



**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
ANALÍTICA
FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CÁDIZ**

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
ANALÍTICA
FACULTAD DE QUÍMICA
UNIVERSIDAD DE LA HABANA**

TESIS DOCTORAL

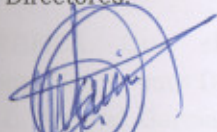
**APLICACIÓN DE MÉTODOS DE
PRECONCENTRACIÓN/DETERMINACIÓN DE METALES
PESADOS EN SEDIMENTOS Y AGUAS: MEMBRANAS
LÍQUIDAS-ESPECTROSCOPIA ATÓMICA Y VOLTAMETRÍA DE
REDISOLUCIÓN**

FÉLIX CALIXTO DOMÍNGUEZ LLEDÓ

2006

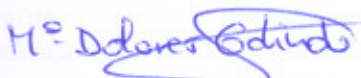
**APLICACIÓN DE MÉTODOS DE
PRECONCENTRACIÓN/DETERMINACIÓN DE
METALES PESADOS EN SEDIMENTOS Y AGUAS:
MEMBRANAS LÍQUIDAS-ESPECTROSCOPIA
ATÓMICA Y VOLTAMETRÍA DE REDISOLUCIÓN**

Los Directores:



**Dr. Manuel García
Vargas**

*Catedrático de
Universidad del
Departamento de
Química Analítica
de la Universidad
de Cádiz*



**Dra. María
Dolores Galindo
Riaño**

*Titular de
Universidad del
Departamento de
Química Analítica
de la Universidad
de Cádiz*



**Dra. Isabel
Cristina Díaz
López**

*Profesor Titular
Vicerrectora de
Relaciones
Internacionales
de la
Universidad de
la Habana*

Memoria presentada por
Félix Calixto Domínguez Lledó
para optar al Grado de
Doctor en Ciencias y Tecnologías Químicas.



Fdo: Félix Calixto Domínguez Lledó

Dr. D. JOSE LUIS HIDALGO HIDALGO DE CISNEROS, PROFESOR TITULAR DE UNIVERSIDAD Y DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA DE LA UNIVERSIDAD DE CÁDIZ

CERTIFICA: Que el presente trabajo, realizado íntegramente en los laboratorios de este Departamento bajo la dirección conjunta de los Profesores Dr. D. Manuel García Vargas, Dra. Dña. María Dolores Galindo Riaño y Dra. Dña Isabel Cristina Díaz López, reúne las condiciones exigidas para optar al Grado de Doctor en Ciencias y Tecnologías Químicas.

Y para que conste, expido y firmo el presente certificado, en Puerto Real a 25 de Octubre de 2006.



Fdo: Jose Luis Hidalgo Hidalgo de Cisneros
DEPTO. DE QUÍMICA ANALÍTICA

Los trabajos de investigación presentados en esta Memoria han sido realizados gracias a la financiación recibida a través de las siguientes instituciones:

- Junta de Andalucía a través de: Consejería de Presidencia y Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa (Plan Andaluz de Investigación).
- Diputación de Cádiz.
- Agencia Española de Cooperación Internacional (AECI).
- UNICAJA.
- Oficina de Relaciones Internacionales de la Universidad de Cádiz.
- Vicerrectorado de Ordenación Académica e Innovación Educativa de la UCA.
- Vicerrectorado de Investigación, Desarrollo e Innovación Tecnológica de la UCA.
- Facultad de Ciencias de la Universidad de Cádiz.
- Grupos de Investigación participantes en el Programa de Doctorado Conjunto.
- Consejo Andaluz de Universidades (AUIP).

Quiero dedicar algunas palabras de agradecimiento a todas aquellas personas que de una forma u otra han contribuido a la realización del trabajo que aquí se presenta:

A mis directores de tesis doctoral por la UCA, Dr. Manuel García Vargas y Dra María Dolores Galindo Riaño por su apoyo y dedicación en mi formación como investigador en la Universidad de Cádiz, y sin cuyos extensos conocimientos científicos no se hubiera podido llevar a cabo la presente Tesis doctoral.

A mi directora de tesis doctoral por la UH, Dra. Cristina Díaz, por su apoyo incondicional y sus útiles consejos, sin cuya ayuda no habría sido posible que este trabajo llegara a feliz término.

Para poder hacer una justa valoración de este programa de colaboración hay que agradecer al antiguo equipo de gobierno de la UCA, muy especialmente al Dr. Guillermo Martínez Massanet, Excmo. Sr. Rector en ese momento por el entusiasmo con que acogió esta hermosa idea, de igual modo al entonces equipo de gobierno de la Facultad de Ciencias encabezado por su Decano Ilmo. Sr. Dr. José María Rodríguez Izquierdo que no sólo aceptó el reto, sino que puso todo su empeño para que esta actividad pudiera concretarse a pesar de las dificultades que hubo que sortear para lograr la convergencia de los dos modelos de doctorado vigentes en ambas Universidades. Al actual equipo de gobierno, tanto en la UCA como en la Facultad de Ciencias, en particular al Decano de la Facultad de Ciencias Ilmo. Sr. Dr. Francisco Antonio Macías Domínguez y al Director de Relaciones Externas Sr. Dr. José Manuel Gómez Montes de Oca, por haber mantenido el mismo entusiasmo y disposición de trabajo.

A la Dra. María Dolores Granado Castro, por su amistad, colaboración, apoyo y enseñanzas, sin la cual este trabajo hubiese sido aún más difícil.

AGRADECIMIENTOS

Al Lic. Antonio Benitez Rodríguez, por su inestimable ayuda en la medición de las muestras, así como por sus útiles y oportunos consejos.

A mi amigo Dr. Miguel Milla González por su sincera amistad y por todas las atenciones recibidas de su parte.

A todos mis amigos del grupo de Geoquímica Marina: Juanjo, Carolina, Juan Pinto, Estrella, Gema, Clara y Dr. Carlos Moreno Aguilar; así como a mis amigos marroquíes Hafida, Abdellah y Mustafa; por la ayuda recibida y los buenos momentos compartidos con todos ellos.

También se hace necesario hacer mención de las atenciones recibidas por parte de todo el personal de la Facultad (profesores, administrativos, técnicos, auxiliares de laboratorio, consejería, cafetería, copistería, etc) y muy especialmente a todo el personal del Departamento de Química Analítica, por el calor humano y apoyo prestado en todo momento.

A mi Decana Dra. Leslie Yañez y a mi Directora de Departamento MSc. Magaly Guerra, en la UH, por haberme permitido participar en este proyecto conjunto.

A la Dra. Nancy Martínez Alfonso que jugó un papel muy importante en el aseguramiento del transporte para la toma de muestras.

A la Lic. Ana Cecilia y a la Lic. Bárbara Luna que me permitieron medir las muestras en el equipo de Absorción Atómica del CENIC a pesar de la carga de trabajo que ellas tienen.

Al colectivo del CIMAB por haberme acogido como un trabajador más, muy especialmente a la Lic. Marta Ramírez por su ayuda incondicional. Al Lic. Beltrán, por haberme ofrecido las instalaciones del centro y haber confiado en mí al permitirme el uso de la draga.

Al Dr. Humberto González por sus útiles consejos para el establecimiento de los puntos muestreo.

Al Dr. Santana, al Dr. Lima y al resto del colectivo de Absorción Atómica del ISCTN, por la ayuda prestada en la medición de las muestras.

Al Lic. Otilio Beato por facilitarme los datos de lluvia de la Ciudad de la Habana.

Al Grupo de Trabajo Estatal para el Saneamiento, Conservación y Desarrollo de la Bahía de la Habana por permitirme usar una de sus embarcaciones para la toma de muestras.

A mi adorada esposa que en todo momento confió en mí y siempre me alentó a seguir adelante.

A mis hijas y nieta que han sufrido mi ausencia.

A todos muchas gracias.

A

***MIS PADRES, QUE
DESAFORTUNADAMENTE
NO PUDIERON VER ESTE DÍA.***

Los trabajos descritos en la presente Memoria se encuentran recogidos en las siguientes publicaciones y comunicaciones a Congresos:

PUBLICACIONES:

- Caracterización química y de fases de los sedimentos del río Martín Pérez; F.C. Domínguez, J. Rodríguez, C. Díaz, R. Pomés; Revista CENIC, Ciencias Químicas, Vol.32, No. 3, Pag. 129-133, 2001.
- Chemical and Phase Characterization of Sediments of the Martín Pérez River; Félix C. Domínguez, Joelís Rodríguez, Cristina Díaz and Ramón Pomés; Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy, Vol. 47, No. 3, Pag. 60-65, 2002.
- Estudio de la contaminación por metales pesados de los sedimentos del río Martín Pérez, mediante el método de extracción secuencial en tres etapas. Comunicación Corta, F.C. Domínguez, J. Rodríguez, C. Díaz, R. Pomés; Revista Cubana de Química, ISBN: 959-207-083-0, QMA-P1, 2002.
- Studio sulla qualità delle acque di un fiume in ambito urbano, Il Río Martín Pérez a L'Havana; Olimpia L. Arias de Fuentes, Luigi Campanella, Paolo Contucci, Félix Calixto Domínguez Lledó, Rossella Grossa, Mario Vincenzo Russoc; Ambiente Risorse Salute No. 97 de Maggio/Giugno, Pag. 47-50, 2004.

COMUNICACIONES A CONGRESOS:

- Caracterización fisico-química de los sedimentos del río Martín Pérez; Felix C. Domínguez, J. Rodríguez, Cristina Díaz y Ramón Pomés; XIII Seminario Científico del Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Ciudad Habana, Cuba, 27-30 de Junio de 2000.

- Aplicación del esquema de extracción secuencial en tres etapas a los sedimentos del río Martín Pérez; F.C. Domínguez y C. Díaz; V Simposio Centroamericano y del Caribe de Química Analítica Ambiental y Sanitaria, Universidad de la Habana, Ciudad Habana, Cuba, Noviembre/2000.
- Especiación y caracterización de los sedimentos del río Martín Pérez; F.C. Domínguez, C. Díaz, J. Rodríguez y R. Pomés; IV Congreso Internacional de Química, Palacio de las Convenciones, Ciudad Habana, Cuba, 16-20 de Abril de 2001.
- Estudio de la contaminación por metales pesados de los sedimentos del río Martín Pérez, mediante el método de extracción secuencial en tres etapas; F.C. Domínguez, J. Rodríguez, C. Díaz, y R. Pomés; XVII Conferencia de Química, Universidad de Oriente, Ciudad Santiago de Cuba, Cuba, 4-6 de Diciembre de 2002.
- Development of a liquid membrane for the enrichment and separation of nickel from aqueous solutions; F.C. Domínguez Lledó, M.D. Galindo Riaño, C. Díaz López and M. García Vargas; Euroanalysis XIII, Salamanca, España, 5-10 de Septiembre de 2004.
- Aplicación de la 2-Acetilpiridina Benzoilhidrazona como transportador en una membrana líquida para la separación y preconcentración de iones metálicos en aguas naturales; M.D. Granado, M.D. Galindo Riaño, F.C. Domínguez Lledó, C. Díaz López, M. García Vargas; GRASEQA 2006, Cádiz, España, 8-9 de Junio de 2006.

OBJETIVOS

El agua, elemento básico para la vida, es un recurso irremplazable, irregular en su forma de presentarse en el tiempo y en el espacio, fácilmente vulnerable y susceptible de usos sucesivos. El agua constituye así mismo un recurso que se renueva a través del ciclo hidrológico. Actualmente, a nivel mundial, se ha constituido en un recurso estratégico por su escasez y contaminación, ya que factores como los cambios climáticos y el inadecuado manejo de los vertimientos de residuales, han puesto en crisis su disponibilidad y calidad.

Desde el desarrollo de la industria, el hombre ha intentado eliminar los posibles agentes contaminantes de los medios naturales, los esfuerzos para lograrlo han debido ir creciendo a lo largo del tiempo debido a que, cada vez más, se han incrementado los productos residuales vertidos, responsables del aumento progresivo de la contaminación. La aparición de grandes núcleos urbanos industriales y de población, junto con el uso creciente de abonos y plaguicidas en la agricultura influye notablemente en el deterioro de la calidad de las aguas naturales. Una consecuencia de esto es la transformación de ríos, lagos y costas en sumideros de aguas residuales.

Para proponer soluciones es necesario entender adecuadamente las posibles causas y fuentes de contaminación, siendo por tanto imprescindible, entre otros, el conocimiento de las características físico-químicas y biológicas del ecosistema acuático, así como su evolución.

Dentro de los contaminantes hay que diferenciar dos tipos: aquellas sustancias que no se consideran tóxicas, sino que tan sólo producen un mal olor y dan color al agua, sin llegar a ser directamente peligrosas para el hombre; y por otro lado, aquellas sustancias que, sin embargo,

sí son causantes de graves daños, y entre las que se encuentran los compuestos aromáticos policíclicos, pesticidas, material radioactivo y metales pesados.

El grupo de los metales es importante por dos aspectos fundamentales: en primer lugar porque, a diferencia de la mayoría de los contaminantes orgánicos, éstos no son eliminados de los ecosistemas acuáticos por procesos naturales y en segundo lugar debido a que la mayoría de los metales se ven enriquecidos en minerales y en sustancias orgánicas que de una u otra manera llegan al agua.

El análisis de trazas metálicas, del orden de nanomoles, en ecosistemas acuáticos implica el uso de métodos analíticos con alta sensibilidad y selectividad, siendo normalmente necesaria la preconcentración y/o separación de los analitos como paso previo al análisis. Por ello, las técnicas de separación se convierten en pieza clave en este tipo de metodología. Las técnicas de separación abarcan un amplio espectro que se extiende desde los simples procesos de precipitación, destilación, extracción,... hasta las más avanzadas técnicas cromatográficas. Estas técnicas se basan en diferentes fundamentos físico-químicos, pero tienen de común la transferencia de masa que se realiza entre, al menos, dos fases distintas, así como los objetivos principales de alcanzar una mayor selectividad en la separación y eficacia o cuantitatividad del proceso. Cabe destacar que, en los últimos años, la cromatografía, la extracción con disolvente, la electroforesis capilar y la tecnología de membranas de separación son las técnicas en mayor crecimiento.

El uso de membranas líquidas es una nueva alternativa para la separación y concentración de iones metálicos. Esta tecnología combina la extracción con disolventes con un proceso de redisolución en un único paso. En general, una membrana es una barrera semipermeable que cuando se sitúa entre dos fases acuosas permite que las especies químicas la atraviesen desde la región de mayor concentración a la de menor por un simple proceso de difusión. Además, el proceso de transporte puede facilitarse por la presencia de

un extractante o agente transportador en la membrana. El poder de separación de las membranas líquidas se relaciona con la eficacia de un posible agente transportador presente en ésta, y con la configuración de la membrana líquida. Las membranas líquidas de volumen (MLV) y las membranas líquidas soportadas (MLS) son las más apropiadas para su aplicación analítica, debido a su simplicidad y facilidad de manejo, además de tener, en el caso de las membranas de volumen, altos factores de preconcentración.

Por otro lado, aunque la presencia de contaminación en agua por metales pesados ha dado origen a numerosos estudios, debido a su toxicidad y a los efectos acumulativos en los seres vivos, la mayoría de los trabajos se refieren a la concentración total del metal. Sin embargo, los iones metálicos pueden encontrarse en una amplia variedad de formas químicas que se diferencian, no sólo por sus propiedades físicas y químicas, sino porque pueden poseer diversas actividades tóxicas sobre los organismos vivos.

Para describir esta distribución de los elementos en sus posibles diferentes formas químicas, se ha introducido el término de **especiación**, definiéndose como el proceso de diferenciación de las concentraciones de las distintas formas físico-químicas individuales en las que se encuentra un determinado elemento en una muestra (Parthasarathy, 2001).

De forma general, la especiación medioambiental presenta problemas de complejidad de muestras, además, la naturaleza y el origen de ésta condicionan el proceso de especiación. La falta de uniformidad de los esquemas propuestos en la bibliografía hace que no puedan ser aplicados con igual resultado a diferentes muestras.

La complejidad de las muestras obliga a un fraccionamiento previo de acuerdo a propiedades físicas y/o químicas basado en esquema de especiación. Cada proceso de fraccionamiento es diferente, y debe elegirse la técnica adecuada al mismo (centrifugación, filtración, diálisis etc.) atendiendo al tipo de muestra y estudios a realizar. Estos esquemas separan las especies químicas, o grupos de especies

químicas, según su tamaño, carga, grado de oxidación o fuerza de enlace.

En función de lo expuesto, los objetivos que se han tratado de alcanzar en el presente trabajo, encuadrados dentro de la línea de investigación prioritaria que desarrolla el grupo de investigación de la UCA, Geoquímica Marina, dedicada a la Química Analítica de los metales pesados y su aplicación en el medio ambiente, son los que a continuación se detallan:

1. Desarrollo de nuevas metodologías de análisis de metales pesados basados en la utilización de membranas líquidas para la separación y/o preconcentración de metales pesados a nivel de trazas en muestras de agua natural.
 - Estudiar el empleo de la 2-Acetilpiridina Benzoilhidrazona (2-APBH) como agente transportador de Ni en un sistema de MLV y su aplicación en aguas naturales.

2. Aplicación de la Química Analítica en estudios de impacto medioambiental evaluando la evolución de los niveles metálicos totales en las aguas y su especiación química en los sedimentos.
 - Evaluación de los sedimentos y las aguas del Río Martín Pérez y la Ensenada de Guasabacoa, con objeto de determinar el estado actual de estos ecosistemas y diferenciar en los sedimentos las formas químicas de los metales pesados presentes a nivel de trazas, en especial los metales de carácter tóxico (Cd, Cu, Ni, Pb, y Zn), en orden a estudiar su movilidad.

ÍNDICE

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN: LOS METALES PESADOS EN EL MEDIO AMBIENTE

I.1. Metales pesados en los ecosistemas acuáticos	8
I.1.1. Origen de los metales pesados en el medio acuático	8
I.1.2. Distribución de metales pesados en el medio acuático	14
I.1.3. Sumideros de metales pesados en el medio acuático	18
I.2. Carácter ecotoxicológico de los metales pesados en aguas naturales	20
I.2.1. Metales tóxicos asociados a actividades antropogénicas	30

CAPÍTULO II. METODOLOGÍA DE ANÁLISIS DE METALES PESADOS EN AGUAS

II.1. Métodos de análisis de metales pesados en muestras acuosas medioambientales	37
II.2. El níquel, principales características y aplicaciones	41
II.2.1. El elemento níquel	41
II.2.2. Características principales del níquel	43
II.2.3. Transporte y distribución en el medio ambiente	47
II.2.4. Ecotoxicología del níquel	49
II.3. Métodos de determinación de níquel en muestras acuosas	51
II.3.1. Métodos de determinación sin etapa previa de preconcentración	53
II.3.1.1. Determinación por Técnicas Voltamperométricas	53
II.3.1.2. Determinación por Espectroscopía Atómica	65
II.3.1.3. Determinación por Espectroscopía de absorción molecular UV-Visible	67
II.3.1.4. Determinación por Espectroscopía de Luminiscencia Molecular	69

II.3.2.Métodos de determinación con etapa previa de preconcentración	70
II.3.2.1.Preconcentración por extracción líquido-líquido	70
II.3.2.1.1.Extracción líquido-líquido con ditiocarbamatos	71
II.3.2.1.2.Extracción líquido-líquido con oximas	76
II.3.2.1.3.Extracción líquido-líquido con hidrazonas	77
II.3.2.2.Preconcentración por extracción sólido-líquido	78
II.3.2.2.1.Extracción sólido-líquido con ditiocarbamatos	79
II.3.2.2.2.Extracción sólido-líquido con oximas	80
II.3.2.2.3.Extracción sólido-líquido con 1-(2-piridilazo) 2-naftol (PAN)	81
II.3.2.2.4.Extracción sólido-líquido con 8-hidroxiquinolina	83
II.3.2.2.5.Extracción sólido-líquido con calmagita	84
II.3.2.3. Preconcentración por intercambio iónico	85
II.3.2.3.1.Empleo de Resina Chelex-100	85
II.3.2.3.2.Empleo de Resina Muromac A-1	86
II.3.2.3.3.Empleo de Sílice modificada	87
II.3.2.3.4.Empleo de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> inmovilizada en sepiolita	88
II.3.2.4.Preconcentración por técnicas electroquímicas: electrodeposición	89
II.3.2.5.Preconcentración por flotación	90
II.3.2.6.Preconcentración mediante el empleo de membranas líquidas	91

CAPÍTULO III. MEMBRANAS LÍQUIDAS PARA LA PRECONCENTRACIÓN-SEPARACIÓN DE METALES TRAZA EN AGUAS

III.1. Introducción	95
III.1.1.Tipos de membranas líquidas	97
III.1.1.1.Configuración de membrana líquida de volumen	99

