracción que contendrá las especies reactivas de Hg susceptibles de metilación.

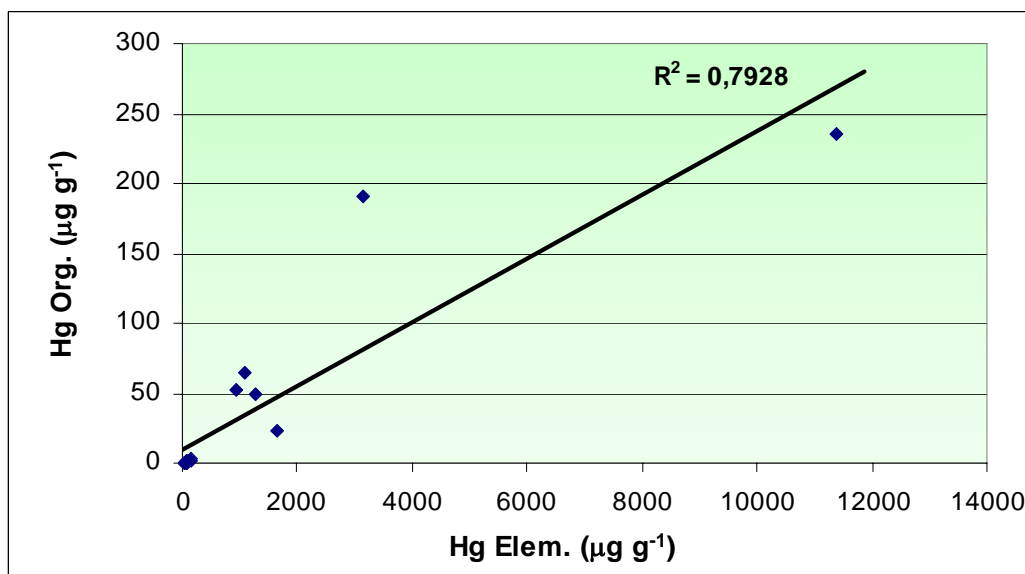


Figura 9.30. Correlación entre las concentraciones de Hg elemental y Hg orgánico en las muestras originales y submuestras granulométricas de los 3 puntos.

En la figura 9.31 se presenta la evolución de los porcentajes de recuperación de Hg orgánico para las submuestras granulométricas de los tres puntos estudiados. Como puede observarse, parece existir una tendencia general a la acumulación del Hg orgánico en las fracciones más finas. Esta tendencia es más clara en el primer punto de muestreo, mientras que en las submuestras de los suelos circundantes a la chimenea (puntos 2 y 3), nos encontramos con porcentajes de recuperación muy similares para las cuatro primeras submuestras (B-E) y una acumulación clara en la más fina (F). A pesar de la diferente naturaleza entre la muestra y submuestras del punto 1 y las de los puntos 2 y 3, los porcentajes de recuperación son similares para los tres puntos de muestreo y en ningún caso superan el 0,9% del Hg Total presente en la muestra, siendo los contenidos en las muestras originales ligeramente inferiores al 0,5% (tabla 9.4). Estos porcentajes son superiores a los encontrados por otros autores en estudios sobre antiguas áreas mineras de Hg [12, 27-29], aunque no llegan a los niveles que pueden alcanzarse en sedimentos, donde en general el contenido en metilmercurio suele representar entre el 1%-1,5% del Hg total llegando a alcanzar en algunos casos concretos el 10%, como ha observado en sedimentos recogidos de ciénagas y lagos [30, 31].