III.1.1.2. Configuración de membrana líquida de emulsión	99
III.1.1.3. Configuración de membrana líquida soportada	100
III.1.2. Transporte de especies en una membrana líquida	101
III.1.2.1. Transporte asistido: agentes transportadores	103
III.1.3. Aplicaciones de las membranas líquidas en análisis de metales traza en aguas naturales	114
III.2. Parte experimental	119
III.2.1. Sistema de membrana líquida empleado	119
III.2.2. Selección de la membrana líquida de volumen	122
III.2.2.1. Disolvente orgánico de la membrana líquida	122
III.2.2.2. Agente transportador	123
III.2.3. Características y síntesis del reactivo transportador: 2-APBH	129
III.2.3.1. El compuesto 2-APBH	129
III.2.3.2. Síntesis de la 2-APBH	130
III.2.3.3. Propiedades de la 2-APBH	131
III.2.4. Características de la fase cargada y la fase receptora	138
III.2.5. Procedimiento de preconcentración de níquel mediante membrana líquida	139
III.2.6. Optimización de la metodología propuesta para la preconcentración de níquel	142
III.2.6.1. Diseños multivariantes secuenciales: El método SIMPLEX	143
III.2.6.2. Variables de estudio en el SIMPLEX aplicado	148
III.2.6.3. Evaluación de la eficacia del proceso de transporte en el sistema de membrana líquida empleado	149
III.2.6.4. Resultados del proceso de optimización	152
III.2.7. Recuperación de níquel en la membrana líquida diseñada	159
III.2.8. Efecto de la salinidad de la fase cargada en la recuperación de níquel	160
III.2.9. Eficacia del transporte en la membrana líquida para diferentes concentraciones de metal (Ni)	163
III.2.10. Reproducibilidad del método	165

III.2.11.Ruido químico del método: Límite de preconcentración	166
III.2.12.Procedimiento propuesto para la preconcentración	168
III.2.13.Validación de la metodología propuesta	169
III.2.14.Aplicación de la metodología de membrana líquida propuesta a muestras reales: determinación de Ni en muestras de agua del río Martín Pérez (Cuba)	171
III.2.15.Conclusiones y perspectivas futuras	173

CAPÍTULO IV. EVALUACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN METÁLICA EN MUESTRAS DEL RÍO MARTÍN PÉREZ Y LA BAHÍA DE LA HABANA

IV.1.Introducción	177
IV.1.1.Características de la zona de estudio	178
IV.1.2.Metodología de análisis de metales pesados en muestras de ecosistemas acuáticos	185
IV.1.2.1.Métodos de análisis de metales en aguas	185
IV.1.2.2.Métodos de análisis de metales en sedimentos: Especiación metálica	185
IV.1.2.2.1.Procedimientos de análisis para especiación	190
IV.1.2.2.2.Técnicas instrumentales utilizadas en especiación	195
IV.1.2.2.3.Análisis Complementarios	199
IV.2.Parte experimental	200
IV.2.1.Material y métodos	200
IV.2.1.1.Equipos	200
IV.2.1.2.Reactivos y disoluciones	202
IV.2.1.3.Condiciones de trabajo: técnicas de ultralimpieza y mantenimiento del material	206
IV.2.2.Toma de muestra	209

IV.2.3.Análisis de las muestras de sedimento	214
IV.2.3.1.Tratamiento previo	214
IV.2.3.2.Contenido en materia orgánica, humedad y carbonatos en los sedimentos	217
IV.2.3.3.Análisis por difracción de Rayos X	218
IV.2.3.4.Espeiación metálica de los sedimentos	223
IV.2.4.Análisis de las muestras de agua	239
IV.2.4.1.Análisis in situ	239
IV.2.4.2.Tratamiento previo de las muestras de agua	240
IV.2.4.3.Contenido metálico de las muestras de agua	242
IV.2.4.3.1.Análisis por ICP-MS	243
IV.2.4.3.2.Análisis por Voltametría de redisolución	248
IV.2.5.Conclusiones y perspectivas futuras	259
CONCLUSIONES	261
BIBLIOGRAFÍA	267

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN: LOS METALES PESADOS EN EL MEDIO AMBIENTE

Los metales pesados forman parte de nuestro planeta. Todos aquellos susceptibles de presentar problemas en términos de contaminación ambiental existen en pequeñas cantidades, de forma geológica natural, en rocas, suelos, aguas y aire. La concentración en suelos y rocas es muy superior a la concentración en agua, y generalmente mayor que la concentración en la biomasa. Estos metales se encuentran en el agua en una forma química relativamente disponible para los seres vivos, mientras que los elevados contenidos en rocas y suelos son generalmente insolubles.

La contaminación del medio ambiente por metales tóxicos iniciada hace aproximadamente unos 6000 años, ha aumentado mucho últimamente. En el planeta existe escasez de lugares que se puedan considerar totalmente exentos de contaminación metálica. Un ejemplo de ello es que estudios realizados recientemente han demostrado que las concentraciones de plomo en las capas de hielo más externas en la Antártida ($2,7 \text{ pg.g}^{-1}$), son cinco veces superiores a las existentes en el hielo formado antes de la revolución industrial ($0,5 \text{ pg.g}^{-1}$) (Wu, 1995).

La presencia de elevadas concentraciones de metales en el medio provoca profundos efectos adversos sobre el medio ambiente y la salud humana, como por ejemplo la enfermedad de “Minamata”, provocada por un exceso de mercurio (Kudo, 1998).

Minamata, pueblo pesquero japonés, se encuentra ubicado en la ciudad de Kumamoto, al sudoeste de Tokio; su costa da al mar Yatshushiro, del que la Bahía de Minamata forma parte. En las inmediaciones de la ciudad existía una gran industria llamada Chisso Corporation, cuyos efluentes líquidos vertía directamente a la Bahía desde 1925, y destruía las áreas pesqueras, una de las principales fuentes de alimentación de la población local. En 1932 la empresa comenzó a desarrollar plásticos, medicamentos y perfumes a través del

uso de un compuesto químico que tenía como componente clave el mercurio.

Aunque la planta comenzó sus operaciones con mercurio en los años 30, no fue hasta mediados de los 50 cuando se comenzaron a detectar degeneraciones del sistema nervioso en animales. A mediados de la década de los 50 la gente empezó a notar una extraña enfermedad. El diagnóstico que se les daba a las víctimas de esta enfermedad era degeneración del sistema nervioso, con ceguera, sordera, desmayos, comportamiento irracional, discursos irracionales y movimientos involuntarios entre otros. Al poco tiempo se descubrió que Chisso era la responsable del problema debido a que había estado liberando compuestos de mercurio desde 1932. Finalmente en julio de 1959, investigadores de la Universidad de Kumamoto concluyeron que el consumo de pescado y mariscos contaminados con metilmercurio, debido al paso de Hg^{2+} a metilmercurio por acción bacteriana, era la causa de la enfermedad de la Bahía de Minamata. La producción de metilmercurio por bacterias y su liberación en el medio acuático es un mecanismo de defensa que las protege del envenenamiento con Hg. El Hg puede entrar en la cadena trófica a través de su metilación, que corresponde a la formación de un compuesto organometálico. En el caso concreto del mercurio, se forma el metil-mercurio, CH_3Hg^+ , el cual, al igual que otros compuestos organometálicos, es liposoluble. En consecuencia, estos compuestos presentan una elevada toxicidad, puesto que pueden atravesar fácilmente las membranas biológicas, en particular la piel, y a partir de este punto, la incorporación del metal en la cadena trófica está asegurada. Aparte del Hg, otros metales susceptibles de metilación son Pb, As, Cr y Sn.

Esta enfermedad, "Mal de Minamata", hizo cambiar el concepto que se tenía acerca de ciertos contaminantes. Era frecuente pensar que si se liberaba al ambiente una sustancia contaminante, pero ésta no podía ser absorbida por los seres vivos, entonces no había inconveniente alguno en contaminar. El problema surge cuando el ambiente transforma los contaminantes, haciendo que lo que antes no era posible que pasara a los seres vivos, tras sufrir algunos procesos,

pueda acabar formando parte de la cadena trófica. Se ha calculado que desde 1932 hasta 1968 la empresa liberó al ambiente cerca de 27 toneladas de compuestos de mercurio en la Bahía de Minamata en Japón. Cerca de 3.000 personas sufrieron directamente por la acción irresponsable de la empresa.

Dentro del interés general surgido en las últimas décadas por conseguir limitar el progresivo deterioro medioambiental, hay que situar los numerosos estudios científicos dedicados a la evaluación y control del grado de contaminación en el que se encuentran los sistemas fluviales, así como la determinación de las causas que lo provocan.

Los ríos son sistemas longitudinales que se encuentran sometidos a las condiciones climáticas y geográficas de las zonas por las que discurren, además de a la actividad humana, condicionada esta última por la mayor o menor industrialización de la zona, por la densidad de población, etc. De este modo, el grado de contaminación de los ríos que fluyen por zonas altamente industrializadas y pobladas es mucho mayor que el de aquellos que atraviesan zonas en las que la actividad industrial es escasa o incluso nula y la densidad de población es pequeña.

Cuando los ríos poseen un cauce lo suficientemente largo, se pueden observar tramos con diferentes grados y tipos de contaminación, debido a su paso por diversas zonas en las que varía la actividad humana, pudiendo a veces paliarse esa contaminación.

Las condiciones climáticas de la zona influyen también de modo decisivo, ya que de ellas depende el caudal, la regeneración de sus aguas o la capacidad de transportar los distintos materiales a través de su curso.

Así, en zonas donde las lluvias son abundantes, los ríos cuentan con grandes cantidades de agua que circulan a través de sus cauces provocando la renovación de las mismas, facilitando los fenómenos de intercambio entre las fases sólido-líquido y el transporte de los

materiales presentes hasta el mar e impidiendo que se conviertan en sistemas de aguas estancadas. Por el contrario, en aquellas zonas en las que las lluvias son escasas, los ríos que circulan a través de ellas pueden presentar aguas retenidas en las zonas bajas de sus cauces o incluso mostrarse completamente secos, por lo que la capacidad de renovación de las mismas y el transporte de materiales son procesos bastante lentos, propiciando la acumulación de sustancias contaminantes en los sedimentos. Aún así, ésta no es la principal causa de contaminación de estos sistemas, aunque sí es importante, ya que contribuye de modo fundamental a la producida por la influencia del hombre, auténtica responsable de la mayoría de los desastres ecológicos.

En este contexto, los metales pesados tienen una gran significación ecológica tanto por su toxicidad como por su comportamiento acumulativo, siendo importantes contaminantes que aparecen comúnmente en efluentes industriales, cuyos efectos sobre el medioambiente acuático están bien documentados (Wu, 1995), (Sirinawin, 1997). Se introducen en el medio fluvial disueltos o asociados a la materia suspendida y las variaciones que se pueden encontrar en la concentración de estos metales, presentes en el agua, son buenos indicadores de los cambios generalizados que se producen en una cuenca fluvial (clima, vegetación, suelo, actividad antropogénica,...). De esta forma, con su evaluación, se podrá tener una visión global de lo que ocurre en el ecosistema, permitiendo contemplar medidas de prevención para minimizar su deterioro.

Se han realizado un gran número de estudios en sistemas naturales (lagos, estuarios, ríos, etc.), tanto sobre sus aguas, como sobre la materia suspendida y los sedimentos, encontrándose que la actividad humana es decisiva en el aumento de los niveles de metales pesados, entre otros contaminantes presentes en ellos (Farmer, 1981), (Dreesen, 1982).

Los metales, con independencia de que tengan un origen antropogénico (procedentes de actividades mineras, industriales, agrícolas o domésticas) o natural, se incorporan al medio acuático a través de distintas rutas, entre las que cabe destacar: las aguas de los ríos, precipitaciones y deposiciones a partir de la atmósfera, aguas y lodos residuales ricos en materiales de desecho, entre los que pueden encontrarse metales, y que se emplean como basureros o depósitos localizados en áreas restringidas, y vertidos directos de origen industrial, obras de dragado, explotaciones mineras, que consciente o accidentalmente alcanzan el medio acuático.

Como se ha mencionado, los metales traza se encuentran de forma natural en el medio acuático, siendo constituyentes habituales. Sin embargo, la actividad humana ha contribuido decisivamente al aumento de los niveles de metales en las aguas, sedimentos y flora y fauna, tanto marinas como epicontinentales. Hoy en día es posible comparar la magnitud de los aportes de metales según su origen natural y debido a la actividad del hombre, y como término medio el segundo supera en orden de magnitud al primero.

Varios metales que son micronutrientes esenciales (Zn, Cu, Cr(III), Co, Fe, Mn) resultan tóxicos en concentraciones elevadas, mientras otros (Pb, Hg, Cd, Au, As) no tienen función metabólica y son tóxicos en dosis mínimas.

La concentración de metales en la columna de agua es generalmente baja, por el contrario, en los sedimentos y en los organismos acuáticos se acumulan metales y es frecuente encontrar niveles importantes. En zonas especialmente contaminadas, el contenido de metales en tejidos de animales y plantas alcanza valores que pueden resultar tóxicos para los organismos; estos organismos son un foco de contaminación que puede llegar a afectar al hombre, como consecuencia del consumo de productos marinos.

Por lo tanto, el aumento progresivo de la contaminación y los efectos perjudiciales que ésta produce en la biota, han originado una preocupación por determinar la concentración de metales en muestras

que, a pesar de contener el metal a nivel traza, son potencialmente tóxicas. También ha cobrado gran importancia la **especiación**, esto es, la distinción entre las diferentes formas químicas que puede presentar un metal en el medio ambiente, ya que el estado químico de un metal es un factor clave para conocer sus propiedades fisico-químicas y sus efectos sobre los organismos. Las investigaciones realizadas en estos dos campos tienen por objeto, profundizar en los conocimientos que se tienen de los procesos implicados y, basándose en ellos, diseñar estrategias más adecuadas para facilitar la protección medioambiental, dada la enorme pero limitada capacidad del medio acuático para diluir, dispersar e inactivar los altos contenidos en metales procedentes de los distintos vertidos que ingresan en el medio.

I.1. Metales pesados en los ecosistemas acuáticos

I.1.1. Origen de los metales pesados en el medio acuático

Los metales pesados pueden llegar hasta el medio acuático a través de cuatro vías fundamentales: meteorización, insumos directos de origen antropogénico, deposición atmosférica y removilización de los sedimentos (Tabla I.1).

Se considera que la meteorización de las rocas es la fuente natural principal de metales en el medio ambiente. El contenido total de metales en un suelo está fundamentalmente determinado por la composición del material original. En este sentido, la concentración total de algunos metales puede variar cien veces, o incluso mil veces, dependiendo del origen del suelo.

Tabla I.1. Origen de algunos metales traza en aguas naturales y principales efectos sobre los seres vivos (Fernández-Turiel, 1995).

Elemento	Origen	Efectos sobre los seres vivos
Ag	Medio geológico, procesado fotográfico, electrodeposición, desinfección del agua.	Coloración azul-grisácea en piel, membranas mucosas y ojos.
As	Medio geológico, pesticidas, minería, residuos químicos.	Coagula proteínas, forma complejos con coenzimas. Acumulativo. Posiblemente esencial, pero cancerígeno a altas concentraciones, inhibe la producción de ATP.
B	Carbón, detergente, algunas plantas (cítricos), residuos industriales.	Esencial para algunas plantas; tóxico: produce náuseas y calambres intestinales a dosis menores.
Ba	Pinturas (blanco permanente), goma y papel, industria de vidrio y cerámica.	Acumulativo. Daño en los riñones y el corazón.
Be	Carbón, industria espacial y nuclear.	Toxicidad aguda y crónica, posiblemente cancerígeno, beriliosis (fibrosis pulmonar y pneumonitis).
Cd	Medio geológico, minería, electrodeposición, tuberías.	Reemplaza bioquímicamente al Zn, causa elevada presión en la sangre y problemas renales, destruye el tejido testicular y glóbulos rojos, tóxico para la biota acuática, afecta a enzimas importantes; acumulativo en hígado, riñón y páncreas.
Co	Medio geológico, minería, metalurgia.	Elemento esencial, forma parte de la vitamina B-12, tóxico para plantas a pH ácido.
Cr	Electrodeposición, curtido.	Elemento traza esencial, factor de tolerancia a la glucosa, posiblemente activa la insulina, posiblemente cancerígeno como Cr(VI).

Cont. Tabla I.1. Origen de algunos metales traza en aguas naturales y principales efectos sobre los seres vivos (Fernández-Turiel, 1995).

Elemento	Origen	Efectos sobre los seres vivos
Cu	Medio geológico, minería, electrodeposición, residuos industriales.	Elemento traza esencial, actividad enzimática, baja toxicidad para animales, tóxico para plantas y algas a niveles moderados, no acumulativo.
Hg	Medio geológico, minería, pesticidas.	Toxicidad aguda y crónica, especialmente como complejos organometálicos, síntomas psicopatológicos.
Fe	Medio geológico, corrosión de metales, residuos industriales.	Nutriente esencial, componente de la hemoglobina, su deficiencia provoca anemia, no muy tóxico.
Mn	Medio geológico, minería.	Elemento esencial, baja toxicidad para animales, tóxico para plantas.
Mo	Medio geológico, minería.	Elemento esencial, tóxico en altas concentraciones.
Ni	Residuos industriales.	Posiblemente esencial, interfiere en la absorción del Fe
Pb	Medio geológico, minería, fundiciones, gasolina, tuberías.	Tóxico (anemia, riñones, sistema nervioso). Inhibición de la síntesis de la hemoglobina, acumulativo.
Se	Medio geológico.	Esencial a baja concentración, tóxico a altas concentraciones, posiblemente cancerígeno.
Sn	Residuos industriales.	Posiblemente esencial, interacciones metabólicas poco conocidas.
V	Medio geológico.	Posiblemente esencial, interfiere en la absorción del Fe.
Zn	Medio geológico, residuos industriales.	Esencial en algunas metaloenzimas, ayuda a cicatrizar heridas.

Las rocas ígneas ultrabásicas (como peridotitas y serpentinas) presentan los más altos contenidos en metales pesados, seguidas de las ígneas básicas (como gabros y basaltos). Las menores concentraciones se encuentran en las rocas ígneas ácidas (como el granito) y en las sedimentarias (como areniscas y calizas). Los porcentajes más altos se dan para Fe, Ti, Mn, Cr y Ni, mientras que el Co, Cu, Zn y Pb se presentan en menores cantidades, siendo mínimos los contenidos para As, Cd y Hg.

El desgaste geológico conlleva unos procesos sinérgicos de desgaste mecánico y químico. Cuanto menores sean los fragmentos, mayor es la superficie disponible para el ataque químico, y cuanto más débiles sean los trozos más susceptibles son a la quiebra. Una consecuencia del proceso anterior es que una gran parte de los metales, tanto en forma particulada como disuelta, son transportados por las aguas de los ríos y, en menor medida, por las aguas subterráneas. Algunos de los metales pesados asociados a la materia particulada pueden sufrir procesos de desorción cuando el agua del río entra en contacto con el agua de mar, cuya fuerza iónica es notablemente superior.

Por otro lado, es indudable la influencia que las actividades humanas ejercen sobre el incremento de metales pesados en el medio acuático. La emisión de materia particulada a la atmósfera (emisiones por automóviles, fábricas, etc.), el vertido de efluentes líquidos o materiales residuales sólidos directamente al medio (insumos de aguas residuales no tratadas), la deposición de cenizas, las actividades de dragado de fondos fluviales y las pinturas empleadas en barcos y estructuras, actúan como fuentes de metales pesados (Poulton, 2000).

Entre las fuentes más comunes de metales pesados de origen antropogénico asociadas a aportes fluviales destacan, por su negativo impacto, la recuperación de los metales desde sus depósitos naturales (minería), junto con los distintos procesos a que se ven sometidos para poder aprovecharlos (fundición, refinado, electrodeposición, etc.), generalmente empleando el curso del río como un vector de evacuación de aguas residuales industriales, entre las que sobresalen las

consecuencias del conocido “drenaje ácido de las minas” (Cotté-Krief, 2000), (Conaway, 2003). Además, en los ríos también tienen lugar otros procesos en su seno (sorción, precipitación, formación de complejos, etc.) que pueden modificar la concentración y forma química de los metales (Catalán, 1987). En definitiva, la influencia antropogénica sobre el medio se encuentra en numerosas ocasiones estrechamente ligada con procesos naturales, los cuales pueden actuar indirectamente como medios portadores de metales pesados de origen antropogénico, como en el caso de los ríos o de la propia atmósfera (Wängberg, 2003), (Meili, 2003).

Como anteriormente se ha dicho, la atmósfera también actúa como vía de acceso para ciertos metales hacia el medio acuático. Así, Pb y Cd pueden acceder a la superficie acuosa mediante procesos atmosféricos, llegando incluso a superar otros aportes (Helmers, 1990), (Naicker, 2003). En el caso del Hg atmosférico su procedencia es mayoritariamente de la actividad volcánica (Nriagu, 2003).

Se ha constatado que las emisiones antropogénicas a la atmósfera de la mayoría de los metales superan considerablemente a las vías naturales, tal como queda reflejado en la Tabla I.2. Además, de los datos referenciados en esta tabla, puede deducirse cómo las concentraciones típicas de metales en partículas atmosféricas de aire contaminado (aire urbano) son muy superiores a las correspondientes a un aire con un bajo grado de contaminación (aire rural) tomado como referencia. Estas notables diferencias ponen de manifiesto que este medio puede representar una fuente principal de metales al medio acuático, sobre todo en aquellas situaciones en las que la emisión se produce en las inmediaciones de los cauces fluviales, permitiendo la deposición de partículas atmosféricas con contenido potencialmente alto de metales.

Es evidente que el grado de industrialización y desarrollo urbano determina también el contenido en metales de las partículas atmosféricas, por lo que, en aquellas zonas próximas a áreas densamente pobladas o cuyas condiciones meteorológicas lo favorezcan (fundamentalmente en relación con el régimen de vientos y

precipitaciones de la zona), es de esperar una mayor transferencia de metales desde la atmósfera hasta el medio acuático.

Tabla I.2. Concentraciones típicas de metales en partículas atmosféricas y emisiones mundiales de metales a la atmósfera (Harrison, 1990), (Clark, 1992).

METAL	PARTÍCULAS ATMOSFÉRICAS (ng·m ⁻³)		EMISIONES MUNDIALES (10 ³ t/año)	
	Aire urbano	Aire rural	Fuentes naturales	Fuentes antropogénicas
Fe	100-10000	100-10000	-	-
Ni	1-500	1-50	26	47
Cu	10-1000	2-100	19	56
Zn	200-2000	5-100	4	314
As	5-300	1-20	-	-
Cd	0,5-200	0,5-10	0,96	7,3
Hg	-	-	-	-
Pb	10-10000	5-500	19	449

En la Tabla I.3 se comparan, como ejemplo de áreas fuertemente industrializadas, los datos de algunos metales pesados disueltos en áreas de estuario y bahía, sometidas a distintas circunstancias geológicas, antropogénicas y medioambientales. De la tabla se desprende que la influencia de actividades antropogénicas en los sistemas costeros, sobre todo de aquellas actuaciones ligadas a la explotación de recursos mineros, puede llegar a incrementar notablemente los niveles de metales pesados disueltos, en especial en zonas costeras limitadas como puertos, bahías y estuarios.

Otra fuente de metales pesados puede tener su origen en la removilización de los sedimentos: los metales pesados retenidos en ellos pueden ser resuspendidos hacia el agua, debido fundamentalmente a fenómenos de remoción por agitación física del fondo, bien por causas de origen natural (lluvias, tormentas, bioturbación) o por actividades antropogénicas (dragados) (Martino, 2002).

Tabla I.3. Comparación de intervalos de concentración ($\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) de metales disueltos en agua de mar para varias áreas de bahías y estuarios altamente industrializadas (Furness, 1990).

METAL	CANAL BRISTOL REINO UNIDO ^a	POOLE HARBOUR REINO UNIDO ^a	ESTUARIO SEVERN REINO UNIDO ^a	ESTUARIO DERWENT TASMANIA ^b	RESTRONGUET CREEK REINO UNIDO ^c
As	-	7,2-18,4	-	13,3-80,1	44-873
Cd	3,6-83,6	2,67-374	0,31-1,48	4,45-133	6,2-338
Cu	9,4-85	3,1-440	2,2-4,2	157-425	47-2,8·10 ³
Hg	0,045-0,350	0,010-0,648	-	0,50-79,8	0,025-0,150
Ni	3,41-51,12	-	1,9-3,6	-	17-306
Pb	1,69-63	-	1,5-4,1	19-77	<10-19
Zn	41-673	15-10310	11-22	92-22940	336-3,1·10 ⁵

^a Área influenciada por actividades industriales y vertidos de aguas residuales.

^b Refinería de petróleo.

^c Residuos de minería.

I.1.2. Distribución de metales pesados en el medio acuático

Los sistemas acuáticos naturales pueden ser considerados como grupos de compartimentos interrelacionados entre sí en los que se desarrollan procesos físicos, químicos, geológicos y biológicos. Aunque, el agua líquida es el constituyente característico del medio acuático, en estos sistemas han de considerarse otra serie de compartimentos, entre los que se incluyen materias sólidas (partículas en suspensión y fondos sedimentarios y rocosos) y biota, estableciéndose interacciones entre todos ellos mediante procesos de transporte de masas y transferencias de energía, lo cual puede conllevar cambios, ya sea a escala local o global, en la composición química de los mismos.

Dentro de un mismo sistema acuático existe una íntima relación entre el sedimento, la materia en suspensión, la biota y la columna de agua sobrenadante, de manera que los metales pueden pasar de uno a

otro mediante distintos procesos. En la Figura I.1 se observan, esquemáticamente, los principales procesos físico-químicos mediante los cuales tiene lugar la distribución de los diversos metales en el ecosistema acuático.

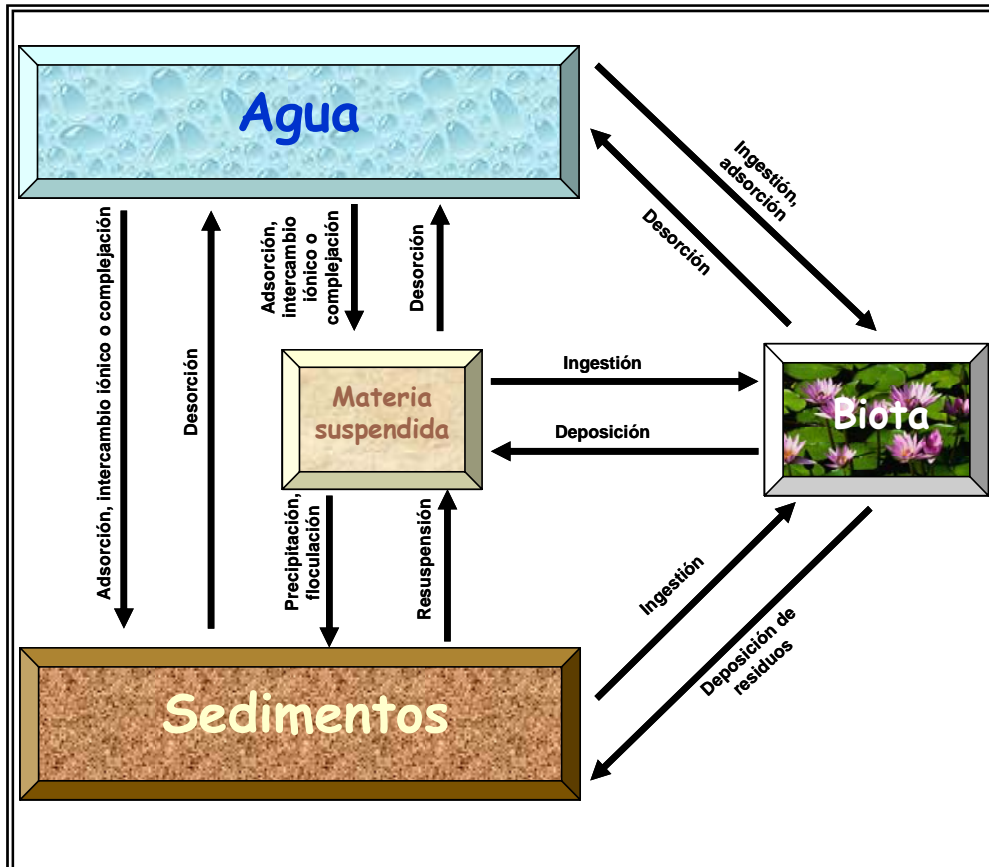


Figura I.1. Principales procesos biológico-físico-químicos de transferencia de metales pesados entre los diferentes compartimentos ambientales del medio acuático (Casas, 1990).

Entre los procesos más importantes, por sus implicaciones para la vida en los ríos y estuarios, cabe destacar aquellos que relacionan a los compartimentos abióticos con la biota presente. Estas múltiples interrelaciones configuran ciclos internos para los elementos, que se regulan de manera natural, aunque pueden verse alterados por desequilibrios entre los flujos de entrada y salida originados por factores externos, atribuibles tanto a fenómenos naturales como insumos antropogénicos. En ocasiones se entrelazan ambos orígenes, como son los casos de la contaminación de afluentes y escorrentías, que posteriormente descargan sus aguas en el río, emisión de partículas polutantes a la atmósfera que después se depositan sobre el agua, removilización de sedimentos mediante operaciones de dragado, etc.

Los metales pesados se encuentran habitualmente en concentraciones muy bajas en el agua, apareciendo disueltos o sorbidos a otras partículas, esto se debe a la baja solubilidad de estos elementos, con independencia del tipo de metal y de la especie química en la que se encuentren. Por el contrario, en los sedimentos se acumulan los metales pesados, de modo que se pueden encontrar en niveles elevados. Ambos hechos conducen a que se alcancen valores del factor de concentración en los sedimentos de 10^3 - 10^5 respecto a la fase disuelta, por lo que dada la relación existente entre la columna de agua y el sedimento, es muy importante tener en cuenta a los sedimentos como sumideros de metales pesados.

Son numerosos los factores que afectan a la concentración y distribución natural de los metales pesados en el medio acuático natural. Las modificaciones más importantes tienen lugar, sobre todo, en aquellas zonas que pueden considerarse interfases: líquido-líquido (zonas de estuarios, en las que las aguas fluviales se encuentran con las aguas salinas procedente del mar), sólido-líquido (cauces, sedimentos y materia suspendida), gas-líquido (atmósfera-agua). Sin embargo, también han de tenerse en cuenta otros factores que pueden modificar su concentración y distribución, como son los movimientos

de las masas de aguas (corriente de descenso del cauce y flujo de las mareas en las zonas de estuario), así como causas de origen biológico.

Concretamente, en las zonas costeras y de estuarios, las concentraciones de metales pesados suelen ser apreciablemente superiores a las presentes en el agua de mar oceánica. Así, los ríos junto con aportes derivados de actividades antropogénicas y otros aportes naturales en las áreas costeras, determinan un gradiente de concentración de metales que disminuye a medida que aumenta la distancia respecto a la costa. En la Tabla I.4 aparecen recogidas y comparadas las concentraciones metálicas medias encontradas en diferentes muestras acuosas naturales.

Tabla I.4. Concentraciones metálicas medias encontradas en diferentes aguas naturales (Crompton, 1997).

Metal	Agua de río ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Agua costera, bahía y estuario ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Agua de mar oceánica (superficial) ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
Al	73,0-6300,0	6,39-63,0	0,10-0,60
Cd	0,03-5,0	0,01-5,0	0,01-0,13
Co	0,20-10,0	0,01-0,25	0,0-0,16
Cr	0,05-23,0	0,10-3,30	0,00-1,26
Cu	0,11-200,0	0,07-20,02	0,01-2,80
Fe	1,0-3925,0	1,0-250,0	0,20-322,0
Hg	0,01-1,30	0,001-15,10	0,00-0,08
Mo	0,74-4,10	2,10-200,0	3,20-12,0
Ni	1,5-4,4	0,20-5,3	0,15-0,93
Pb	0,13-60,0	0,04-7,44	0,00-9,00
Zn	0,86-630,0	0,01-200,0	0,05-10,92

Como se deduce de los datos reseñados en la Tabla I.4, existe gran diferencia entre los niveles para los distintos metales, siendo en general las concentraciones máximas en las aguas de los ríos superiores a las del agua mar. Esto se debe a la intervención de

agentes moduladores, bien sea actuando como fuentes o como sumideros, sobre la distribución de los metales pesados en los sistemas ambientales costeros. Este efecto se puede apreciar con mayor claridad si se comparan las concentraciones de estos metales en aguas costeras, bahías y estuarios con los valores encontrados en aguas oceánicas, donde la influencia de estos agentes es notablemente inferior.

1.1.3. Sumideros de metales pesados en el medio acuático

Los principales procesos que contribuyen a disminuir la concentración de metales pesados en el medio acuático son adsorción sobre la superficie de partículas, precipitación, coprecipitación y la incorporación a la biota. No obstante, algunos de estos fenómenos pueden tener carácter reversible, produciendo una redisolución de los metales asociados a esas especies mediante desorción, disolución y procesos biológicos (Greenaway, 1992).

Procesos de sorción de metales pesados: La mayor parte de la materia particulada en los medios acuáticos (arcillas, óxidos hidratados metálicos y materia orgánica particulada) posee una carga negativa neta, que le confiere carácter coloidal. Por tanto, los cationes metálicos son electrostáticamente atraídos hacia su superficie. Algunas de estas partículas, enriquecidas de metales pesados, se hunden hasta depositarse en el fondo. El grado en el que tiene lugar este fenómeno depende, entre otros factores, de la naturaleza del metal, la abundancia de materia particulada, la concentración de otros solutos y la profundidad de la columna de agua (Förstner, 1983).

Precipitación: En el agua natural predominan los cloruros, sulfatos y bicarbonatos. Aunque, en general, las formas químicas de los metales pesados asociados a estas especies son bastante solubles, las características del agua natural pueden producir la precipitación de éstas bajo determinadas condiciones. En el caso de los hidróxidos, ésta solubilidad disminuye con el aumento del pH, lo que puede producir la

precipitación de éstos compuestos en condiciones básicas. Por otro lado, los sulfuros de los metales pesados son prácticamente insolubles al pH de las aguas naturales, mientras que la solubilidad de los carbonatos es altamente dependiente de la presión parcial de CO₂, aumentando en su presencia. En el caso particular de las zonas de estuario se ha detectado la disminución de la concentración de metales procedentes del aporte fluvial y que se origina, entre otras razones, por la aparición de fenómenos de precipitación fundamentalmente debidos a los cambios de pH y fuerza iónica que tienen lugar en las zonas de mezcla de aguas dulces y marinas. Por otro lado, en las aguas porosas e intersticiales de los sedimentos, bajo condiciones anóxicas, generadas por la oxidación de la materia orgánica particulada, ciertas bacterias reducen el sulfato a sulfuro, el cual puede formar con los metales pesados sulfuros metálicos, que presentan muy baja solubilidad, favoreciendo la precipitación y coprecipitación (Greenaway, 1992).

Incorporación a la biota: Los organismos vivos también influyen en el contenido y distribución de los metales pesados (Vasconcelos, 2001; Öztürk, 2003). En este sentido, por ejemplo, el fitoplancton incorpora metales pesados para emplearlos en determinados sistemas enzimáticos que catalizan procesos como la glicólisis, el ciclo del ácido tricarbónico, la fotosíntesis y el metabolismo de las proteínas; y el zooplancton y la fauna bentónica, que se alimentan por filtración, acumulan metales pesados presentes en los sedimentos (Bruland, 1983). A este tenor, se considera que la actividad biológica es responsable de más del 90% del transporte vertical de metales pesados en la columna de agua (Bryan, 1976). Además, también debe considerarse la porción de metales pesados en la membrana de las células de plancton.

I.2. Carácter ecotoxicológico de los metales pesados en aguas naturales

Los metales son sustancias naturales que, desde la edad de hierro, han desempeñado un papel fundamental en el desarrollo de las civilizaciones. El problema surge cuando prolifera su uso industrial y su empleo creciente en la vida cotidiana termina por afectar a la salud. De hecho, el crecimiento demográfico en zonas urbanas y la rápida industrialización han provocado serios problemas de polución y deterioro del ambiente, sobre todo, en los países en vías de desarrollo. Aunque, la presencia de los metales en el medio natural no es, en principio peligrosa (forman parte de los ciclos vitales, es decir del equilibrio de la naturaleza), sin embargo desde la Revolución Industrial la producción ha ascendido vertiginosamente: Así, por ejemplo, entre 1850 y 1990, la presencia de plomo, cobre y zinc en los procesos industriales se ha multiplicado por diez, con el correspondiente incremento de emisiones al medio ambiente que ello conlleva.

Pese a que tradicionalmente se relaciona el término metal pesado con contaminante, esto no es siempre cierto. Habría que definir en primer lugar qué se entiende en general por contaminación. A pesar de que se trata de un concepto sujeto a revisión permanente por parte de la comunidad científica, la mayoría de autores coinciden en conceptualarla como *"la situación creada por la presencia en el ambiente de sustancias o formas de energía, en tal cantidad y con una duración tal de su acción, que son susceptibles de provocar efectos perjudiciales o de causar molestias"*. La Royal Commission of Environmental Pollution del Reino Unido la define como *"la introducción por el hombre en el entorno de sustancias o energías propensas a causar riesgos a la salud humana, daños a los recursos vivos y a los sistemas ecológicos, perjuicio a los bienes e infraestructuras y paisajes, o a interferir con los legítimos usos del entorno"* (Kirkwood, 1995). Según la OCDE (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos), *"la contaminación del*

medio por el hombre, directa o indirectamente, tiene lugar por la introducción de sustancias o energías en el entorno, produciendo efectos nocivos en la Naturaleza así como poniendo en peligro la salud humana, dañando los recursos vivos o interfiriendo su disfrute u otros usos legítimos del entorno" (Reeve, 1994).

Por otro lado, es de resaltar que existe cierta ambigüedad y controversia sobre los términos de “contaminante” y “polutante”. Ambos se emplean en algunos casos como sinónimos, debido a que su definición es demasiado específica, por lo que no recoge todos aquellos procesos en los que, pese a la evidencia de que se trata de un episodio contaminante, no se ajusta a la definición. Por el contrario, en otros casos el problema deriva de una definición demasiado amplia, que permite su aplicación a situaciones que no tienen nada que ver con lo que intuitivamente se puede atribuir a la contaminación.

En consecuencia, de las definiciones existentes, las que parecen más acertadas son las que ha establecido la EPA (Environmental Protection Agency, USA), basadas en los criterios de calidad estándares del aire, agua y suelo:

- Un **contaminante** es aquella adición (o sustracción) que produce una desviación sobre la composición media.
- Un **polutante** es cualquier adición (o sustracción), tanto de origen natural como antropogénico, a una concentración suficientemente alta como para ejercer un efecto dañino sobre los seres vivos (animales o plantas) o sobre las cosas de interés social.

En relación con los metales, han de tenerse en cuenta tanto aquellos considerados como metales esenciales, como los no esenciales, ya que, un exceso de los primeros puede llegar a ser tóxico. El efecto tóxico del metal normalmente supone una interacción entre el ión metálico libre y su diana. En general, los mecanismos de acción tóxica de los metales se pueden clasificar en:

- Agregación a centros donde los metales no se unen normalmente.
- Sustitución de elementos esenciales, particularmente en los sitios activos de las enzimas.
- Unión que cambia la conformación y reactividad de las enzimas.
- Reemplazo de unos grupos por otros con dimensiones similares (fosfato por arseniato).
- Precipitación por formación de compuestos insolubles (fosfatos, sulfuros).
- Alteración de la permeabilidad de las membranas por combinación de los metales con diversos grupos.
- Cambio de elementos con papel electroquímico, tales como potasio y talio.

Por otro lado, hay algunas características que diferencian a los metales de otras sustancias tóxicas; entre ellas se puede citar tanto su permanencia a lo largo del tiempo como la forma en que éstos son empleados por el hombre. Ambas circunstancias influirán en sus potenciales efectos tóxicos actuando, en primer lugar, sobre la calidad y cantidad de los metales aportados al agua, suelo, aire y alimentos, y en segundo lugar, alterando la especiación o forma química de los elementos.

Los metales pesados actúan sobre los organismos vivos no sólo en función de su concentración, sino también de otros factores tanto intrínsecos a la naturaleza del propio organismo (familia y especie a la que pertenece, mecanismos de regulación de metales, edad, estrés, etc.) como a las características del hábitat, además de depender del tiempo al que hayan estado expuestos al metal (efectos agudos o crónicos) y del grado de accesibilidad de éstos por parte de los organismos vivos. En la Tabla I.5 se han recogido los factores más característicos.

Tabla I.5. Factores que influyen en la toxicidad de los metales pesados en sistemas acuáticos (Libes, 1992), (Pastor, 1994).

Factores propios del metal	<ul style="list-style-type: none"> - Naturaleza. - Concentración. - Estado de oxidación del metal. - Según el tipo de especies: orgánicas e inorgánicas. - Según la fase: <ul style="list-style-type: none"> - disuelto: iones, complejos iónicos, quelatos iónicos,... - particulado: fase coloidal, precipitado, sorbido,...
Presencia de otras especies químicas	<ul style="list-style-type: none"> - Sinergia. - No interacción. - Antagonismo.
Factores ambientales que influyen en la fisiología de los organismos y en la forma química del metal en el	<ul style="list-style-type: none"> - Temperatura. - pH. - Concentración de oxígeno disuelto. - Intensidad de luz. - Salinidad
Factores propios del organismo	<ul style="list-style-type: none"> - Etapa de desarrollo (huevo, larva,...). - Cambios en el ciclo de vida (muda, reproducción,...). - Edad y tamaño. - Sexo. - Condiciones de alimentación. - Actividad. - Protección adicional (conchas,...). - Adaptación a los metales (tolerancia). - Comportamiento.

Respecto de la potencial toxicidad de los metales pesados, hay que tener presente que sus comportamientos frente a los organismos vivos pueden describirse de diversas maneras. Así, en este sentido, se emplean frecuentemente ciertos términos que permiten describir la conducta de los contaminantes en relación con los sistemas biológicos acuáticos: **bioacumulación**, **biomagnificación**, **bioconcentración** y **biodisponibilidad** (Gray, 2002).

Estos términos se definen a continuación:

- **Bioacumulación** (IUPAC, 2003): “Aumento progresivo de la cantidad de sustancia, extraña al ecosistema, en un organismo o parte de él, como consecuencia de que el ritmo de absorción supera la capacidad del organismo para eliminar la sustancia”.
- **Biomagnificación** (Bryan, 1976): “Incremento en la concentración de un polutante en los organismos a medida que asciende en su posición en la cadena trófica”.
- **Bioconcentración** (Bryan, 1976): “Relación existente entre la incorporación de una sustancia al organismo vivo y el medio abiótico en el que habita”.
- **Biodisponibilidad** (IUPAC 2003): “Grado de absorción de una sustancia por un organismo vivo”.