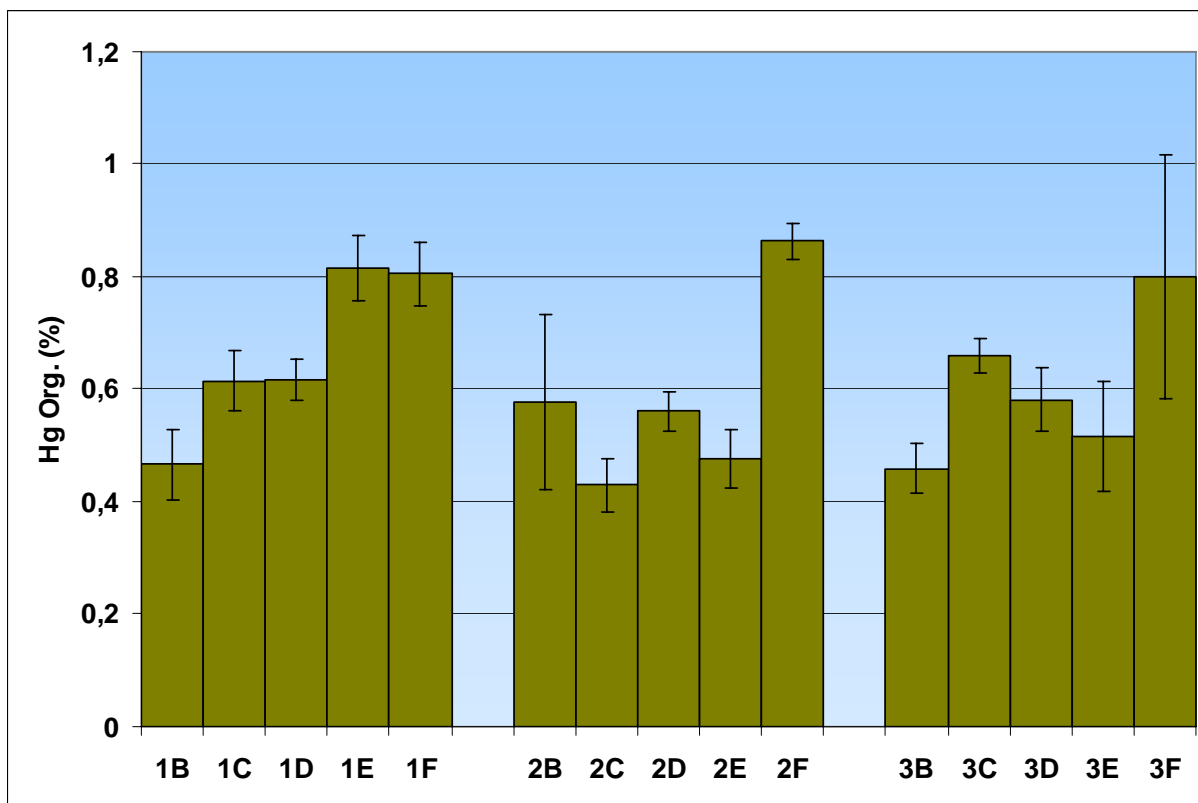


Figura 9.31. Porcentajes de recuperación de Hg Orgánico para las submuestras granulométricas de los tres puntos de muestreo seleccionados. Las barras de error se refieren a tres veces el valor de la desviación típica (n = 4).

9.7. CONCLUSIONES DEL ESTUDIO

- De los métodos de extracción secuencial empleados en este estudio, el método propio se mostró más adecuado para la evaluación de la movilidad del mercurio en los suelos del área muestreada. La mayor selectividad de las etapas de extracción empleadas por este método proporcionó una información más completa sobre la geoquímica del mercurio presente en los suelos. Por el contrario el método EPA 3200, basado fundamentalmente en un esquema de lixiviaciones ácidas, fue incapaz de diferenciar fases presentes que influyen decisivamente en la movilidad y disponibilidad del mercurio. En este sentido, el método de extracción secuencial propio demostró una mayor idoneidad para el estudio del mercurio en estos suelos.
- La concentración de mercurio en los suelos decrece directamente y de una manera uniforme con la distancia a la chimenea. La muestra tomada en la base de la

chimenea empleada para la evacuación de los vapores generados en el procesado pirometalúrgico del mineral presentó un contenido en mercurio muy elevado, mientras que las muestras de los suelos circundantes, siendo aproximadamente equidistantes a la chimenea, presentaron una concentración de mercurio similar entre sí y muy inferior a la encontrada en la fuente.

- El contenido de mercurio en las muestras parece estar relacionado con la presencia de pequeñas partículas de mineral y sobre todo con la dispersión y posterior deposición de las escorias y otros materiales presentes en la chimenea en forma de vapor de mercurio elemental y mercurio particulado.
- La caracterización mineralógica de las muestras, reveló que la zona inmediatamente próxima a la chimenea no corresponde a un auténtico suelo sino a una mezcla de material procedente de su estructura, productos formados durante el tratamiento pirometalúrgico del mineral y un suelo reciente desarrollado sobre estos residuos. Por el contrario en las zonas más alejadas se encuentran auténticos suelos bien desarrollados con un mayor contenido en materia orgánica y una mayor alcalinidad.
- El mercurio presentó una clara tendencia a concentrarse en las fracciones granulométricas más finas. Esta tendencia puede ser explicada en base a la adsorción de vapor de mercurio y mercurio particulado procedente de la chimenea en los minerales arcillosos, así como por la posible fractura de los cristales de cinabrio durante los procesos transporte, manipulación y segregación de las muestras.
- Respecto a la movilidad del mercurio, en el caso de la muestra tomada al pie de la chimenea, las conclusiones derivadas de la aplicación de ambos métodos de extracción secuencial son diferentes en varios aspectos fundamentales. Con el método EPA 3200 se encontró la mayor parte del Hg presente en esta muestra en fracciones de escasa movilidad, asignándolo a la asociación del mismo con sulfuro, inclusiones en silicatos y mercurio elemental. Sin embargo la mayor información proporcionada por el método de extracción secuencial propio, permitió determinar la presencia significativa de Hg asociado a otras fracciones mucho más móviles y

disponibles como son especies reactivas de Hg y óxidos e hidróxidos de Fe y Mn. Estas fracciones fundamentales en el estudio de la movilidad del Hg, en la aplicación del método EPA 3200 quedan englobadas en otras etapas de extracción de Hg presuntamente menos móvil, en cambio, mediante la aplicación del método de extracción secuencial propio pudieron ser cuantificadas. Por tanto, este último método se mostró más adecuado para evaluar la geoquímica y movilidad del Hg en el suelo tomado al pie de la chimenea.

- El Hg presentó un comportamiento similar en los suelos recogidos en las cercanías de la chimenea. En este caso las conclusiones acerca de la movilidad del mismo son similares para ambos métodos de extracción aplicados. Ambos métodos permiten determinar que la mayor parte del Hg se encuentra asociado a las fracciones más inertes presentes en el suelo. En la aplicación del método EPA 3200 se puso de manifiesto de manera más evidente la influencia de los procesos de deposición ácida en los suelos aguas abajo, obteniéndose un porcentaje apreciable de mercurio recuperado en la etapa de extracción de mercurio Móvil. Además, el subfraccionamiento de las muestras de verdaderos suelos mediante el procedimiento de extracción en fase sólida demostró que la mayoría del mercurio movilizado, lo es en forma inorgánica. Sin embargo, nuevamente mediante la aplicación del método de extracción secuencial propio se pudo obtener una información más completa de la geoquímica del Hg en estos suelos, permitiendo establecer que se encuentra asociado principalmente a materia húmica, sulfuro y como Hg elemental.
- El análisis de la distribución de mercurio en las fracciones granulométricas obtenidas de las muestras, demostró la diferente naturaleza de las muestras tomadas en el estudio. En la muestra tomada al pie de la chimenea los contenidos de Hg asociado a las fases más móviles disminuyen con el tamaño de grano, probablemente como consecuencia de las reacciones de la transformación de estas especies y que son favorecidas en las fracciones más finas por su mayor área superficial. Por su parte, en los suelos cercanos a la chimenea, el mercurio presentó un comportamiento globalmente similar. La asociación de Hg a las fases más móviles en estos suelos es prácticamente inexistente, encontrándose este principalmente en la fracción de Hg elemental.

- Los contenidos encontrados de Hg orgánico, aunque porcentualmente suponen una fracción menor del Hg presente, fueron excepcionalmente altos, comparados con los datos encontrados en la bibliografía para otras zonas mineras. Estos contenidos parecen estar fuertemente relacionados con el tamaño de partícula, la concentración de Hg total y el contenido de Hg elemental. En el caso de la muestra tomada al pie de la chimenea, la elevada concentración de Hg reactivo, sugiere la formación de especies organomercúricas, a través de la oxidación del Hg elemental a Hg (II) y posterior metilación de este.
- Por otra parte las conclusiones acerca de la movilización y evolución geoquímica del mercurio en estos suelos no hubieran sido posibles sin una adecuada caracterización química, mineralógica y morfológica de las muestras. Por tanto, una apropiada metodología analítica para el estudio de la movilización y disponibilidad de mercurio en suelos de áreas mineras ha de basarse en la combinación de métodos de extracción secuencial adecuados y una minuciosa caracterización físico-química de los suelos.