La **bioacumulación** hace referencia al balance entre la cantidad de metales incorporados a los seres vivos y los que éstos son capaces de eliminar de su propio organismo. Como consecuencia de dicho balance se puede producir un aumento o una disminución neta del contenido en metales pesados en el organismo. Este término tiene en cuenta el hecho de que aunque la dosis puntual de metales pesados esté por debajo de valores que puedan producir efectos adversos sobre los organismos, sin embargo, la continua acumulación en situaciones en las que el balance metálico ingreso/excreción puede hacer que los niveles de los metales pesados en el organismo se incrementen con el tiempo hasta valores en los que se manifiesten efectos adversos. De

forma genérica, la bioacumulación de metales pesados en organismos acuáticos aumenta bajo determinadas circunstancias, entre las que destacan el menor peso corporal (estadios larvarios y juveniles), menor salinidad, mayor temperatura del agua, ausencia de metales competidores (alcalinos y alcalinotérreos) y mayor proximidad a la superficie del agua (Crompton, 1997). Puesto que las concentraciones de metales pesados en las zonas costeras, bahías y estuarios son notablemente mayores a las que se encuentran en aguas oceánicas, el riesgo es consecuentemente mayor. En ciertos casos, las consecuencias han sido tan graves que ha sido fácil establecer las relaciones causa-efecto, lo que facilita la identificación del problema y el establecimiento de las acciones correctoras oportunas. Aunque las concentraciones de metales pesados en la mayoría de los sistemas costeros y de estuario suelen encontrarse por debajo de niveles en los que se han comprobado sus efectos tóxicos y letales sobre los organismos acuáticos en ensayos de laboratorio, se han encontrado indicios de efectos a medio-largo plazo de metales pesados sobre los organismos vivos a concentraciones subletales por efecto principalmente de fenómenos de bioacumulación.

La **biomagnificación** se produce por el incremento en la concentración de un polutante en los organismos a medida que asciende en su posición en la cadena trófica. Así, la cantidad de metal retenida por un organismo es asimilada directamente por su depredador, que a su vez puede servir de alimento a otro organismo situado en un nivel superior de la cadena trófica, con el consiguiente incremento en la cantidad de metal acumulado por este último. Es difícil documentar los posibles casos de biomagnificación debido a los inconvenientes que se tienen para disponer de todos los organismos que componen la dieta del predador en la cadena trófica de un ecosistema en particular, y además es difícil correlacionar diferentes especies situadas a distintos niveles con un sistema idéntico de captación del polutante, una distinta exposición (longevidad) y diferente fisiología (destoxificación). Sólo algunos casos, con metales

como Hg (Canadá) y As (Alemania), han podido señalarse como verdaderos procesos de biomagnificación.

El término **bioconcentración** tiene en consideración la relación existente entre la incorporación de metales al organismo vivo y el medio abiótico en el que habita, este parámetro es más fácil de determinar que el de bioacumulación. El grado en el cual un metal se concentra en un organismo marino viene dado por el *factor de enriquecimiento* (FE), que se define como el cociente entre la concentración de metal en el material biogénico y la concentración del metal en el agua (Campbell, 2002). Es de destacar que el fitoplancton y zooplancton, base fundamental de la cadena trófica en los sistemas acuáticos, presentan unos factores de enriquecimiento notables para ciertos elementos. Otros organismos que sobresalen son los moluscos por sus altos niveles de enriquecimiento, mientras que los peces, también acumulan metales, aunque con factores de enriquecimiento notablemente menores a los anteriores organismos (Kennish, 1996). Así, cada vez cobra más importancia la evaluación de la acumulación de metales pesados en organismos acuáticos a través del análisis químico del contenido metálico en sus tejidos, con la doble intención de investigar la distribución y comportamiento de los metales en relación con la biota acuática, además de preservar tanto las especies animales como la salud humana, puesto que muchos de estos organismos nos sirven de alimento.

Factores fisicoquímicos como la concentración del metal en el medio, su especiación química, la temperatura, la salinidad, la presencia o ausencia de agentes complejantes, la presencia o ausencia de otros metales, y factores propios de los organismos como el grado de impermeabilidad superficial, la etapa nutricional, etc., entre otros, determinan la **biodisponibilidad** de los metales hacia los organismos. Este término se ha establecido primariamente para las plantas, aunque actualmente se ha extendido a otros tipos organismos. En este sentido, la teoría del “*Modelo de Ligando Biótico*” es un intento de predecir cómo los metales disueltos interaccionan con los organismos y les pueden afectar y trata de establecer la biodisponibilidad de los metales en

función del tipo de barrera biológica que debe traspasar el metal en su entrada al organismo (Campbell, 2002), (Paquin, 2002).

En las Tablas I.6.a y I.6.b aparecen recogidos los niveles de fondo, naturales y valores guía de concentración de metales en diversos tipos de aguas y de sedimentos acuáticos. Así mismo, se han incluido valores de concentración para aguas potables aceptados por la Organización Mundial de la Salud y por los Estados Unidos, estos últimos algo más restrictivos (Crompton, 1997). Se recogen datos definidos por la Oficina norteamericana para la Administración Nacional del Océano y la Atmósfera (NOAA) en base a los criterios de la Agencia de Protección Medioambiental norteamericana (EPA), para establecer los valores de concentración a partir de los cuales es posible que las sustancias contaminantes puedan dar lugar a efectos perjudiciales sobre la vida acuática (Buchmann, 1999), (NOAA, 1995) y niveles guía para la protección de la vida acuática en sedimentos fluviales y marinos propuestos por el gobierno canadiense (Canadian Sediment Quality Guidelines 2001).

La evaluación del contenido metálico, si bien aporta información importante, puede ser ampliada con el uso de bioindicadores. Habitualmente no es una especie en particular la que se utiliza como bioindicadora, sino una comunidad o población completa, que acusa la presencia de esos elementos en el medio.

Tabla I.6.a. Valores de fondo, naturales y valores guía de concentración de metales en ecosistemas acuáticos

Metal	Valores de fondo (Förstner, 1983)		Valores de fondo (Meybeck, 1996)	Concentraciones naturales (Azcue, 1993)		Valores medios en ríos Europeos y de EEUU (Crompton, 1997)	Valores límites para la OMS y/o EEUU (Crompton, 1997)	Criterio NOAA-EPA de calidad de aguas (Buchmann, 1999)			
	Agua de mar ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Agua continental ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Agua de río ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Agua de mar ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Agua continental ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Agua de río ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Agua potable ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Agua dulce ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)		Agua de mar ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	
								CMC ^a	CCC ^b	CMC ^a	CCC ^b
As	2,1	2	1	1,3-2,5	0,5	0,4-490	5,4-11,4	340	150	69	36
Ba	20	10				10-23	1-47				
Cd	0,01	0,07		<0,025	0,1	0,03-5	5	2	0,25	40	8,8
Cr	0,08	0,5	0,1	0,09-0,55	1,0	0,05-23	50	16 ^c	11	1100	50
Cu	0,04-0,1	1,8	1,4	0,01	3,0	0,11-200	50	13	9	4,8	3,1
Fe	1,3	<30		2,0	500	1-3924	4,5-1969		1000		
Hg	0,011	0,01		<0,012	0,1	0,009-1,3	0,5	1,4	0,77	1,8	0,94
Mn	0,2	<5	10	0,2	8,0	1-1835	1,9-20,5				
Ni								470	52	74	8,2
Pb	0,005-0,015	0,2	0,04	<0,02	3,0	0,13-60	<0,6-565	65	2,5	210	8,1
Zn	0,01	10		<0,6	10,0	0,9-630	5000	120	120	90	81

a- CMC: *Criterio de máxima concentración*: estimación de la máxima concentración de una sustancia en el agua a la cual puede ser expuesta una comunidad acuática "puntualmente" sin que se produzca ningún efecto no recomendable.

b- CCC: *Criterio de concentración continuo*: estimación de la concentración máxima de una sustancia en el agua a la cual puede estar expuesta una comunidad "indefinidamente" sin que se produzca ningún efecto no recomendable.

c- valores para Cr (VI)

Tabla 1.6.b. Niveles de fondo y niveles guía de calidad para metales en sedimentos acuáticos.

Metal	Niveles de fondo de sedimentos no contaminados (Turekian, 1961)		Niveles guía para la protección de la vida acuática: sedimentos fluviales (Canadian Sediment Quality Guidelines, 2003)		Niveles guía para la protección de la vida acuática: sedimentos marinos (Canadian Sediment Quality Guidelines, 2003)		Niveles guía NS&T con efectos biológicos (Long, 1995)	
	Esquistos (mg·kg ⁻¹)	Carbonatos (mg·kg ⁻¹)	ISGG ^a (mg·kg ⁻¹)	PEL ^a (mg·kg ⁻¹)	ISGG ^a (mg·kg ⁻¹)	PEL ^a (mg·kg ⁻¹)	ERL ^b (mg·kg ⁻¹)	ERM ^b (mg·kg ⁻¹)
As	13	1	5,9	17	7,24	41,6	8,2	70
Ba	580	10						
Cd	0,3	0,035	0,6	3,5	0,7	4,2	1,2	9,6
Cr	90	11	37,3	90,0	52,3	160	81	370
Cu	45	4	35,7	197	18,7	108	34	270
Fe	47000	4000						
Hg	0,4	0,04	0,17	0,486	0,13	0,70	0,15	0,71
Mn	850	1100						
Ni							20,9	51,6
Pb	20	9	35,0	91,3	30,2	112	46,7	218
Zn	95	20	123	315	124	271	150	410

a- ISQG: Valor guía de calidad del sedimento; PEL: nivel con efectos probables sobre la vida acuática.

b- ERL: Concentración con efectos biológicos bajos; ERM: Concentración con efectos biológicos considerables.

1.2.1. Metales tóxicos asociados a actividades antropogénicas

Los términos metales pesados y metales tóxicos son frecuentemente usados indistintamente y de una manera que a veces causa alguna confusión. No obstante, esta clasificación general de metales pesados incluye, fundamentalmente, 39 elementos: aquellos con número atómico 22 hasta 34 (titanio hasta selenio), 40 hasta 52 (zirconio hasta telurio), y 72 hasta 83 (hafnio hasta bismuto). De todos ellos, los metales tóxicos más comúnmente asociados a fuentes antropogénicas son el arsénico, el plomo, el cadmio, el cromo, el cobre, el plomo, el mercurio, el níquel y el cinc (Jennett, 1980).

Gran parte del interés de los especialistas en metales se dirige hacia el plomo, se trata de un metal no esencial y uno de los más movilizados por el hombre. La mayoría de las sales del metal son muy pocos solubles, de allí que la toxicidad aguda sea posible de observarse bajo condiciones naturales, al igual que otros metales su toxicidad está influida por la dureza de las aguas, pH y la presencia de materiales orgánicos entre otros (Páez-Osuna, 1996). El plomo continua siendo un elemento que interesa en cuanto a la especiación química o las cantidades encontradas en sedimentos. Numerosos estudios han sido hechos sobre las minas de plomo y las fundiciones, con énfasis en la ruta ambiental de este metal y su distribución en los sistemas acuáticos. Los niveles de plomo en humanos son considerados tóxicos para dosis de 40 $\mu\text{g}/100$ g de sangre en niños menores de 12 años de edad y 80 $\mu\text{g}/100$ g de sangre en adultos. La organización mundial de la salud (OMS) ha sugerido que el agua no debe exceder 0,05 mg/L de plomo (Jennett, 1980). Este metal afecta a los microorganismos retardando la degradación heterófila de la materia orgánica. Poco se sabe sobre la toxicidad del plomo respecto a las plantas, en las cuales tiende a ubicarse en el sistema radicular. Los animales pueden absorber plomo por inhalación o ingestión. La mayor parte del plomo es absorbido por los glóbulos rojos y circula a través del cuerpo, pudiéndose concentrar inicialmente en el hígado y los riñones. A

continuación puede pasar a los huesos, los dientes y el cerebro (Duffus, 1984).

Existe una extensa información sobre la toxicidad del zinc. El cinc es un elemento esencial para las plantas y animales pero puede convertirse en tóxico para algunos animales a niveles que excedan los 900 mg/L. Los mayores problemas de toxicidad encontrados con cinc son debidos al cadmio asociado con el cinc (Jennett, 1980). En peces marinos, la CL₅₀ (96 h) [Concentración letal: produce la mortalidad del 50% de las especies después de una exposición durante 96 horas a la sustancia tóxica] oscila entre 4,0-100 mg/L y los efectos del zinc en general en los invertebrados marinos ocurren sobre un rango de concentraciones menor de 1-10 mg/L. Entre los efectos previos a la respuesta letal en peces, se tiene la presencia de manchas oscuras y problemas respiratorios menores (Páez-Osuna, 1996).

El cadmio se acumula en los tejidos de los organismos y afecta principalmente los mecanismos de regulación de los iones más las funciones respiratorias o nerviosas. Evidencia reciente de los estudios de hipocalcemia inducida por cadmio, sugieren que la reducción de las concentraciones de calcio en el plasma debe ser la responsable directa de la mortalidad. El cadmio puede ser eliminado de los tejidos después de dosis intermitentes o una simple exposición, pero si se absorben grandes cantidades, y dado que su eliminación es lenta, los organismos pueden sobrevivir a exposiciones de períodos cortos y grandes dosis, pero morir subsecuentemente (Páez-Osuna, 1996). El cadmio comienza a ser altamente tóxico para los organismos acuáticos en el rango de 0,02 – 2,0 mg/L, mientras que 4 mg/L en la dieta de los humanos es normalmente considerado tóxico.

El cobre es uno de los metales más estudiados y del cual se dispone de mayor información. Su toxicidad es atribuida principalmente al ion Cu (II). Forma complejos fácilmente con una gran variedad de sustancias que se hallan tanto en aguas "limpias" como en aquellas consideradas contaminadas, también es adsorbido con cierta facilidad por el material suspendido (oxihidróxidos de hierro y manganeso,

minerales arcillosos, materia orgánica, entre otros). El cobre es otro elemento traza esencial frecuentemente encontrado en sedimentos acuáticos. La continua ingestión de cobre puede derivar en acumulación en el tejido animal, especialmente en el hígado. Es el metal pesado más común al cuál los organismos acuáticos están expuestos, debido a su uso común como algicida. En las aguas, 1 mg/L de cobre puede ser un factor importante en el desarrollo de reacciones tóxicas en las plantas y animales (Jennett, 1980). También puede encontrarse en concentraciones muy altas como resultado de las actividades mineras. Todos los organismos experimentan daños debido a la presencia de este elemento, incluso concentraciones que pueden ser tan bajas como 0,5 mg/L en el caso de las algas. En los animales superiores, los daños cerebrales son un rasgo característico del envenenamiento con cobre (Duffus, 1984).

El níquel y el cobalto son micronutrientes para la mayoría de los organismos, pero cantidades excesivas ejercen efectos tóxicos (Duffus, 1984). De acuerdo a la literatura, los efectos del níquel sobre diferentes especies de invertebrados cubren un rango muy amplio que va desde 0.3 mg/L de CL₅₀ (48 h) hasta más de 100 mg/L (Páez-Osuna, 1996).

El manganeso no parece ser muy significativo como contaminante en el medio acuático, rara vez se encuentra en concentraciones que exceden 1 mg/L y debido a que su tolerancia para la vida acuática varía de 1,5 a 1000 mg/L no se considera un problema en aguas dulces. Sin embargo donde se efectúan operaciones de dragado o limpieza de canales que promueven condiciones reductoras, es bien conocida la movilidad que tiene este elemento y que por tanto puede enriquecer las aguas al menos localmente en niveles preocupantes (Páez-Osuna, 1996). El manganeso biológicamente es un micronutriente esencial para la mayoría de los organismos. No obstante, en cantidades excesivas afecta a los animales de modo adverso, causando calambres, temblores y alucinaciones, neumonía mangánica y degeneración renal (Duffus, 1984).

El hierro es un micronutriente esencial en cantidades traza para la mayoría de los organismos, pero la ingestión de cantidades excesivas puede originar la inhibición de la actividad de muchas enzimas (Duffus, 1984).

A continuación, se resumen las principales características a tener en cuenta en los estudios medioambientales sobre metales pesados y su importancia en estudios de contaminación:

- 1- Pb, Cu y Zn provocan una contaminación ubicua, lo que los hace buenos indicadores de la actividad humana, tanto urbana como industrial (Salomons, 1984; Baisch, 1988) inclusive, al hallar altos niveles de Pb y Cu pero no de Zn en muestras testigos, se plantea poca influencia de desechos domésticos.
- 2- Para los organismos, incluido el hombre, no puede establecerse un criterio único de metales y concentraciones a las que estos resultan tóxicos, aunque de forma general pueden considerarse como esenciales Mn, Fe, Co, Cu, Zn y como no esenciales o tóxicos Ni, Ag, Cd, Hg y Pb (Förstner, 1979).
- 3- Con el propósito de cuantificar el impacto ambiental, fueron propuestos en décadas pasadas los índices de potencial relativo de contaminación (Förstner, 1973) cuyas secuencias fueron: Pb ~ Hg ~ Cu > Cd > Zn > Sn > Cr > Ni > Fe = Mn > Co y Cd > Pb = Hg > Cu > Zn > Cr > Ni > Fe = Mn, respectivamente.
- 4- Específicamente para los sedimentos, en el segundo grupo, se enmarcan elementos altamente tóxicos y más críticos ambientalmente (Hg, Cd), buenos indicadores de contaminación industrial específica (Cr, Ni) o de las condiciones redox del sedimento (Fe, Mn) (Kouadio, 1987). Además, algunos elementos (Al, Fe, Mn), son constituyentes mayoritarios y, por lo general, sus variaciones reflejan mejor los cambios mineralógicos que los provocados por la contaminación, no siendo considerados buenos indicadores e, inclusive, utilizados para "normalizar" (González, 1989).

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA DE ANÁLISIS DE METALES PESADOS EN AGUAS

II.1. Métodos de análisis de metales pesados en muestras acuosas medioambientales

Los métodos de análisis de metales pesados según la legislación vigente medioambiental (Métodos oficiales de análisis, 1993), (Directiva 79/869/CEE) corresponden a determinaciones esencialmente monoelementales, utilizando técnicas tales como la espectrometría de absorción atómica, la polarografía y la espectrometría de absorción molecular. En este sentido, en la Tabla II.1 se detallan los métodos analíticos establecidos por diferentes normativas para la determinación de metales pesados en aguas potables, litorales y vertidos sobre aguas superficiales y que en muchos casos son aplicables a las aguas naturales (Directiva 79/869/CEE, 1988). Por otro lado, en la Tabla II.2 se recogen los límites de detección de los métodos analíticos habitualmente utilizados en la determinación de metales pesados en aguas (Fernández-Turiel, 1995).

Los métodos multielementales más útiles son la espectroscopía de emisión óptica y el acoplamiento entre esta técnica y la espectrometría de masas, ambas con fuente de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES e ICP-MS, respectivamente); para otras especies metálicas, como los organometálicos, se usan técnicas como la hibridación GC-MS.

Aunque, en la mayoría de los casos están presentes en muy pequeñas cantidades, determinados elementos pueden determinarse directamente con una técnica apropiada: Fe y Mn (colorimetría), Cd, Pb, Cu y Zn (voltamperometría de redisolución anódica, ASV) y Hg (espectroscopía de absorción atómica con vapor frío, CVAAS). Por otra parte, en ciertos casos es necesario, antes de proceder a la determinación, efectuar una preconcentración por medio de una de las técnicas siguientes: cambio iónico, coprecipitación o extracción líquido-líquido (Rodier, 1998).

Tabla II.1. Métodos analíticos recomendados por diferentes normativas para la determinación de metales pesados y elementos traza en aguas.

Elemento	MÉTODOS DE MEDICIÓN EN AGUAS POTABLES (Fernández-Turiel, 1995)		MÉTODOS DE MEDICIÓN EN AGUAS LITORALES	MÉTODOS DE MEDICIÓN EN VERTIDOS SOBRE AGUAS SUPERFICIALES
	ORDEN 01/07/1987 Métodos Oficiales de análisis (BOE 09/07/1987)	DECRETO 14/1996 Reglamento de calidad de aguas litorales (BOJA 08/02/1998) Andalucía)	DIRECTIVA 79/869/CEE: ORDEN 08/02/88	R.D 995/2000 Modificación del Reglamento de dominio público hidráulico (R.D. 849/1986) (BOE 21/06/2000)
Al	GFAAS	GFAAS ó FAAS		
As		HGAAS ó GFAAS	AAS, MAS	ICP ó AAS
B			AAS, MAS	
Ba			AAS	
Be			AAS	
Cd	GFAAS	GFAAS ó FAAS	AAS, P	
Co			AAS	
Cr		GFAAS ó FAAS ó MAS	AAS, MAS	ICP ó AAS
Cu	FAAS	GFAAS ó FAAS	AAS, MAS, P	ICP ó AAS
Fe	GFAAS		AAS, MAS	
Hg		CVAAS	AAS (CV)	
Mn	GFAAS		AAS, MAS	
Mo				
Ni		GFAAS ó FAAS	AAS	ICP ó AAS
Pb		GFAAS ó FAAS ó MAS	AAS, P	ICP ó AAS
Sb		GFAAS ó FAAS		
Se		HGAAS ó GFAAS	AAS	ICP ó AAS
V			AAS	
Zn	FAAS	GFAAS ó FAAS ó MAS	AAS, MAS	ICP ó AAS

AAS: espectroscopia de absorción atómica; MAS: espectrofotometría de absorción molecular; P: polarografía; CV: vapor frío; HG: generación de hidruros; F: llama; GF: horno de grafito; ICP: plasma acoplado inductivamente.

Tabla II.2. Límites de detección de los métodos analíticos utilizados en la determinación de metales pesados en aguas (Fernández-Turiel, 1995).