9.8. REFERENCIAS

- [1] Loredó J, Ordóñez A, Gallego JR, Baldo C, García-Iglesias C (1999) *J Geochem Explor* 67: 377-390.
- [2] Loredó J, Pereira A, Ordóñez A (2003) *Environ Int* 29: 481-491
- [3] Thornthwaite, C. W. (1948) *Geogr Rev* 38:55-94
- [4] Dory A (1894) *Metall* 32: 145-210
- [5] Aramburu y Zuloaga F (1899). Monografía de Asturias. Oviedo.
- [6] Gutiérrez Claverol M, Luque Cabal C (1994) Recursos del subsuelo de Asturias. Servicio de Publicaciones, Univ. Oviedo. 374 p.
- [7] Luque C (1985) Las mineralizaciones de mercurio en la Cordillera Cantábrica. Tesis Doctoral. E.T.S: Ingenieros de Minas. Univ. Oviedo. 1571 p. Inédita.

- [8] Baldo MC () Impacto ambiental en áreas afectadas por minería antigua de mercurio en el concejo de Mieres (Asturias). Tesis Doctoral. Universidad de Oviedo. Oviedo. España.
- [9] Han Y, Kingston HM, Boylan HM, Rahman GMM, Shah S, Richter RC, Link DD (2003) *Anal Bioanal Chem* 375: 428-436
- [10] Kim CS, Bloom NS, Rytuba JJ, Brown GE Jr (2003) *Environ Sci Technol* 37: 5102-5108.
- [11] Higuera P, Oyarzun R, Biester, H, Lillo J, Lorenzo S (2003) *J Geochem Explor* 80: 95-104
- [12] Gray JE, Hines M, Higuera PL, Adatto I, Lasorsa BK (2004) *Environ Sci Technol* 38: 4285-4292
- [13] Bloom NS, Preus E (2003) 2nd International Symposium on Contaminated Sediments, Ecotoxicology, pages 331-336.
- [14] Schuster E (1991) *Water Air Soil Pollut* 56: 667-680
- [15] Filgueiras AV, Lavilla I, Bendicho C (2002) *J Environ Monit* 4: 823-857
- [16] Stein ED, Cohen Y, Winer AM (1996) *Crit Rev Environ Sci Technol* 26: 1-43
- [17] CDM (Camp Dresser & McKee) (1992) *Risk Assessment, Almaden Quicksilver County Park: Final Report*. (CDM, Denver, CO).
- [18] Giulio RT, Ryan EA (1987) *Water Air Soil Pollut* 33: 205-219.
- [19] Breward N, Peachey D (1983) *Sci Total Environ* 29: 155-162
- [20] Gupta S, Chen K (1975) *Environ Lett* 10: 129-158.
- [21] Biester H, Müller G, Schöler HF (2002) *Sci Total Environ* 284: 191-203.
- [22] Fitzgerald WF, Lyons WB (1973) *Nature* 242: 452-453.
- [23] Avena MJ, Luuk K, Koopal LK (1999) *Environ Sci Technol* 33: 2739-2744
- [24] Bloom NS, Preus E, Katon J, Hiltner M (2003) *Anal Chim Acta* 479: 233-248.
- [25] Andersson A (1979) In: Nriagu JO, editor *Elsevier/North Holland Biomedical Press*, pages 79-112.
- [26] Shi J, Liang L, Jiang G, Jin X (2005) *Environ Int* 31: 357-365.
- [27] Gray JE (2004) Geological Society of America, *Abstracts with Programs*, Vol. 36, No. 5, p. 125.

- [28] Bailey EA (2001) Geological Society of America, *Paper No. 151-0*.
- [29] Rytuba JJ (2000) *Sci Total Environ* 260: 57-71.
- [30] Gilmour CC, Henry EA, Mitchell R (1992) *Environ Sci Technol* 26: 2281-2287.
- [31] Ullrich SM, Tanton TW, Abdrashltova SA (2001) *Crit Rev Environ Sci Technol* 31: 241-293.
- [32] Canario J, Vale C, Caetano M (2003) *Ciencias Marinas* 29: 535-545