Elemento	LÍMITES DE DETECCIÓN			
	F-AAS (µg/L)	FG-AAS (µg/L)	ICP-AES (µg/L)	ICP-MS (µg/L)
Al	30	0,04	4	0,084
As	100 0,02 (HG)	0,2	20	0,016
B	700	20	2	0,40
Ba	8	0,1	0,1	0,022
Be	1	0,01	0,06	0,10
Cd	0,5	0,003	1	0,061
Co	6	0,01	2	0,027
Cr	2	0,01	2	0,11
Cu	1	0,02	0,9	0,077
Fe	3	0,02	1	2,5
Hg	0,008 (CV)	1	20	0,024
Mn	1	0,01	0,4	0,22
Ni	4	0,1	4	0,45
Pb	10	0,05	20	0,020
Sb	30 0,1 (HG)	0,2	60	0,024
Se	70 0,02 (HG)	0,2	60	1,1
V	40	0,2	2	0,030
Zn	0,8	0,01	1	0,15

AAS: espectroscopía de absorción atómica; F: llama; GF: horno de grafito; ICP : plasma acoplado inductivamente; MS: espectrometría de masas; AES: espectroscopía de emisión atómica; CV: vapor frío; HG: generación de hidruros.

Cuando se analizan aguas naturales hay que tener en cuenta que debido a la propia naturaleza del ciclo del agua y de sus efectos, presentan diferentes niveles de salinidad y concentraciones variables de casi todos sus componentes principales, por lo que, frecuentemente, se produce un efecto de matriz que dificulta la medida directa de los elementos metálicos. En estas muestras, sobre todo las muestras de mayor salinidad como son las de agua de mar, la etapa de preconcentración es, en muchos casos, fundamental por su doble valor de incrementar la señal del analito y de eliminar los posibles efectos interferentes de la matriz.

Entre los métodos de preconcentración, habitualmente empleados en el proceso de determinación de metales en muestras de ecosistemas acuáticos naturales, destacan la extracción en fase sólida, la precipitación y la electrodeposición, las técnicas de cambio iónico (entre ellas, el empleo de agentes inmovilizantes) y la extracción líquido-líquido con disolventes orgánicos, que destaca por su simplicidad y rapidez. En este sentido, cabe destacar que, en los últimos años, la tecnología de membranas, que se basa en una separación de especies mediante el acoplamiento en continuo de una extracción líquido-líquido seguida de un proceso de reextracción líquido-líquido, es una de las técnicas de preconcentración con grandes posibilidades de desarrollo y crecimiento, por su potencial amplio campo de aplicabilidad para la determinación de metales pesados en muestras ambientales.

Por otro lado, una complicación adicional que se presenta en el análisis metálico de las muestras de los ecosistemas acuáticos naturales es la actividad biológica, los movimientos naturales de las masas de agua y la complejidad de los fenómenos fisico-químicos de removilización/inmovilización que complican la distribución de las sustancias minerales y orgánicas entre diferentes fases físicas: disoluciones verdaderas, disoluciones coloidales, materias en suspensión de naturalezas, tamaños y cantidades variables, sedimentos y también películas de superficie formadas por los compuestos de densidad inferior a la del agua (Reeve, 1994).

Por todo ello, en este capítulo centraremos nuestra investigación en el desarrollo de un nuevo método de preconcentración novedoso, aplicando la tecnología de membranas líquidas. El metal sobre el que se ha desarrollado esta metodología es el níquel, de gran interés medioambiental.

II.2. El níquel, principales características y aplicaciones

II.2.1. El elemento níquel

El **níquel** se empleó en la antigüedad sin conocerlo, ocasionalmente como impureza del cobre. Una serie de monedas bactrias del antiguo imperio persa arrojaron una composición del 75,58% de cobre, y 20,94% de níquel, con algunas impurezas. Anterior a ellas -entre el 3100 y el 2800 a.C.- una figura de mujer de cobre y estaño, con un contenido en níquel bastante apreciable, apareció en las excavaciones de Amouq al norte de Siria. Éstas son las notas históricas que existen del níquel en la antigüedad (Solá, 2002).

Ya en el siglo XVII, los mineros alemanes de la baja Sajonia habían encontrado un mineral de color rojizo que por su apariencia debía contener cobre, metal muy importante para ellos. Sin embargo, todos los procedimientos empleados para su extracción resultaron baldíos, malgastándose tiempo y dinero. Como existía la voz **nikker**, en aquella zona para insultar, y calificar a algo de diabólico, asqueroso e inmundo, a aquel "mineral de cobre" del cual no pudieron extraerlo, le llamaron "**cobre del viejo nick**", o todavía mejor el "diabólico cobre" o **kupfernickel**, nombre que perdurará en el tiempo (Solá, 2002).

Este famoso mineral, motivo de tantos problemas mineros, fue objeto también de numerosas discusiones científicas. En 1729, Cramer, un minero sajón, sugiere que no puede contener otra cosa que el ya descubierto cobalto. Linneo especifica que contiene cobre y

arsénico y Wallerius, más tarde, que es un mineral de arsénico, hierro y cobalto. Todo ello se refuerza al aparecer un mineral semejante, en una mina de cobalto de Helsingland, en Suecia. Va a ser el químico sueco Cronstedt en 1754, quien determina que se trata de un nuevo metal. Evidentemente por acción del aire producía una tierra verde, tal como el cobre. Con "ácido vitriólico", generaba un compuesto verde, pero no daba las reacciones del cobre, con bórax, acqua fortis (ácido nítrico) o álcalis. Tampoco podría ser cobalto, pues "no se ajustaba a su comportamiento". Así surge el "**nickel de Cronstedt**". Este descubrimiento fue enseguida contestado fuera de Suecia y Alemania. Los químicos franceses, Sage en "Elementos de Mineralogía" de 1772 y Monnet en el "Tratado de la disolución de metales" de 1775, manifiestan que el cobalto y el níquel son el mismo elemento. Sólo las investigaciones efectuadas por los químicos de comienzos del siglo XIX lo confirmarán como nuevo metal (Solá, 2002).

En China también se conocía el níquel. Los alquimistas árabes habían incluido en su lista de los siete metales (como los siete planetas conocidos) al **khar sini** (hierro chino), que era utilizado para hacer espejos, con la peculiar propiedad de curar las enfermedades oftálmicas a aquellos que se miraran en ellos. Este hierro chino no era tal hierro (era plateado) sino una aleación de cobre, cinc y níquel que llevaba originariamente el nombre de **pai-t'ung** (cobre blanco). En el siglo XVII se produce una pequeña invasión de objetos de aquel país, extraídos de un mineral que llamaban **packfong** (transcripción fonética del nombre original) en cuya composición entraba el níquel (15,2 %), cobre (40,5 %) y cinc (44,3 %), material que luego sería imitado en las aleaciones alemanas **argentan** y **plata nueva**, pues su apariencia era similar a ésta sin contenerla, y con un costo muy inferior (Solá, 2002).

Como hemos dicho Alejandro Cronstedt, químico y mineralogista sueco, en 1751, analizando el referido mineral procedente de una mina del país, aísla el metal pero sin creer que fuera un único elemento, sino varios, y por relación con el primitivo **kupferniquel**, lo denomina **kopparnickel o nickel** en 1754, una vez definida la posibilidad que sólo fuera un único elemento. Debemos recordar que el **kupfer** (cobre

alemán) derivó al **copper** (cobre inglés) y al sueco **koppar**. Por lo tanto, la palabra **níquel** (español), **nickel** (alemán) y **nickel** (inglés) proceden en su origen remoto de la voz **nikker** (demonio), en bajo alemán a través de las modificaciones **kupfernickel** y **kopparnickel** (Solá, 2002).

Según manifiesta Thenard en 1824, en su tratado de Química, el níquel no tenía la menor importancia. Sin embargo, toda la metalurgia del níquel adquiere un gran desarrollo a partir del premio que la compañía alemana Verein zur Beförderung des Gewerbefleisses, prometió conceder al químico que creara una aleación que igualase en color a la plata de 12 quilates, con la que se pudiera hacer cualquier tipo de utensilio casero. De ahí partió el **argentán** y la **plata nueva** que después sería la **plata alemana** y la **alpaca** (Solá, 2002).

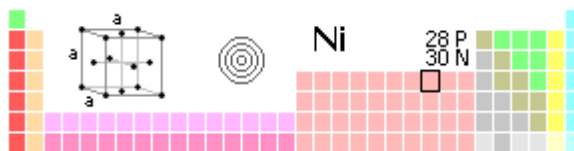
El símbolo actual deriva de dicho nombre, no así el primitivo formado por dos círculos de diferente tamaño unidos por un segmento vertical, que corresponderían al metal saliendo del cobre (Solá, 2002).

II.2.2. Características principales del níquel

El níquel fue descubierto hace unos 250 años. Es un elemento metálico y el quinto más abundante después del hierro, oxígeno, silicio y magnesio. Durante más de cien años ha sido reconocida su relación con ciertas enfermedades graves, las cuales han sido significativamente controladas por las medidas tomadas para minimizar la exposición ocupacional mediante el mejoramiento de su procesamiento (ENIA, 2006).

En la Tabla II.3 se detallan las principales propiedades del níquel. Es un metal de transición de color blanco plateado, conductor de la electricidad y del calor, es dúctil y maleable por lo que se puede laminar, pulir y forjar fácilmente, y presenta cierto ferromagnetismo. El níquel aparece en forma de metal en los meteoros junto con el hierro (formando las aleaciones kamacita y taenita) y posiblemente, en el núcleo de la Tierra junto con el mismo metal (Níquel, 2006).

Tabla II.3. Principales propiedades del níquel (Níquel, 2006).



Nombre, símbolo, Z: Níquel, Ni, 28
 Serie química: Metal de transición
 Grupo, periodo, bloque: 10, 4, d
 Configuración electrónica: [Ar] 3d⁸ 4s²
 Lustroso, metálico

Apariencia:



Propiedades atómicas

Masa atómica:	58,6934 uma
Radio atómico:	149 pm
- Medio †	135 pm
- Covalente	121 pm
- De Van der Waals	163 pm
Nº de oxidación (óxido):	2, 3 (levemente básico)
Electronegatividad:	1,91 (Pauling)
Potencial de ionización:	737,1 kJ/mol
- 2.º = 1753	- 3.º = 3395
	- 4.º = 5300

† Calculado a partir de distintas longitudes de enlace covalente, metálico o iónico.

Cont. Tabla II.3.Principales propiedades del níquel (Níquel, 2006).

Propiedades físicas

Estado:	Sólido
Estructura cristalina:	Cúbica centrada en las caras
Color:	Blanco plateado
Densidad:	8908 (kg/m ³)
Dureza:	4,0 (Mohs)
Conductividad eléctrica:	14,3×10 ⁶ S/m
Conductividad térmica:	90,7 W/(m·K)
Calor específico:	440 J/kg·K
Punto de fusión:	1728 K
Entalpía de fusión:	17,47 kJ/mol
Punto de ebullición:	3186 K
Entalpía de vaporización:	370,4 kJ/mol
Presión de vapor:	237 Pa a 1726 K
Velocidad del sonido:	4970 m/s a 293,15 K

Isótopos más estables

Iso.	AN (%)	Vida media	MD	ED (MeV)	PD
⁵⁶ Ni	Sintético	6,077 d	ε	2,136	⁵⁶ Co
⁵⁸ Ni	68,077	El Ni es estable con 30 neutrones			
⁵⁹ Ni	Sintético	76000 a	ε	1,072	⁵⁹ Co
⁶⁰ Ni	26,233	El Ni es estable con 32 neutrones			
⁶¹ Ni	1,14	El Ni es estable con 33 neutrones			
⁶² Ni	3,634	El Ni es estable con 34 neutrones			
⁶³ Ni	Sintético	100,1 a	β ⁻	2,137	⁶³ Cu
⁶⁴ Ni	0,926	El Ni es estable con 36 neutrones			

Valores en el SI y en condiciones normales (0 °C y 1 atm), salvo otra indicación.

Combinado se encuentra en minerales diversos como garnierita, millerita, pentlandita y pirrotina (Níquel, 2006).

Los yacimientos metalíferos de níquel están formados por acumulaciones de minerales de sulfuro de níquel (principalmente pentlandita) y lateritas. El níquel se extrae de la mena mediante procesos de afinado piro e hidrometalúrgico (IPCS INCHEM, 1991).

Las minas de Nueva Caledonia (Australia) y Canadá producen hoy día el 70% del níquel consumido. Otros productores son Cuba, Puerto Rico, Rusia y China (Níquel, 2006).

Es resistente a la corrosión y se suele utilizar como recubrimiento, mediante electrodeposición. El metal y alguna de sus aleaciones, como el metal Monel, se utilizan para manejar el flúor y algunos fluoruros debido a que reacciona con dificultad con estos productos.

Su estado de oxidación más frecuente es +2. Puede presentar otros estados de oxidación, como 0, +1 y +3 en complejos, pero son muy poco característicos (Níquel, 2006).

La especie más común en disolución acuosa es Ni^{2+} . En condiciones reductoras puede formar sulfuros insolubles, mientras que en condiciones aerobias el níquel puede formar complejos con los hidróxidos, carbonatos y ligandos orgánicos. Puede considerarse como un elemento traza esencial para algunas plantas y animales (APHA, 1998).

La mayoría del níquel es fundido con otros metales para formar aleaciones. Existe un estimado de 3000 aleaciones conteniendo níquel usadas cotidianamente. El ámbito de las propiedades de las aleaciones de níquel incluye superior dureza, resistencia, resistencia a la corrosión, propiedades magnéticas y electrónicas especiales y la capacidad de resistir temperaturas extremas (ENIA, 2006).

El níquel es abundante y más de un millón de toneladas son producidas anualmente en todo el mundo por operaciones de minería, laminado, fundición y refinación. No obstante, es también uno de los materiales más reciclados en la actual economía global. Si añadimos a esto el hecho de que la mayoría de los productos que contienen níquel poseen una larga vida de servicio, un promedio de más de 25 años,

tenemos una sustancia con una gran contribución al desarrollo sostenible (ENIA, 2006).

Aproximadamente el 65% del níquel consumido se emplea en la fabricación de acero inoxidable austenítico y otro 12% en superaleaciones de níquel. El restante 23% se reparte entre otras aleaciones, baterías recargables, catálisis, acuñación de moneda, recubrimientos metálicos y fundición (Níquel, 2006).

II.2.3. Transporte y distribución en el medio ambiente

El níquel es un metal traza ampliamente distribuido, que se encuentra en el suelo, el agua, el aire y la biosfera. La abundancia promedio en la corteza terrestre es de 1,2 mg/Kg; en los suelos es de 2,5 mg/Kg; y en terrenos cultivables puede encontrarse entre 3 y 1000 mg/kg. En las aguas naturales los niveles oscilan: entre 2 y 10 µg/L para aguas dulces, entre 0,2 y 0,7 µg/L para agua de mar y en las aguas subterráneas suele ser inferior a 0,1 µg/L. Las concentraciones atmosféricas de níquel en zonas remotas son de 0,1 a 3 ng/m³ (IPCS INCHEM, 1991).

El níquel se introduce en el medio ambiente a partir de fuentes tanto naturales como de origen humano y circula por todos sus compartimentos mediante procesos físicos y químicos, así como por el transporte biológico que efectúan los organismos vivos.

Se considera que en la atmósfera el níquel está principalmente en forma de aerosoles de partículas con distintas concentraciones del metal, en función de su procedencia. Las concentraciones más altas de níquel en el aire suelen aparecer en las partículas más pequeñas. El carbonilo de níquel es inestable en el aire y se descompone formando óxido de níquel (IPCS INCHEM, 1991).

El transporte y la distribución de las partículas de níquel a los diferentes compartimentos del medio ambiente o entre ellos dependen en gran medida del tamaño de las partículas y de las condiciones meteorológicas. La distribución por tamaños de las partículas depende

sobre todo de las fuentes de emisión. En general, las partículas de fuentes artificiales son más pequeñas que las que se encuentran en el polvo natural (IPCS INCHEM, 1991).

El níquel se introduce en la hidrosfera por eliminación desde la atmósfera, por la escorrentía superficial, por la descarga de residuos industriales y municipales, y también tras la erosión natural de los suelos y de las rocas. En los ríos, este elemento se transporta principalmente en forma de revestimiento precipitado sobre partículas y unido a materia orgánica; en los lagos, se transporta en forma iónica y de manera predominante unido a materia orgánica. Las partículas de arcilla también lo pueden absorber, y pasa a la biota por ingestión o absorción. El proceso de absorción se puede invertir, lo que se traduce en una liberación del níquel del sedimento. Los ríos y arroyos transportan una parte hasta el mar. El aporte fluvial de partículas suspendidas se estima en 135×10^7 kg/año (IPCS INCHEM, 1991).

En función del tipo de suelo, el níquel puede presentar una gran movilidad dentro del perfil edáfico hasta alcanzar las aguas subterráneas y, con ello, los ríos y lagos. La lluvia ácida tiene una marcada tendencia a movilizar el níquel del suelo. Las plantas terrestres lo absorben principalmente por las raíces. La cantidad absorbida depende de diversos parámetros geoquímicos y físicos, entre los que figuran el tipo de suelo, su pH y humedad, su contenido en materia orgánica y la concentración de níquel extraíble. El caso más conocido de acumulación de níquel es el de algunas especies de plantas (“hiperacumuladoras”), que crecen en suelos serpentinosos relativamente poco fértiles y en las que se han encontrado niveles superiores a 1 mg/kg de peso seco. Los niveles de níquel superiores a 50 mg/kg de peso seco son tóxicos para la mayoría de las plantas. Se han observado casos de acumulación y efectos tóxicos en hortalizas cultivadas en suelos tratados con fangos residuales y en la vegetación próxima a las fuentes de emisión del metal. En plantas acuáticas se han detectado factores de concentración elevados. Los estudios de laboratorio han puesto de manifiesto que la capacidad de acumulación de níquel en los peces examinados es escasa. En aguas no

contaminadas, las concentraciones halladas en los homogeneizados de tejidos de peces (sobre la base del peso fresco) oscilaron entre 0,02 y 2 mg/kg. Estos valores pueden ser hasta diez veces superiores en los peces procedentes de aguas contaminadas. Sin embargo, no hay pruebas de que se produzca bioacumulación del níquel en la cadena trófica (IPCS INCHEM, 1991).

El níquel se encuentra en muchos órganos y tejidos de animales silvestres, debido a su ingestión con los alimentos por los animales herbívoros y sus predadores carnívoros.

Es indispensable para la actividad catalítica de algunas enzimas vegetales y bacterianas. En algunas especies animales se ha señalado que una dieta carente de níquel provoca lentitud en la ganancia de peso, anemia y una disminución de la viabilidad de la descendencia (IPCS INCHEM, 1991).

La mayoría de las enzimas hidrogenasas contienen níquel, especialmente aquéllas cuya función es oxidar el hidrógeno. Parece que el níquel sufre cambios en su estado de oxidación lo que parece indicar que el núcleo de níquel es la parte activa de la enzima (Níquel, 2006).

El níquel está también presente en la enzima metil CoM reductasa y en bacterias metanogénicas (Níquel, 2006).

II.2.4. Ecotoxicología del níquel

Los niveles de níquel en los organismos terrestres y acuáticos pueden diferir en varios órdenes de magnitud. La exposición humana a los valores habituales en la atmósfera, que oscilan entre alrededor de 5 y 35 ng/m³ en zonas rurales y urbanas, hace que la inhalación de este elemento sea de 0,1-0,7 µg/día. Aunque el agua potable contiene menos de 10 µg/L, en ocasiones las uniones de las tuberías pueden liberarlo, dando lugar a concentraciones de hasta 500 µg/L (IPCS INCHEM, 1991).

Su concentración en los alimentos suele estar por debajo de 0,5 mg/kg de peso fresco. El cacao, la soja, algunas legumbres secas, diversos frutos secos y la harina de avena contienen elevadas concentraciones de níquel. Su ingestión diaria con los alimentos varía ampliamente en función de los diferentes hábitos alimentarios, y puede oscilar entre 100 y 800 $\mu\text{g}/\text{día}$; la ingestión media de níquel en la dieta es, en la mayoría de los países, de 100-300 $\mu\text{g}/\text{día}$. Los utensilios de cocina liberan níquel, lo que contribuye de manera considerable a su ingestión. Fumando 40 cigarrillos diarios, la absorción de este metal a través de los pulmones puede llegar a ser de 2-23 $\mu\text{g}/\text{día}$ (IPCS INCHEM, 1991).

La exposición cutánea en el medio ambiente general es importante, porque induce y mantiene la hipersensibilidad por contacto que produce en la piel el uso diario de objetos niquelados o con aleaciones de este metal (por ejemplo, joyería, monedas, "clips").

Puede haber exposición iatrogénica al níquel debido a las implantaciones y las prótesis hechas con aleaciones que lo contienen, a fluidos intravenosos o de diálisis y a los medios de contraste radiográfico. Se estima que la absorción media de níquel por vía intravenosa a partir de los fluidos de diálisis es de 100 μg por tratamiento (IPCS INCHEM, 1991).

En el ámbito laboral, la concentración en el aire puede variar desde varios mg/m^3 a, en ocasiones, unos g/m^3 , en función del proceso de que se trate y del contenido en níquel del material que se maneja (IPCS INCHEM, 1991).

Hay millones de trabajadores de todo el mundo expuestos a polvo y humo que contienen níquel durante las operaciones de soldadura, niquelado y pulimentado, la extracción minera, el refinado del níquel, y en las acerías, fundiciones y otras industrias metalúrgicas.

La exposición al níquel metal y sus compuestos solubles no debe superar los 0,05 mg/cm^3 medidos en niveles de níquel equivalente para una exposición laboral de 8 horas diarias y 40 semanales. Los vapores y el polvo de sulfuro de níquel se sospecha que son cancerígenos

(Níquel, 2006). El carbonilo de níquel ($\text{Ni}(\text{CO})_4$), generado durante el proceso de obtención del metal, es un gas extremadamente tóxico (Níquel, 2006).

Las personas sensibilizadas pueden manifestar alergias al níquel. La cantidad de níquel admisible en productos que puedan entrar en contacto con la piel está regulada en la Unión Europea; a pesar de ello, la revista *Nature* publicó en 2002 un artículo en el que investigadores afirmaban haber encontrado en monedas de 1 y 2 euros niveles superiores a los permitidos, se cree que debido a una reacción galvánica (Níquel, 2006).

Una evaluación del riesgo ambiental requiere un análisis (evaluación del efecto) que conduzca a determinar el nivel “seguro” de níquel en el ambiente. Ésta es la llamada *concentración ambiental de no riesgo establecida* (PNEC: nivel de concentración ambiental por debajo del cual el balance de probabilidades de que un efecto indeseado ocurra es despreciable). Este valor es comparado con la *concentración ambiental estimada* (PEC: concentración ambiental basada en los datos calculados o medidos) la cual es parte de la evaluación de exposición. La PEC es dividida por la PNEC y si la razón de la caracterización de riesgo resultante (RCR) es >1 se asume un riesgo para el ambiente. Este análisis se lleva a cabo para los organismos que viven en el agua, el sedimento, el suelo y los microorganismos en las plantas tratadas con aguas residuales (ENIA, 2006).

La evaluación de riesgo se desarrolla a partir de la premisa de que el ión níquel es el supuesto agente tóxico, resaltando la importancia de los estudios de especiación metálica.

II.3. Métodos de determinación de níquel en muestras acuosas

El interés por determinar el efecto que el níquel presente en aguas naturales puede producir sobre los procesos biológicos, así como por

conocer su especiación, muy importante en lo que se refiere a su solubilidad y biodisponibilidad, ha provocado una gran demanda de metodologías analíticas que puedan proporcionar determinaciones de Ni sensibles, rápidas y precisas.

La determinación de una especie a niveles traza comporta, normalmente, una serie de dificultades añadidas al problema analítico. Teniendo en cuenta las peculiaridades de este tipo de análisis, es conveniente que se lleve a cabo sometiendo la muestra a la menor manipulación posible, mediante métodos de determinación que permitan el análisis de la muestra sin alteraciones ni contaminación. Sin embargo, la mayoría de los métodos analíticos instrumentales disponibles en la actualidad no presentan las selectividades y sensibilidades que requiere la determinación de metales a niveles traza. Por otro lado, las denominadas interferencias de matriz, especialmente en agua de mar, pueden impedir dicha determinación directa.

Se han empleado diversas técnicas en el análisis de metales traza en matrices reales, entre ellas la espectroscopía de absorción atómica, la espectroscopía de emisión atómica con excitación por plasma acoplado inductivamente, fluorescencia de rayos-x y activación neutrónica (Locatelli, 2000). Generalmente, estas técnicas, requieren etapas previas de preconcentración y, además, en lo que se refiere a selectividad y sensibilidad, a menudo sólo se favorece uno de estos dos aspectos.

Por lo tanto, debido a la complejidad de la matriz, así como a las bajas concentraciones que los metales traza presentan en la mayoría de las muestras de agua de mar (los metales pesados traza se encuentran en aguas naturales a niveles muy bajos, típicamente en el rango de sub $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) (Betti, 1982), generalmente es necesario antes de proceder a la determinación de los mismos mediante las técnicas instrumentales apropiadas, realizar una etapa previa de preconcentración y/o separación, que permita aumentar la selectividad y sensibilidad del método.

De esta forma se emplean diversos procedimientos de preconcentración y separación de trazas metálicas tales como: preconcentración por extracción líquido-líquido con agentes quelatantes, preconcentración por intercambio iónico mediante una resina quelatante, preconcentración electroquímica en voltamperometría de redisolución anódica o preconcentración por coprecipitación o cocrystalización, así como separación por técnicas cromatográficas.

A continuación, se realizará una revisión de los métodos más importantes de determinación Ni en muestras acuosas, clasificándolos según el empleo o no de etapa previa de preconcentración y/o separación.

II.3.1. Métodos de determinación sin etapa previa de preconcentración

II.3.1.1. Determinación por Técnicas Voltamperométricas

Los métodos voltamperométricos son una opción bastante efectiva para el análisis multicomponente de metales en muestras acuosas, ya que, un único potencial de barrido en un electrolito soporte apropiado, puede exponer cualitativa, cuantitativa, selectiva y simultáneamente varias especies, todo ello empleando una instrumentación sencilla y mucho más económica que las empleadas por otras técnicas analíticas como por ejemplo, la espectroscopia de absorción atómica (AAS), la espectroscopia de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-AES) o el plasma acoplado inductivamente con espectrometría de masas (ICP-MS). La voltamperometría es una técnica que presenta buena precisión, exactitud y sensibilidad. La alta sensibilidad de estos métodos, puede asociarse con una selectividad considerable, especialmente si se emplea una segunda técnica de corriente alterna armónica. De cualquier manera, la selectividad se puede mejorar aún más mediante la introducción de nuevos tipos de

electrodos o mediante el desarrollo de nuevo métodos de análisis (Locatelli, 2000).

Para la determinación directa de metales se eligen a menudo las técnicas voltamperométricas de redisolución (Betti, 1982). Concretamente, la técnica electroanalítica más empleada para la determinación de níquel es la **Voltamperometría de Redisolución Catódica Adsorptiva (AdCSV)**. Esta modalidad presenta una serie de características que hacen de esta técnica una herramienta muy útil en el análisis de ciertos metales pesados a muy bajos niveles de concentración en agua de diferente salinidad, entre sus ventajas cabe mencionar sus excelentes niveles de sensibilidad, incluso inferiores a al Voltamperometría de Redisolución Anódica (ASV), su capacidad para realizar estudios de especiación en base a la metodología de la competición entre ligandos y su adaptabilidad para procesar muestras acuosas marinas, sin apenas pretratamiento.

Este método está basado en la formación de un complejo metálico entre un ligando normalmente de naturaleza orgánica, que se adiciona a la disolución de muestra, y el metal que se pretende determinar. Este método es muy útil para aquellos casos en los que el metal no forma amalgama con el electrodo de mercurio durante la etapa de deposición. El ligando empleado debe de cumplir dos requisitos principales:

- Tener capacidad para formar complejos con el elemento de interés. Este ligando suele caracterizarse por la presencia en su molécula de grupos donadores (O, N, S) y anillos aromáticos.
- El complejo producido debe poder adsorberse sobre la superficie del electrodo de mercurio.

Durante la etapa de deposición, el complejo metálico se acumula mediante adsorción en la superficie del electrodo, aplicando para ello un potencial de deposición, cuyo valor suele ser ligeramente mayor (aproximadamente 0,1 V) que el potencial de redisolución del complejo metal-ligando. La adsorción de los complejos podría explicarse por la

existencia de interacciones electrostáticas, así como interacciones de electrones π .

En la etapa de redisolución se realiza el barrido de potencial hacia valores más negativos. Esto puede provocar la reducción de un grupo oxidante del ligando o bien del propio metal en el complejo adsorbido, generando una corriente cuya intensidad se registra.

La respuesta resultante se comporta de acuerdo a la correspondiente isoterma de adsorción, debido a que la concentración del analito en la superficie (Γ) es proporcional a la concentración en la disolución (C). La isoterma que se usa con más frecuencia es la isoterma de Langmuir que se expresa mediante la Ecuación 1.

$$\Gamma = \Gamma_m \left(\frac{BC}{1 + BC} \right) \quad \text{Ecuación 1}$$

siendo Γ_m la concentración correspondiente a la cobertura de una monocapa en la superficie y B el coeficiente de adsorción. Las gráficas de calibración muestran a menudo desviaciones de la linealidad a relativamente “elevadas” concentraciones ($> 10^{-7}$ M), que corresponde a un recubrimiento total de la superficie.

El procedimiento de acumulación adsorptiva da lugar a una preconcentración muy efectiva, que permite la realización de medidas ultrasensibles, por debajo de 10^{-10} M, empleando tiempos de preconcentración cortos. Sin embargo, para alcanzar altas sensibilidades, es esencial optimizar las variables operacionales (pH, potencial de acumulación) que favorecen la adsorción.

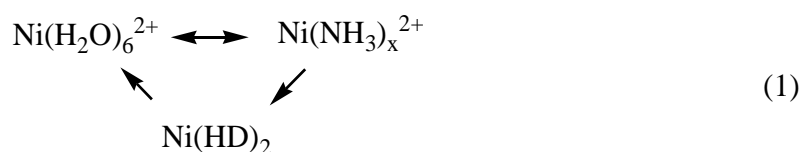
Es un método muy sensible para la determinación de ciertos metales traza, cuya cuantificación mediante otros métodos de redisolución es complicada o no es factible (van den Berg, 1988b, 1988c, 1991; Wang, 1989; Schwedt, 2001).

Esta técnica ha sido satisfactoriamente aplicada a la determinación simultánea de trazas de níquel y cobalto (Golimowski, 1980; Pilhar, 1981; Ostapczuk, 1983, 1984). Para estos dos metales, la disolución de la muestra es ajustada a pH 9,2 con un tampón amoniacal y se añade suficiente dimetilglioxima (DMG) hasta alcanzar una concentración aproximada de 10^{-4} M; una porción del Ni (II) y Co (II) presentes se complejan como $\text{Ni}(\text{DMG})_2$ y $\text{Co}(\text{DMG})_2$ mientras el resto de los dos metales forman sus amino complejos. Los complejos de dimetilglioxima se adsorben en la superficie del electrodo de gota colgante de mercurio (HMDE), o del electrodo estacionario de gota de mercurio (SMDE), según la técnica empleada. Para alcanzar óptimas condiciones de adsorción, el electrodo es mantenido durante algunos minutos a un potencial de $-0,7$ V (Ag/AgCl), produciéndose el proceso de preconcentración. se transfiere a la interfase. Posteriormente, la agitación es parada y el potencial es barrido en la dirección negativa del potencial de reducción del níquel y el cobalto. Para concentraciones ultra-traza de los dos metales, este barrido a potenciales más negativos se hace en el modo diferencial de pulso (AdCSV-DP). Como las reacciones de todos complejos formados en la muestra se encuentran en equilibrio, el proceso de adsorción de los complejos de DMG permanece proporcional a la concentración total de los metales siempre que se evite la saturación de la superficie del electrodo. Esto puede lograrse con la apropiada selección de la concentración del tampón de amoníaco y el tiempo que se aplica el potencial de adsorción (Nürnberg, 1984).

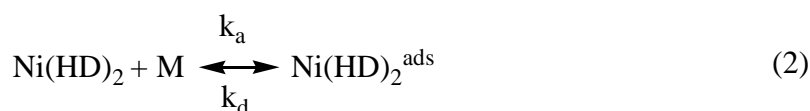
Este enfoque adsortivo proporciona una preconcentración electroquímica muy eficiente y puede ser extendida a muchos otros casos (Ostapczuk, 1983, 1984).

Pihlar y colaboradores realizaron una serie de trabajos encaminados al estudio de la reducción electroquímica de Ni^{2+} en el electrodo de gota colgante de mercurio en presencia de dimetilglioxima. En uno de sus trabajos ellos plantean el mecanismo de esta reacción. La reacción en general según estos autores puede ser dividida en tres partes: (a) el equilibrio homogéneo entre las diferentes especies de

níquel en disolución, (b) el proceso de adsorción y (c) la reducción del compuesto adsorbido por transferencia de carga irreversible. Los pasos b y c son lentos en la escala de tiempo de la técnica usada y ambos dependen del potencial de electrodo. La reacción más importante en el seno de la disolución en presencia de los ligandos amino y dimetilglioxima implica el equilibrio:



En base a las mediciones efectuadas en este trabajo se concluye que la especie adsorbida en el electrodo polarizado es un quelato neutro:



Donde M representa un “sitio” libre en la superficie del electrodo, y $\text{Ni(HD)}_2^{\text{ads}}$ representa el complejo bis(dimetilglioximato)níquel(II) adsorbido en la interfase; k_a y k_d representan las constantes de velocidad para la adsorción y la desorción respectivamente. En algunas de las conclusiones generales del trabajo se plantea que el níquel es reducido desde su estado adsorbido como el complejo bis(dimetilglioximato)níquel(II). Que la reducción del Ni(DMG)_2 adsorbido aparece a potenciales más negativos que la reducción del complejo Ni-amino, ya que la adsorción del quelato DMG incrementa la energía requerida para la reducción del metal. Que el proceso de reducción es totalmente irreversible, no solo en presencia, sino también en ausencia del ligando DMG. Y que la concentración superficial del Ni(DMG)_2 el cual es adsorbido, depende de la concentración de esta especie en el seno de la disolución de acuerdo con el equilibrio dinámico entre las diferentes especies de níquel

cuando el amino u otros ligandos están presentes en cantidades superiores (Pihlar, 1986).

Bond y Luscombe examinan el método de voltametría diferencial de pulso adsortiva para la determinación de níquel y cobalto para corroborar si los métodos voltamétricos adsortivos proporcionan resultados equivalentes a los métodos ampliamente usados de voltametría de redisolución anódica, cuando se aplican a estudios de especiación en sistemas de aguas naturales. Afirman que resulta muy significativo el hecho de que en contraste con los métodos de voltametría de redisolución anódica para la determinación de cobre, plomo y cadmio en aguas naturales, los resultados para cobalto y níquel son esencialmente independientes de la presencia o ausencia de métodos de pretratamiento con irradiación ultra-violeta que ayuden a eliminar el material orgánico disuelto. Por lo tanto esto sugiere, según ellos plantean, que la dimetilglioxima, que es el reactivo orgánico que se utiliza en el método de voltametría adsortiva para la determinación de cobalto y níquel, no solo es capaz de determinar los complejos lábiles de níquel y cobalto en la forma en que se determina en voltametría de redisolución anódica, sino también la mayoría de los complejos de cobalto y el níquel enlazados con la materia orgánica. Concluyen diciendo, que esto es debido a la alta constante de estabilidad y especificidad de la dimetilglioxima hacia el níquel y el cobalto, lo que hace posible la determinación de la concentración esencialmente total de estos metales (Bond, 1986).

En la determinación de níquel también se han utilizado otros agentes complejantes, tales como: 2,2'-bipiridina, dimetilglioxima, 1-(2-piridilazo)-2,7-dihidroxi-naftaleno y nioxima, aunque ha sido el empleo de dimetilglioxima (DMG) el que mejores resultados ha aportado (Adeloju, 1999).

La mayoría de las determinaciones de níquel y cobalto por voltametría de redisolución catódica adsortiva (AdCSV) se han basado en el uso del electrodo de gota colgante de mercurio (Godlewska, 1995; Flora, 1980; Sanlloriente, 1996; Zheng-Qi, 1993; Golimowski, 1980); Zhang, 1989; Adeloju, 1984). En años recientes, el uso del electrodo de

película de mercurio ha sido recogido en la bibliografía para determinaciones individuales o simultáneas de níquel y cobalto (Economou, 1993; Eskilsson, 1985; Brett, 1991; Adeloju, 1994).

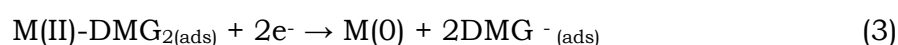
Donat y Bruland desarrollaron un método muy sensible para la determinación de cobalto y níquel en agua de mar, determinando concentraciones del orden de picomoles y nanomoles para cobalto y níquel respectivamente. Los complejos de Co (II) y Ni (II) con ciclohexano-1,2-diona dioxina (nioxima) fueron concentrados a partir de 10 mL de muestra sobre la superficie del electrodo de mercurio (HMDE) por adsorción controlada y la corriente resultante de la reducción del Co (II) y el Ni(II) fue medida por voltamperometría de redisolución diferencial de impulso. Los límites de detección obtenidos fueron de 6 pM para Co y 0,45 nM para Ni, con un tiempo de deposición 15 minutos (Donat, 1988).

Hao Zhang y colaboradores estudiaron la determinación simultánea de Ni y Co en agua de mar por voltamperometría de redisolución catódica adsortiva de onda cuadrada. Realizaron una comparación entre la voltamperometría de redisolución catódica diferencial de pulso y la voltamperometría de redisolución catódica de onda cuadrada; concluyeron que la última técnica resulta la más conveniente debido a su mayor sensibilidad y mayor velocidad de barrido (Zhang, 1989).

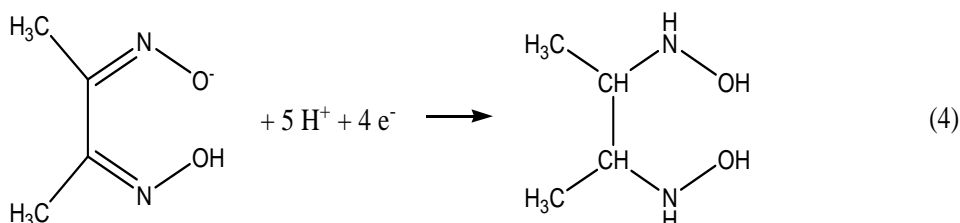
Colombo y van den Berg han propuesto la determinación simultánea de Cu, Pb, Cd, Ni, Co y Zn en agua de mar, usando la voltamperometría de redisolución catódica con una mezcla de ligandos. Con este método logran un barrido con seis señales correspondientes a estos metales, usando una combinación de dimetilglioxima (DMG) y oxina (8-hidroxiquinoleína) en agua de mar. Estos metales pueden ser cuantificados a concentraciones superiores a 0,3 nM de Cu; 0,2 nM de Pb; 0,1 nM de Cd; 0,4 nM de Ni; 0,6 nM de Zn y 0,02 nM de Co (Colombo, 1997).

Feng Ma y colaboradores publicaron un interesante trabajo, en el cual proponen el mecanismo de reducción electroquímica durante el proceso de redisolución de los complejos de níquel y cobalto con la

dimetilglioxima. En este trabajo ellos establecieron que la reducción de los dimetilglioximatos de níquel y cobalto, adsorbidos en el electrodo de película de mercurio, es un proceso de 10 electrones. Según el mecanismo propuesto por estos autores es el reactivo, además del ion metálico del complejo, los que se reducen en la superficie del electrodo. Ellos argumentan que como la diferencia entre los potenciales de reducción de los complejos de níquel y cobalto con la dimetilglioxima es de aproximadamente 0,11 V, resulta razonable creer que el paso inicial es la reducción del ion central de acuerdo a la siguiente reacción:



seguido por la reducción de cuatro electrones de cada ligando glioximato. Según estos autores resulta razonable asumir que esta reducción no implica la ruptura del enlace N-O en el ligando. De este modo, la formación de grupos hidroxilamino es más probable que sea la reacción predominante.



Consecuentemente la reducción del complejo $M(II)\text{-DMG}_2$ requiere de 10 electrones. Dos para el ion metálico y cuatro para cada uno de los dos ligandos (Ma, 1997).

Iliadou y colaboradores han propuesto un método para la determinación simultánea de Ni, Co, Cd, Pb y Cu por voltamperometría adsorbtiva usando como agente quelatante selectivo el compuesto 1-fenilpropano-1-pentilsulfonilhidrazona-2-oxima. Los cinco metales dan

señales electroquímicas con una separación de 120-220 mV, permitiendo su determinación en un amplio rango de concentraciones. El límite de detección varía en el rango de 0,06-1,20 $\mu\text{g/L}$ y la desviación estándar relativa (%) a los niveles de concentración de 7,81 $\mu\text{g/L}$, varía en el rango de 2,7-5,2 %. El método fue aplicado a muestras de aguas naturales (Iliadou, 1997).

Bing y colaboradores desarrollaron un electrodo sólido libre de mercurio para la determinación voltamperométrica de trazas de níquel (II) en disolución. Para este propósito construyeron un electrodo de carbón vítreo modificado (CME's) recubierto con un polímero conteniendo el ligando quelatante. El polímero se preparó con cloruro de polivinilo y polianilina, adicionando dimetilglioxima. Las trazas de níquel (II) se determinaron en disolución acuosa tamponada con amoníaco. El límite de detección obtenido para Ni (II) con un tiempo de deposición de 240 s fue estimado en 18 $\mu\text{g/L}$ de metal (Bing, 1999).

Ghoneim y colaboradores realizaron la determinación simultánea de Cd, Pb, Cu, Sb, Bi, Se, Zn, Mn, Ni, Co y Fe en muestras de aguas. Primero aplicaron la voltamperometría de redisolución anódica diferencial de impulso (DPASV) para la determinación simultánea directa de Cd, Pb, Cu, Sb y Bi en disolución de HCl 0,1 M (pH=1), conteniendo NaCl 2 M. A continuación, mediante voltamperometría de redisolución diferencial de impulso catódica (DPCSV) se determina Se en la misma disolución. Posteriormente, y tras aumentar el pH a 4 evaluaron el Zn por DPASV. Una nueva subida a pH 8,5 por adición de una disolución tampón $\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}$ permitía la la determinación de Mn por DPASV. Ni y Co fueron determinados en la misma disolución por voltamperometría de redisolución diferencial de impulso adsortiva (AdCSV-DP) después de añadir DMG (1×10^{-4} M). Finalmente, y por adición de disolución de 2-(5-bromo-2-piridilazo)-5-dietilaminofenol (5-Br-PADAP) se determinaba el hierro. El esquema de análisis propuesto fue aplicado a la determinación de estos once elementos en algunas muestras de aguas subterráneas (Ghoneim, 2000).

Ensafi y Zarei propusieron un método de determinación simultánea de cantidades traza de Cd, Ni y Co en muestras de agua (sintéticas y

reales) por voltamperometría adsorptiva usando como agente selectivo quelatante el amonio 2-amino-ciclopentano ditiocarboxilato. Los picos de corriente de reducción de los metales, con una resolución de 200 mV o más, permitieron su determinación en un amplio rango de concentraciones (Ensafi, 2000).