- Se ha logrado desarrollar una nueva metodología específica para el estudio de la distribución y fraccionamiento del Hg en muestras sólidas medioambientales, basada en un procedimiento de extracción secuencial en cinco etapas, que comprenden las fracciones más relevantes del Hg presente en este tipo de muestras. A su vez, su simplicidad en cuanto a procedimientos y material necesario para su aplicación, permite que el método pueda ser empleado en la mayoría de laboratorios analíticos convencionales.
- Los ensayos previos de extracción de Hg con HCl y HNO₃, empleados con frecuencia en esquemas de extracción secuencial, demostraron que la solubilidad de las distintas especies de Hg en ambos reactivos está intensamente afectada por la presencia de otros compuestos. Estos ensayos permitieron establecer una serie de especies habitualmente presentes en suelos y sedimentos, que son capaces de promover la extracción de HgS en HCl y en HNO₃. En este sentido, los resultados obtenidos con suelos de áreas mineras demostraron que el HCl presenta efectos de matriz más acusados que el HNO₃. Adicionalmente, se puso de manifiesto que el uso de condiciones de extracción enérgicas (fundamentalmente temperatura elevada) aumenta de forma notable la extracción de las especies más insolubles de Hg en presencia de los compuestos críticos, lo que puede conducir a una interpretación errónea de los resultados obtenidos de la aplicación de métodos de extracción secuencial. De esta forma, las conclusiones de estos ensayos aconsejaron evitar el empleo de HCl como medio de extracción en las etapas previas, a la vez que resulta conveniente utilizar condiciones experimentales más suaves a la hora de aplicar alguno de estos ácidos como medio extractante.
- Los estudios de optimización del método de extracción secuencial desarrollado demostraron que las cinco etapas propuestas presentan una elevada selectividad para extraer las fracciones de Hg deseadas, mostrando una gran concordancia entre los resultados obtenidos en su aplicación y aquellos esperados. Análogamente, la aplicación secuencial de las mismas es posible sin implicar un elevado grado de interferencia mutua entre unas y otras. Únicamente se detectaron interferencias relevantes en la aplicación de la etapa de extracción de especies lábiles de Hg, en la cual se puso de manifiesto que ocurría una coextracción de un porcentaje

significativo de los óxidos de Mn. Especialmente, se comprobó que las especies de Hg más insolubles, tales como el Hg unido a sulfuro, usualmente mayoritarias en muestras de suelos y sedimentos, no se extraen en grado significativo en las primeras etapas.

- En comparación con otros métodos similares empleados comúnmente con el mismo fin, la nueva metodología establece un fraccionamiento más profundo y más específico de las formas de Hg presentes. De esta manera, es posible obtener una información más completa acerca del comportamiento y la geoquímica del Hg respecto a otros métodos. Los diversos estudios de correlación efectuados mostraron el grado de concordancia entre las distintas fracciones operacionalmente definidas de los métodos comparados, encontrándose, en general, una buena concordancia entre los contenidos de Hg recuperados en la última etapa de cada método, demostrando que la fracción más insoluble suele permanecer en gran parte inalterada durante la aplicación de las diferentes etapas de extracción. El resto de fracciones presentan una correlación entre sí mucho menos marcada, lo que indica que posiblemente en estas fracciones las especies de Hg lixiviadas no coinciden.
- Se ha desarrollado una metodología para la determinación de la fracción orgánica de Hg en suelos y aguas basada en un procedimiento de extracción simple con CuBr_2 y CH_2Cl_2 . El método propuesto para este fin es compatible con la determinación del Hg extraído en el analizador específico DMA-80 y presenta, entre otras ventajas, su gran rapidez, que hace innecesaria la realización de etapas adicionales empleadas en otros métodos para evitar interferencias comunes a esta determinación, y su simplicidad, que permite lograr una adecuada evaluación cuantitativa del Hg orgánico presente sin necesidad de emplear equipos altamente sofisticados.
- La aplicación a muestras de suelos y sedimentos de los métodos desarrollados (extracción secuencial y fracción orgánica de Hg), en combinación con una adecuada caracterización morfológica, mineralógica y físico-química de los mismos, permite lograr un conocimiento adecuado de la movilidad, distribución y geoquímica del Hg, y establecer conclusiones sobre su comportamiento en este tipo de muestras medioambientales.