Korolczuk describió un procedimiento voltamperométrico para la determinación directa de Ni en aguas naturales. El procedimiento está basado en la deposición del metal en estado metálico y después su oxidación en presencia de dimetilglioxima con la formación de un complejo que es adsorbido en la superficie del electrodo. La reducción del metal, destruyendo el complejo es aprovechada en el paso de detección. Debido a la aplicación de un potencial de deposición suficientemente negativo, se minimizan las interferencias de sustancias surfactantes. Los límites de detección alcanzados fueron de 2×10^{-9} y 2×10^{-10} M de Ni para tiempos de deposición de 30 y 120 s, respectivamente (Korolczuk, 2000).

Xue y colaboradores aplicaron la técnica de intercambio de ligando con dimetilglioxima y voltamperometría diferencial de pulso de redisolución catódica para determinar la especiación del níquel en muestras de agua de lago, río y subterránea. En la aproximación utilizada aquí para el intercambio de ligandos, se añade la dimetilglioxima a la muestra de agua, para competir por el níquel con los ligandos naturales. Los complejos de Ni-Dimetilglioxima formados son medidos por voltamperometría diferencial de pulso de redisolución catódica adsorptiva (CSV-DP) (Xue, 2001).

González y colaboradores determinaron Ni por voltamperometría de redisolución anódica adsorptiva (AdASV), utilizando un electrodo de pasta de carbono (CPE) modificado con un intercambiador iónico. El electrodo se construye incorporando el intercambiador iónico Dowex 50W x 12 (en forma de H^+) a la pasta Nujol-grafito. El límite de detección fue de 0,005 $\mu g/L$ con una velocidad lineal de barrido de potencial de 200 mV/s (González, 2002).

Farghaly desarrolló un método de determinación directa y simultánea de Cd, Pb, Cu, Zn, Ni y Co en muestras de agua potable. El contenido total de Cd, Cu, Pb y Zn se analizó por voltamperometría de redisolución anódica diferencial de impulso (ASV-DP), mientras que Ni y Co fueron determinados por voltamperometría de redisolución diferencial de impulso adsortiva (AdCSV-DP), usando dimetilglioxima (DMG) como agente complejante. Este método usa sulfito de sodio como electrolito soporte, el cual facilita la eliminación de la interferencia del oxígeno sin necesidad de la tradicional purga con un gas inerte. El electrodo utilizado fue de carbón vítreo con película de mercurio (Farghaly, 2003).

Morfobos y colaboradores propusieron un método de voltamperometría de redisolución adsortiva de onda cuadrada (AdCSV-SW) para la determinación simultánea de Ni y Co sobre un electrodo de disco rotatorio con película de bismuto (BFE). Los iones metálicos en la muestra no desoxigenada, fueron complejados con dimetilglioxima (DMG) y los complejos fueron acumulados por adsorción sobre la superficie del BFE. La etapa de redisolución fue llevada a cabo usando una señal de excitación voltamétrica de onda cuadrada potencial-temporal. El límite de detección del método fue de 70 ng/L para Co y de 100 ng/L para Ni (Morfobos, 2004). Este nuevo tipo de electrodo es una alternativa muy deseable frente al uso de los electrodos de Hg, debido a la conocida toxicidad de este metal, particularmente para monitorización *in situ*. Así, se ha propuesto el uso de películas finas de bismuto depositadas *in situ* sobre sustratos de platino o carbón vítreo como electrodo. El bismuto es “ambientalmente amistoso”, con una toxicidad baja y un extendido uso farmacéutico.

Kiptoo y colaboradores publicaron un estudio sobre la especiación de Ni y Cr en aguas residuales de plantas de galvanotecnia. El esquema de especiación empleado por estos autores combina la utilización de la Absorción Atómica con Llama (FAAS), para la determinación de los contenidos totales, con la voltamperometría diferencial de pulso de redisolución catódica adsortiva (AdCSV-DP). Para las determinaciones voltamperométricas adsortivas ellos

emplearon la dimetilglioxima (DMG) y el ácido dietilentriamino-pentaacético (DTPA) como agentes complejantes del Ni y Cr, respectivamente (Kiptoo, 2004).

Cobelo-García y colaboradores presentaron un método de determinación directa simultánea de Cu, Ni y V en agua de mar por voltamperometría de redisolución catódica adsortiva (AdCSV), usando como agente quelatante selectivo una mezcla de ligandos, conteniendo dimetilglioxima y catecol. Los límites de detección obtenidos fueron de 0,5 nM para Cu; 0,4 nM para Ni y 0,3 nM para V (Cobelo-García, 2005).

Rezaei y Rezaei utilizaron la técnica de voltamperometría de redisolución catódica adsortiva para la determinación simultánea de Ni, Co y Zn con dimetilglioxima (DMG) como agente quelatante en residuos de plantas de galvanotecnia. Estudiaron el efecto de la relación agua-etanol en el electrolito, siendo la relación 1:5 la más adecuada. Los metales estudiados pudieron ser determinados a concentraciones superiores a 0,003 µg/L de Ni; 0,02 µg/L de Co y 0,1 µg/L de Zn. La desviación estándar relativa (%) del método a niveles de concentración de 0,10 µg/L de Ni; 0,10 µg/L de Co y 0,30 µg/L de Zn fueron 2,3; 2,0 y 3,3 %, respectivamente (Rezaei, 2006).

Legeai y colaboradores utilizaron el electrodo de película de bismuto por electrodeposición sobre un sustrato de cobre para la determinación de Ni en disoluciones no desaireadas, como alternativa al uso del electrodo de Hg. Emplearon como electrolito tampón de amoníaco obtienen picos bien definidos con baja señal de fondo mediante la voltametría de onda cuadrada, usando la dimetilglioxima como agente complejante. Las curvas de calibración obtenidas para el níquel fueron lineales en el rango de concentraciones desde 10^{-8} hasta 10^{-7} M y desde 10^{-7} hasta 10^{-6} M, con una desviación estándar relativa del 5% (n=15) al nivel de 10^{-7} M. La metodología analítica propuesta fue aplicada satisfactoriamente para monitorizar el contenido de Ni²⁺ en baños electrolíticos industriales, aguas subterráneas y agua potable. Estos resultados abren la posibilidad del uso de electrodos de película de

bismuto como una alternativa frente a los electrodos basados en mercurio para el análisis de níquel (Legeai, 2006).

En esta Tesis Doctoral, en el capítulo de evaluación de la contaminación en aguas de la Cuenca del Río Martín Pérez se ha empleado, entre otras, la Voltamperometría de Redisolución Catódica de Impulso Diferencial con adición de DMG para el análisis de Ni y Co y la Voltamperometría de Redisolución Anódica de Impulso Diferencial para el análisis de Zn, Cu, Cd y Pb.

II.3.1.2. Determinación por Espectroscopía Atómica

El análisis de metales en muestras acuosas se realiza con gran eficacia mediante el empleo de la espectroscopía atómica. En el caso del análisis de metales traza en aguas, la sensibilidad requerida implica el uso de la atomización electrotérmica con horno de grafito (GF-AAS), técnica de gran interés ya que ofrece un análisis simple y muy selectivo, aunque la determinación directa en algunos casos es complicada debido a los bajos niveles de concentración, pero sobre todo por los efectos de matriz en muestras con salinidad significativa. Todo ello, puede dificultar la determinación produciéndose la absorción de fondo que puede aumentar el ruido de la línea base y provocar interferencias espectrales, e incluso la presencia de esta matriz, puede provocar también un efecto depresivo en la señal de atomización. Algunas veces, este problema puede solucionarse usando el horno de grafito con plataforma de L'vov que evita los cambios rápidos de temperatura. También pueden emplearse modificadores de matriz.

Gupta y Bouvier desarrollaron un método para la determinación directa de trazas de plata, cadmio, plomo, bismuto, cromo, manganeso, cobalto, níquel, litio, berilio, cobre y antimonio en muestras de aguas ambientales y material geológico mediante la determinación simultánea multielemental por espectrometría absorción atómica con horno de grafito, con corrección de fondo con efecto Zeeman. Como modificador químico de la matriz utilizan una mezcla de nitrato de paladio y nitrato de magnesio. El método fue contrastado con veintitrés rocas y

sedimentos de referencia internacionales y siete muestras de referencia de aguas, mostrando muy buenos resultados (Gupta, 1995).

Feuerstein y Schlemmer aplicó un método similar para la determinación simultánea de ultratrazas de plomo, cadmio, cromo, cobre y níquel en aguas superficiales y potables mediante GH-AAS. La determinación multielemental se lleva a cabo con un espectrómetro equipado con un atomizador de grafito con calentamiento transversal. Se utilizó el mismo modificador químico de la matriz que en el caso anterior. El método fue optimizado con respecto al límite de determinación (L.O.D.) por debajo de 1 µg/L para Pb, Cd, Cr, Cu y Ni y 0,1 µg/L para Cd, respectivamente (Feuerstein, 1999).

Filho y colaboradores aplicaron este último método para la determinación simultánea de cadmio, cromo, níquel y plomo en muestras de agua mineral utilizando GH-AAS con un atomizador de grafito de calentamiento transversal y sistema de corrección de fondo longitudinal de efecto Zeeman y el mismo modificador de matriz. Los límites de detección obtenidos basados en la absorbancia integrada fueron de 0,002 µg/L para Cd, 0,94 µg/L para Cr, 0,45 µg/L para Ni y 0,75 µg/L para Pb (Filho, 2004).

Actualmente, el empleo cada vez mayor en los laboratorios de análisis de la espectroscopía de emisión atómica con plasma acoplado con la espectrometría de masas (ICP-MS) que permite el análisis elemental de trazas con una alta sensibilidad y con una capacidad multielemental de detección, está desplazando el uso de la espectroscopía de absorción atómica.

Yang y colaboradores proponen un nuevo enfoque de introducción discreta de muestra basado en la ablación por láser (LA) para la determinación directa de algunos metales traza en muestras acuosas por ICP-MS. El método consiste en preparar microgotas secas de la muestra, previamente mezcladas con una matriz de acetato de sodio, sobre las que actúa el láser de forma cuantitativamente desde un sustrato de poliestireno. La calibración se lleva a cabo mediante el método de adición de estándar o dilución isotópica, dando resultados

precisos para Ni, Cd, y Pb en agua potable y Se en extracto de levadura. Comparada con la nebulización tradicional, la introducción de muestras mediante LA presenta una mejora de 2-7 veces en la sensibilidad absoluta y del 2-14% en la eficiencia de transporte para los elementos examinados (Yang, 2005).

Louie y colaboradores describen un método de determinación directa de algunos elementos de transición en agua de mar por el método de Celda de Reacción (CR)-Plasma de Acoplamiento Inductivo con Espectrometría de Masas (ICP-MS) usando amoníaco como gas de reacción. En este estudio el CR-ICP-MS fue usado para la determinación de cromo, cobre, manganeso, níquel y vanadio en agua de mar. A través de la celda de reacción se produce el paso de amoníaco gaseoso para reducir las interferencias iónicas moleculares. Estas interferencias generalmente producen un falso positivo cuando se utiliza un cuadrupolo ICP-MS de baja resolución para analizar agua de mar. Con este método lograron buenas recuperaciones para V-51, Cr-52 y Mn-55 en muestras de referencia certificadas de aguas de mar: CASS-4, NASS-4 y SLEW-3, analizadas con dilución 1:10. Las interferencias iónicas moleculares fueron reducidas significativamente, pero no completamente eliminadas para Ni-58 y Cu-63, dando un aumento parcialmente positivo típicamente no mayor que 0,3 µg/L de metal (Louie, 2002).

II.3.1.3. Determinación por Espectroscopía de Absorción Molecular UV-Visible

El níquel ha sido determinado espectrofotométricamente utilizando su efecto catalítico sobre determinadas reacciones. Los métodos catalíticos cinéticos se usan regularmente para la determinación de elementos traza desde que se demostró que ofrecen al analista alta sensibilidad y una simplicidad relativa.

Existen muchos métodos cinéticos para la determinación de níquel a nivel de traza basados en el efecto de este ion en varios indicadores de reacción orgánicos o inorgánicos.

La instrumentación usada por estos métodos es menos compleja que la de espectroscopía de absorción o emisión atómica. La principal limitación de los métodos cinéticos es que en muchos casos la alta sensibilidad va acompañada por una pobre selectividad, usualmente debido a que varios metales de transición presentan efecto catalítico similar. Por otro lado, los métodos que presentan buena selectividad tienen usualmente límites de detección pobres. Por consiguiente, el desarrollo de métodos catalíticos más sensibles y selectivos para la determinación cinética de níquel está todavía en estudio.

Mentasti y colaboradores desarrollaron un procedimiento para la determinación simultánea de cinc, magnesio, cobre y níquel mediante una reacción de sustitución de ligando. Ellos estudiaron la reacción de sustitución entre los complejos de Zn(II), Mg(II), Cu(II) y Ni(II) con calmagita (ácido 1-(1-hidroxi-4-metil-2-fenilazo)-2-naftol-4-sulfónico) y con EDTA, los cuales fueron estudiados a 25 °C y pH 9,5 por el método espectrofotométrico de "stop-flow". Las reacciones fueron de primer orden para los complejos de Zn, Cu y Ni, mientras que con EDTA fue observada para el Mg una dependencia de orden cero. Se evaluó el cambio de absorbancia a 500 nm, acompañado de la reacción de sustitución para la determinación del ion metálico. Para las mezclas multicomponentes como la de Zn, Mg y Cu o Ni, la variación de la absorbancia durante la reacción fue separada cinéticamente para cada componente, en el orden de reactividad Zn>Mg>Cu≈Ni, de modo que los iones metálicos pueden ser determinados simultáneamente a concentraciones inferiores a 10^{-6} M. El método fue aplicado al análisis de mezclas estándares y muestras de agua de río, agua de grifo y agua mineral (Mentasti, 1985).

Fu-sheng y colaboradores desarrollaron un procedimiento simple, selectivo y altamente sensible, para la determinación directa por espectrofotometría UV-Visible de níquel. Ellos hacen reaccionar el níquel a pH 5,5 con el 2-(5-bromo-2-piridilazo)-5-dietilaminofenol en medio agua-etanol para formar un complejo rojo-violeta que tiene dos máximos de absorción, uno a 520 nm y el otro a 560 nm. La absorptividad molar a 560 nm es $1,26 \times 10^5$ L.mol⁻¹.cm⁻¹. La ley de Beer

se cumple en el intervalo de 0-15 $\mu\text{g/L}$ de níquel. Por este método ellos determinaron níquel en aleaciones de aluminio y en aguas residuales de plantas de galvanotecnia (Fu-sheng, 1980).

II.3.1.4. Determinación por Espectroscopía de Luminiscencia Molecular

Uno de los aspectos más atractivos de la luminiscencia es su inherente sensibilidad, de gran interés en análisis de trazas metálicas, con límites de detección que suelen ser de uno a tres órdenes de magnitud inferiores a los encontrados en la espectroscopía de absorción. Los límites de detección característicos son del orden de partes por billón. Otra ventaja de los métodos luminiscentes radica en sus amplios intervalos de linealidad, que también suelen ser significativamente mayores que los encontrados en los métodos de absorción. Debido a su alta sensibilidad, los métodos luminiscentes cuantitativos suelen sufrir serios efectos de interferencias procedentes de la matriz de la muestra, frecuente en muestras acuosas de salinidad destacada. Por esta razón las medidas luminiscentes se suelen combinar con técnicas de separación previas. Por último, hay que recordar que los métodos luminiscentes se aplican menos que los métodos de absorción en los análisis cuantitativos debido a que el número de especies que absorben radiación ultravioleta/visible es mucho mayor que el de especies que presentan fotoluminiscencia.

Jiang y colaboradores publicaron un procedimiento para la determinación fluorescente de trazas metálicas en disolución acuosa. Utilizan una disolución tampón adecuada para la reacción del dietil-ditiocarbamato de sodio (NaDDC) con algunos iones metálicos divalentes $M(\text{II})$ para formar el quelato, el cual exhibe distintas propiedades luminiscentes. Determinaron la aparición de un pico fuertemente luminiscente a 470 nm para el sistema $\text{Co}(\text{II})\text{-DDTC}$, tres picos a 330, 470 y 630 nm para el sistema $\text{Cu}(\text{II})\text{-DDTC}$, tres picos a 420, 470 y 630 nm para el sistema $\text{Cd}(\text{II})\text{-DDTC}$, cuatro picos a 350, 400, 435 y 470 nm para el sistema $\text{Ni}(\text{II})\text{-DDTC}$, dos picos a 408 y 470 nm para el sistema $\text{Pb}(\text{II})\text{-DDTC}$ y dos picos a 415 y 470 nm para el

sistema Fe(II)-DDTC. En condiciones óptimas, la intensidad de luminiscencia del quelato de níquel es lineal en el rango de 0,011-1,34 µg/mL de metal (Jiang, 2005).

II.3.2. Métodos de determinación con etapa previa de preconcentración

II.3.2.1. Preconcentración por extracción líquido-líquido

La extracción líquido-líquido es un método empleado comúnmente en el análisis de ultratrazas como técnica para la separación y preconcentración simultánea, usado ampliamente para la determinación de metales en aguas naturales y por ello también en el análisis de níquel, sobre todo en muestras de agua de mar con una matriz más complicada.

Esta etapa previa de extracción líquido-líquido se realiza mediante el uso de agentes quelatantes, encontrándose entre los más utilizados los ditiocarbamatos, las oximas y las hidrazonas. Una vez obtenido el quelato, se puede proceder al análisis directo del extracto orgánico obtenido tras la extracción o bien, previamente al análisis, se puede someter el extracto orgánico a reextracción ácida o mediante metales, o evaporación del disolvente orgánico y posterior disolución ácida del residuo.

Tras la etapa de extracción, o reextracción en otros casos, el análisis se realiza generalmente mediante espectroscopía de absorción atómica, bien con atomización electrotérmica, o con atomización con llama, o espectroscopía de absorción molecular UV-Visible.

La fotometría se usa generalmente cuando el agente quelatante es una hidrazona, mientras que las técnicas de absorción atómica se emplean cuando se trata de un ditiocarbamato (Lo, 1982; Flegal, 1991; Sachsenberg, 1992), aunque es posible encontrar en la bibliografía ejemplos de extracción líquido-líquido con hidrazonas que emplean como técnica de análisis la espectroscopía de absorción atómica (García-Vargas, 1984).

II.3.2.1.1. Extracción líquido-líquido con ditiocarbamatos

Los ditiocarbamatos son muy usados como agentes complejantes, especialmente en el análisis de metales traza en agua de mar. Forman complejos fuertes con numerosos metales, a excepción de los elementos alcalinos y alcalinotérreos. Esto resulta ser de gran importancia puesto que se ha comprobado que, fundamentalmente, los haluros alcalinos provocan interferencias considerables en el análisis por espectroscopía de absorción atómica.

Los complejos carbamato-metal tienen una solubilidad relativamente elevada en disolventes orgánicos como: 4-metil-2-pentanona (MIBK), 2,6-dimetil-4-heptanona (DIBK), triclorometano, etc..., con valores del coeficiente de distribución del orden de $K_D > 5000$. De acuerdo con este valor, pueden obtenerse factores de enriquecimiento elevados, los cuales son muy necesarios en el análisis de trazas en agua de mar (Lo, 1982).

En la bibliografía existente sobre extracción líquido-líquido con ditiocarbamatos, es posible encontrar ejemplos de tres métodos distintos: aquellos en los que se procede al análisis directo del extracto orgánico una vez extraído (Brügmann, 1983), (Shijo, 1985), (Sugiyama, 1986), (Babu, 1991), (Rodier, 1998), (APHA, 1998), aquellos en los que el extracto orgánico es sometido a reextracción ácida (Rasmussen, 1981), (Danielsson, 1982), (Brügmann, 1983) y aquellos en los que el extracto es sometido a reextracción mediante el uso de metales (Lo, 1982), (Lo, 1991), (Sachsenberg, 1992)(Batterham, 1997).

De esta forma, entre los primeros estudios que se realizaron sobre la aplicación de la extracción líquido-líquido con ditiocarbamatos al análisis de agua de mar, se encuentran las investigaciones de Brooks y colaboradores (Brooks, 1967), los cuales investigaron las posibilidades del sistema pirrolidín ditiocarbamato amónico (APDC) en MIBK para la determinación de níquel en agua de mar y desarrollaron un método en el que la extracción incompleta del complejo de níquel se corrige por la extracción de patrones preparados a partir de agua de mar previamente extraída, efectuándose el análisis directo del extracto orgánico por espectroscopía de absorción atómica con atomización con

llama. El mismo método se puede aplicar a la determinación de plata, cadmio, cobalto, cromo hexavalente, cobre, hierro, níquel, plomo y cinc (Rodier, 1998).

Apte y Gunn desarrollaron un método rápido de extracción líquido-líquido utilizando un volumen muy pequeño de muestra (1,25 mL) para la determinación de los metales traza disueltos en el agua de mar por espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica con horno de grafito. Los metales son complejados con pirrolidín ditiocarbamato amónico (APDC) y extraídos en 1,1,1-tricloroetano. De 20 a 40 μL del extracto son inyectados en el horno para llevar a cabo la determinación. Los límites de detección obtenidos (Cu 0,3 $\mu\text{g/L}$; Cd 0,02 $\mu\text{g/L}$; Pb 0,7 $\mu\text{g/L}$ y Ni 0,5 $\mu\text{g/L}$) son adecuados para el análisis en aguas costeras y estuarinas (Apte, 1987).