- Este modelo de estudio se aplicó con éxito a suelos de dos zonas mineras históricas de cinabrio en España. Los resultados mostraron la capacidad de estas metodologías, permitiendo estimar los contenidos de Hg en las fracciones más relevantes de estos suelos y relacionarlos con las características principales de los mismos.
- Los suelos estudiados del área minera de Almadén mostraron una distribución mayoritaria de Hg en las fracciones más insolubles en todos los horizontes, no apareciendo concentraciones significativas del mismo en las fracciones más móviles. A su vez, la aplicación del método de determinación de Hg orgánico permitió detectar la presencia de especies organomercuriales en estos suelos en concentraciones significativas.
- La aplicación de estas metodologías a muestras de una pila de calcinación y de suelos circundantes de una antigua zona minera de Asturias, mostró un comportamiento diferente del Hg en las mismas. En la pila de calcinación aparecieron concentraciones muy elevadas de Hg asociado a las fracciones más móviles, mientras que en los suelos circundantes la mayoría del Hg se distribuyó en las fracciones menos solubles, al igual que ocurrió en los suelos analizados de Almadén estudiados. A su vez, en todas las muestras se detectaron concentraciones excepcionalmente elevadas de Hg orgánico, cuyos contenidos parecen estar relacionados con las concentraciones de Hg total y Hg elemental en las muestras.

PUBLICACIONES REALIZADAS A LO LARGO DE LOS ESTUDIOS DE LA PRESENTE TESIS DOCTORAL

- Fernández-Martínez R, Loredó J, Ordóñez A, Rucandio MI (2006) “*Physicochemical characterization and mercury speciation of particle-size soil fractions from an old mining area in Mieres, Asturias (Spain)*”. Environmental Pollution, 142: 217-226.
- Fernández Martínez R, Rucandio MI, Ordóñez Alonso A, Loredó Pérez J (2005) “*Geoquímica y distribución del mercurio en suelos de una Antigua explotación de cinabrio en el terronal, Mieres (Asturias)*”. Editorial CIEMAT, ISBN 84-7834-509-4, 62 páginas.
- Fernández-Martínez R, Rucandio MI, Loredó J, Ordóñez A (2005) “*Distribution And Mobility Of Mercury In Soils From An Old Mining Area In Mieres, Asturias (Spain)*”. The Science of the Total Environment, 346: 300-312.
- Fernández-Martínez R, Rucandio MI (2005) “*Study of the suitability of HNO₃ and HCl as extracting agents of mercury in soils from cinnabar mines*”. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 381: 1499-1506.
- Loredó J, Ordóñez A, Fernández-Martínez R, Rucandio MI (2005) “*Biodisponibilidad de mercurio en suelos contaminados por explotaciones mineras*”. En Libro: “*V Congreso Ibérico de Geoquímica. IX Congreso de Geoquímica de España. 20-23 Septiembre 2005.SORIA*”. ISBN: 84-95099-88-8, pp. 200-212.
- Loredó J, Ordóñez A, Galán MP, Fernández-Martínez R, Álvarez R, Olay A, Petit MD, Fernández RM, Marín S, González MM, Rucandio MI (2005) “*Surface Water Monitoring In Abandoned Mercury Mine Sites In Asturias (Spain): Comparative Studies*”. En “*IMWA '05. Mine closure*”. ISBN: 84-689-3415-1, pp. 595-601.
- Fernández-Martínez R, Galán MP, Petit MD, Ordóñez A, Loredó J, Rucandio MI (2005) “*A Rapid And Robust Method For The Organic Mercury Determination In*

Hg Mine Waters". En *"IMWA'05. Mine closure"*. ISBN: 84-689-3415-1, pp. 655-660.

- Fernández-Martínez R, Rucandio MI (2005) *"Determination of Methylmercury in soils by a simple extraction process and direct mercury analysis with DMA-80"*. En *"ICHMET"*. ISBN: CDD 363.1791, pp. 64.
- Fernández-Martínez R, Sanz VF, Alonso C, Gómez LV, Fernández RM, Rucandio MI (2004) *"Study of the suitability of different extracting agents of mercury species"*. *RMZ - Materials and Geoenvironment*, 52: 1908-1912.
- Fernández-Martínez R, Rucandio MI (2003) *"Study of the extraction conditions for the quantitative determination of Hg bound to sulphide in soils from Almaden (Spain)"*. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 375: 1089-1096.
- Fernández-Martínez R, Rucandio MI, Fernández RM, Sanz VF, Alonso C, Gómez LV (2003) *"Comparison of two sequential extraction methods for mercury speciation"*. En *"CSI XXXIII"*. ISSN: 84-338-3017-1, pp. 649-650.