Santosa y colaboradores desarrollaron un método de análisis directo muy sensible para la determinación secuencial de V, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Mo y Sb en agua de mar utilizando ICP-MS, después de la vaporización electrotérmica de los complejos metálicos del dietil-ditiocarbamato de sodio (NaDDC) en MIBK. La recuperación para muestras de agua de mar dio un rango de valores desde 87% para Sb hasta el 119% para el V. El rango del límite de detección obtenido fue desde 2 ng/L para el Co hasta 329 ng/L para el V (Santosa, 1997).

Sin embargo, el análisis directo del extracto orgánico, aunque se puede realizar fácilmente, tiene muchos inconvenientes, entre ellos que los ditiocarbamatos metálicos presentan una baja estabilidad y se descomponen rápidamente a temperaturas elevadas o por radiación ultravioleta (luz solar). Otro problema derivado del análisis directo del extracto orgánico, es que la inyección de disolventes orgánicos, cuando la técnica de análisis es la espectroscopia de absorción atómica con atomización electrotérmica con horno de grafito, puede empeorar la desviación estándar del análisis del metal. Para solucionar estos problemas, se recomienda realizar una reextracción del extracto orgánico en un medio acuoso, para lo cual se usa frecuentemente ácido nítrico.

Danielsson (Danielsson, 1980) y Magnusson (Magnusson, 1980) publicaron sendos trabajos en los cuales emplearon como procedimiento de extracción de los metales traza la extracción con dietil-ditiocarbamato y posterior reextracción ácida. El método consiste en un procedimiento de separación-concentración de dos etapas. La primera etapa es una extracción del complejo ditiocarbamato-metal traza en Freón TF (1,1,2-trifluoro-1,2,2-tricloroetano). Después de la separación, el complejo es destruido en la segunda etapa por la adición de ácido nítrico y los metales son reextraídos en una disolución acuosa ácida. Las determinaciones de Cd, Co, Cu, Fe, Ni y Pb fueron realizadas por absorción atómica con horno de grafito. El método fue aplicado en la determinación de Cd, Co, Cu, Fe, Ni y Pb en agua de mar con buenos resultados.

Pero la reextracción en medio ácido presenta también inconvenientes. La cinética es generalmente lenta y la eficacia del procedimiento de reextracción ácida es baja para ciertos metales, entre los que se encuentra el níquel, de tal forma que estos no pueden ser transferidos cuantitativamente desde la fase orgánica a la disolución acuosa (Danielsson, 1980 y 1982; Lo, 1982; Apte, 1987; Mackey, 1997). Además, algunos ditiocarbamatos son relativamente estables en ácido nítrico, y necesitan un tiempo de agitación largo para que se produzca la descomposición completa. En estos casos es necesario usar ácido nítrico concentrado, lo cual puede dar problemas en el análisis por espectroscopía de absorción atómica con atomización con horno de grafito, debido a los efectos corrosivos de los ácidos oxidantes sobre el grafito y la subsecuente disminución de la señal, lo que produce una pérdida de sensibilidad. La necesidad de realizar una dilución del extracto de ácido nítrico da como resultado un factor de preconcentración menor (Sachsenberg, 1992).

Por este motivo, se han propuesto otros métodos de reextracción que en lugar de emplear ácido nítrico, emplean metales que formen con el ditiocarbamato complejos más fuertes que el que forman los metales que se quieren analizar. En este sentido se han usado con frecuencia sales de mercurio. Tal es el caso del método propuesto por Lo y

colaboradores (Lo, 1982), en el que se realiza la extracción de cobre, cadmio, cobalto, hierro, manganeso, níquel, plomo y cinc, con una mezcla de pirrolidín ditiocarbamato amónico (APDC) y dietil-ditiocarbamato sódico (NaDDC) en cloroformo, el cual es usado como disolvente debido a su baja solubilidad en agua, su eficacia (bastante alta en la extracción de ditiocarbamatos metálicos) y porque este disolvente no extrae cloruros o bromuros, los cuales pueden provocar interferencias en espectroscopía de absorción atómica. Tras realizar la extracción, se lleva a cabo la reextracción de los complejos metal-carbamato con una disolución diluida de mercurio (II), para posteriormente realizar el análisis de los metales reextraídos por espectroscopía de absorción atómica.

Este método de reextracción se basa en el hecho de que la constante de extracción del complejo Hg(II)-ditiocarbamato es mucho mayor que la de la mayoría de los metales traza de importancia medioambiental. La sustitución de Hg(II) por otros metales en la formación de los complejos con ditiocarbamato sucede de manera extremadamente rápida y el porcentaje de recuperación está cercano al 100% para un número alto de metales estudiados, entre los que se incluye el níquel. Además, la disolución empleada para la reextracción contiene una concentración baja de Hg (II), por lo que prácticamente no interfiere en la determinación por espectroscopía de absorción atómica con horno de grafito debido a su alta volatilidad.

Batterham y Parry describen un procedimiento rápido de una sola extracción usando el ditiocarbamato como agente quelatante, la metil di-isobutil cetona (DIBK) como fase orgánica y el mercurio como intercambiador en la reextracción para la determinación cuantitativa simultánea de Cd, Co, Cu, Fe, Ni, Pb y Zn en agua de mar. El método fue validado con muestra de referencia de agua de mar CASS-3, con blancos y los límites de detección del orden de ng/L. El método permite un factor de preconcentración de 72 para unos 80 mL de muestra, facilitando el análisis para muestras de agua de mar no contaminadas (Batterham, 1996).

Además de su utilidad para preconcentrar trazas metálicas, una de las principales ventajas de este método es que especies presentes en la matriz del agua de mar, como calcio, azufre, aluminio, sodio, cloro, potasio, estroncio, magnesio, bario, etc., las cuales no forman complejos con ditiocarbamatos, pueden ser eliminadas simultáneamente.

Ahora bien, a pesar de su utilidad para la reextracción de metales traza, el mercurio es extremadamente tóxico, corrosivo para las partes metálicas de los instrumentos analíticos y puede contaminar el ambiente del laboratorio. Por este motivo se han desarrollado técnicas de reextracción con otros metales, por ejemplo sales de paladio (Lo, 1991). El paladio forma uno de los complejos más fuertes con los carbamatos, las constantes de extracción de estos complejos son del orden de 10^{47} - 10^{70} . Por esto se necesitan concentraciones bajas de paladio para llevar a cabo la reextracción y ésta sucede de manera muy rápida. Por otro lado, el paladio no da problemas de contaminación, ya que es un metal poco común en el análisis de metales traza, y una ventaja mayor es que simultáneamente actúa como modificador de matriz en espectroscopía de absorción atómica con horno de grafito, por lo que las pequeñas cantidades de cloruro sódico que puedan permanecer después del proceso de extracción no interferirán en la determinación (Sachsenberg, 1992).

Sachsenber y col., (Sachsenberg, 1992) propusieron un método de extracción líquido-líquido de complejos de ditiocarbamato seguido de reextracción con paladio para analizar metales en agua de mar y agua intersticial marina por espectroscopía de absorción atómica. La extracción de los metales se realiza con una mezcla de APDC y NaDDC en DIBK. El método se evaluó con el análisis de plata, cobre, níquel y cadmio en muestras de referencia de agua de mar (CASS-II) y muestras de agua del Mar del Norte. Los valores de concentración obtenidos mediante el método propuesto están de acuerdo con los valores certificados. En las muestras del Mar del Norte se obtuvo una concentración de cobre por este procedimiento de $711 \pm 2\%$ ng/L.

La ventaja de este método de reextracción es que para obtener un factor de enriquecimiento relativamente alto es suficiente con una pequeña cantidad de agua de mar (100 mL).

El método es también útil para una extracción/reextracción microanalítica de muestras de agua intersticial marina, de volúmenes inferiores a 500 μ L.

La desviación estándar del método está en el límite más bajo de los valores certificados para los métodos de extracción líquido-líquido para el análisis de agua de mar. Esto indica que la reextracción con paladio junto con la optimización de los parámetros analíticos constituye una herramienta útil para el análisis rápido y exacto de agua de mar y agua intersticial marina (Sachsenberg, 1992).

Una propuesta interesante es la de Shijo y colaboradores. Propusieron un método de extracción con APDC en hexano y reextracción con acetonitrilo, para luego separar los metales contenidos en el extracto por cromatografía líquida de alta resolución de fase reversa, con límites de detección de μ g/L en agua (Shijo, 1993).

II.3.2.1.2. Extracción líquido-líquido con oximas

Las oximas son un tipo de compuesto químico con fórmula general R_1R_2CNOH , donde R_1 es una cadena carbonada y R_2 puede ser o un hidrógeno formándose una aldoxima, u otra cadena carbonada siendo entonces una cetoxima (Figura II.1). Las oximas pueden formarse por la acción de la hidroxilamina sobre aldehidos o cetonas.

Las oximas son el reactivo químico clásico por excelencia para la determinación de níquel por fotometría. Entre las oximas más empleadas por esta técnica se encuentra la dimetilglioxima, la heptoxima (APHA, 1992), y la furil- α -dioxima (Rodier, 1998), entre otras.

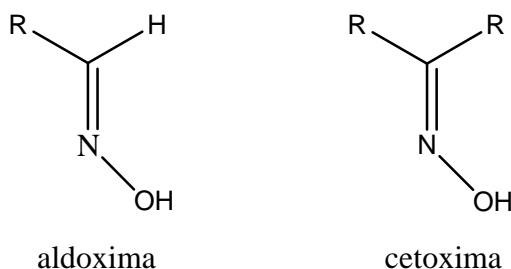


Figura II.1. Tipos de Oximas.

La determinación de níquel en agua se lleva a cabo después de la digestión preliminar de la muestra con una mezcla de ácido nítrico-ácido sulfúrico ($\text{HNO}_3\text{-HSO}_4$), posteriormente se eliminan el hierro y el cobre por extracción de los cuferratos con cloroformo (CHCl_3). El níquel se separa de otros iones por extracción del complejo de níquel y dimetilglioxima empleando CHCl_3 , volviendo a reextraer el metal con disolución de HCl y determinando colorimétricamente con dimetilglioxima en presencia de un oxidante a $\lambda = 445 \text{ nm}$, diez minutos después de haber añadido el reactivo desarrollador de color (APHA, 1992).

II.3.2.1.3. Extracción líquido-líquido con hidrazonas

Las hidrazonas también han sido empleadas extensamente en la determinación de iones metálicos. Actúan como ligandos multidentados que pueden formar complejos coloreados con diversos cationes metálicos. Estos complejos tienen una alta absorptividad molar y pueden ser extraídos en disolvente orgánicos inmiscibles con agua de baja constantes dieléctrica, lo que les hace muy útiles para este propósito. Un ejemplo de ello lo tenemos en el método propuesto por Afgan y Ryan para la determinación de Ni (II) en agua de mar (Afgan, 1968).

Precisamente, la 2-acetilpiridina benzoilhidrazona (2-APBH), reactivo empleado en esta Tesis Doctoral, fue empleado por García-Vargas y colaboradores (García-Vargas, 1984) para determinar trazas

de cobre, níquel, cobalto y cinc en muestras acuosas. El método consiste en la extracción simultánea, en alcohol isoamílico, de los complejos formados y su análisis por espectroscopía de absorción atómica con llama. Para el níquel, la curva de calibrado es lineal en el rango de 0-20 µg/L. La sensibilidad para un 1 % de absorción es de 0,063 µg/mL referido a la fase orgánica. La desviación estándar relativa para 10 µg/L de Ni es de ± 0,62 % y de ± 2,82 % para 5 µg/L de níquel. Si en la determinación están presentes Fe (II, III), U (VI), Sb (III) y Ti (IV) en cantidad 1000 veces superior a la del níquel, es necesario emplear una concentración mayor (0,1-0,2% m/v) del reactivo para asegurarse de que todo el níquel es extraído.

La mayor ventaja de este método es su sensibilidad y su simplicidad. En contraste con otros métodos de determinación, una sola extracción es suficiente para la determinación de los metales (García-Vargas, 1984).

II.3.2.2. Preconcentración por extracción sólido-líquido

En los últimos quince años se han publicado un amplio número de métodos para la separación y preconcentración de metales pesados traza en diversas muestras, utilizando la sorción de los metales pesados traza sobre superficies sólidas tales como resinas Amberlita XAD, carbón activado, resinas quelatantes, resinas de intercambio iónico, sílica gel modificada, polímeros adsorbentes, polímeros quelatantes y reactivos orgánicos inmovilizados sobre polímeros.

En el caso de la preconcentración de níquel por extracción sólido-líquido los agentes quelatantes más utilizados son: *ditiocarbamatos* (Karami, 2004), *oximas* (Ali, 1999), *PAN* (*1-(pyridylazo)-2-naphthol*) (Shemirani, 2004), *8-hidroxiquinolina* (Gurnami, 2003) o *calmagita* (ác. 1-(1-hidroxi-4-metil-2-fenilazo)-2-naftol-4-sulfónico)(Soylak, 2002).

Los métodos más usados para la detección son la espectrometría de absorción atómica con atomización con llama u horno de grafito (Wang, 2001), (Ma, 1995), (Bakircioğlu, 2003), (Zih-Perényi, 2000), (Suvadhan, 2004) la espectrometría de emisión atómica con plasma

acoplado inductivamente (Suvadhan, 2004), (Pohl, 2005) y la espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (Warnken, 2000), (Beck, 2002).

II.3.2.2.1. Extracción sólido-líquido con ditiocarbamatos

Es posible encontrar en la bibliografía diversos ejemplos de extracción con ditiocarbamatos.

Uzun y colaboradores propusieron un método para la preconcentración de los complejos de dietil-ditiocarbamato de cobre, hierro, plomo, níquel, cadmio y bismuto, usando una columna con resina Amberlita XAD-4. Los quelatos metálicos retenidos en la XAD-4 son eluidos con acetona. El efluente es evaporado hasta casi sequedad que es disuelto posteriormente con HNO₃ 1 M. La determinación de los iones metálicos en la disolución final se realiza por absorción atómica con llama (FAAS). La recuperación de los analitos en las condiciones óptimas de trabajo fue mayor del 95%. La desviación estándar relativa para la determinación fue inferior al 9%. El límite de detección (3 s, n = 20) para los analitos se encontró entre 4 y 23 µg/L. El método fue aplicado al análisis de algunas aguas de desecho de la región industrial de Kayseri (Uzun, 2001).

Karami y colaboradores describen un sistema de análisis por inyección en flujo para la preconcentración en continuo y determinación simultánea de Bi³⁺, Cd²⁺, Co²⁺, Cu²⁺, Fe³⁺, Ni²⁺, Pb²⁺ y Zn²⁺ en muestras acuosas por espectrometría de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-AES) con un detector de carga acoplado. La preconcentración de los analitos se logra por la retención de sus quelatos con dietil-ditiocarbamato de sodio (NaDDC) en disolución acuosa en una microcolumna de fase sólida reversa C-18, utilizando metanol como eluyente. El factor de enriquecimiento obtenido para cada analito fue de 312,5. Los límites de detección del método propuesto para Bi³⁺, Cd²⁺, Co²⁺, Cu²⁺, Fe³⁺, Ni²⁺, Pb²⁺ y Zn²⁺ fueron evaluados respectivamente como 1,3; 1,0; 0,8; 0,3; 14,7; 0,5; 5,5 y 0,1 ng/L. El método fue aplicado para la preconcentración de

estos metales pesados en matrices reales y la determinación simultánea de estos cationes en diferentes muestras de agua (Karami, 2004).

II.3.2.2.2. Extracción sólido-líquido con oximas

La extracción de níquel en fase sólida utilizando oximas ha sido bastante utilizada en análisis (Bagheri, 2000; Shemirani, 2003).

Lee y Halmann aplicaron la espuma de poliuretano flexible de poro abierto impregnada en dimetilglioxima (DMG) para la separación selectiva y cuantitativa del níquel de disoluciones acuosas a concentraciones bajas ($\sim 10^{-5}$ mol/L), a pH de 8 a 10. Posteriormente, se extrae el complejo con una mezcla de HCl 1M y etanol o acetona (1:1). La determinación de níquel se lleva a cabo espectrofotométricamente a 445 nm a partir de la medida del complejo Ni-DMG. La ley de Beer se cumple en el intervalo de 0,2 a 4,0 mg/L de Ni, siendo la desviación estándar de $\pm 1,5$ para el análisis de 100 $\mu\text{g/L}$ de Ni(II). Iones como Fe(II), Fe(III), Cu(II), Cd(II), Zn(II) y Co(II) no interfieren con la adsorción de níquel (Lee, 1976).

Satake y colaboradores publicaron un interesante trabajo en el cual encontraron que compuestos sólidos quelatantes como la dimetilglioxima (DMG), la acenaftenoquinona dioxima (ANDO) y sus ligandos mixtos (DMG-ANDO) soportados en naftaleno proporcionaban una vía rápida y económica para la preconcentración de níquel en aleaciones, muestras biológicas y aguas. El níquel formó quelatos con la DMG, ANDO y DMG-ANDO soportados en naftaleno microcristalino en una columna en un rango de pH entre 5,0-9,4; 6,1-11,0 y 7,1-11,0; respectivamente. El metal complejado y el naftaleno fueron disueltos a la salida de la columna utilizando 3 mL de una mezcla de dimetilformamida-ácido nítrico y la absorbancia fue medida por espectrometría de absorción atómica con llama a 232 nm. El gráfico de calibración obtenido fue lineal en el rango de concentraciones de 5-40 μg (para DMG) y de 2-30 μg (para ANDO y DMG-ANDO) de níquel en 3 mL de disolución final. La sensibilidad encontrada para el 1% de

absorbancia fue 0,132, 0,104 y 0,100 $\mu\text{g/L}$ para DMG, AND y DMG-ANDO, respectivamente. El método fue utilizado para la determinación de níquel en varios materiales estándares de referencia y muestras de agua de diferentes fuentes naturales (Satake, 1989).

Ali y colaboradores utilizaron la formación del complejo Ni-DMG en línea y adsorción en una microcolumna en fase reversa C_{18} para la preconcentración del metal, usando inyección en flujo acoplado con absorción atómica con llama (FI-AAS). El complejo es eluido con etanol conteniendo HNO_3 al 1% e introducido en el nebulizador del equipo de FAAS. El método fue validado con muestras estándares de referencia NBS-362, NBS-364 (aleaciones especiales), y mejillón (GBW 08571) y aplicado a la determinación de níquel en agua de mar y en óxido de magnesio de alta pureza, obteniéndose recuperaciones entre el 98-100% (Ali, 1999).

II.3.2.2.3. Extracción sólido-líquido con 1-(2-piridilazo) 2-naftol (PAN)

El 1-(2-piridilazo) 2-naftol (PAN) es uno de los agentes complejantes más extensamente usados para el análisis de elementos traza (Tokalioglu, 2006).

Yoshimura y colaboradores desarrollaron un método de intercambio iónico-colorimétrico para el cual impregnaron una resina Dowex 50W-X2 con 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN), para la determinación de níquel en aguas naturales a nivel de $\mu\text{g/L}$. El procedimiento consiste en tomar 200 mL de la muestra de agua, se añade 1 mL de pirofosfato de sodio de concentración 0,1 mol/L y 0,50 g de la resina PAN-Dowex 50W-X2 (100-200 mallas). Se ajusta el pH de la disolución a 6,0 con ácido clorhídrico o hidróxido de amonio. La mezcla se agita durante 20 min, la resina coloreada se separa por filtración y se transfieren 25 mL de la disolución enmascarante. Después de agitarla durante 10 min la mezcla se deja reposar durante 1-2 min y el slurry de la resina es transferido a una celda de cuarzo con la ayuda de una pipeta. Finalmente se procede a leer la absorbancia del complejo níquel-PAN a 566 nm. Para un litro de muestra los límites de detección obtenidos

fueron de 0,077 $\mu\text{g/L}$ para agua fresca y de 0,34 $\mu\text{g/L}$ para agua de mar. El cobre y el cinc que forman especies coloreadas con el PAN en la fase de la resina, pueden ser completamente eluidos con una disolución enmascarante compuesta por EDTA y ácido tioglicólico (pH 7,8). El cobalto se puede determinar simultáneamente realizando la medición a 628 nm (Yoshimura, 1980).

Narin y Soylak desarrollaron un método en el cual utilizaron el 1-(2-piridilazo) 2-naftol (PAN) impregnado en la resina Ambersorb 563 como extractante en fase sólida para la extracción de iones de cobre, níquel, cadmio, plomo, cromo y cobalto en disoluciones acuosas previa a su determinación por espectrometría de absorción atómica. El método consiste en agregar un volumen de disolución tampón (para obtener el pH deseado entre 2 y 10) a un volumen de muestra entre 50-250 mL. Previamente se acondiciona la columna con la disolución tampón. Después de pasar la disolución de la muestra, la columna se lava con 10 mL de agua. El metal adsorbido en la columna es eluido posteriormente con porciones de 5-10 mL de HNO_3 1 M. El eluato es analizado por espectrometría de absorción atómica con llama (FAAS). La desviación estándar relativa del método es inferior al 10%. El límite de detección del método está entre 0,21 y 1,4 $\mu\text{g/L}$. El método fue utilizado para la preconcentración y determinación de los iones metálicos en muestras de aguas naturales (Narin, 2003).

Shemirani y Abkenar prepararon una microcolumna de alúmina modificada con dodecil sulfato de sodio (SDS) y 1-(2-piridilazo) 2-naftol (PAN) para la preconcentración de trazas de níquel en muestras de agua para su determinación por espectrometría de absorción atómica con llama (FAAS). A pH = 4 el níquel (II) es retenido en la columna. El metal retenido es eluido con 5 mL de ácido nítrico 0,5 M. La recuperación fue superior al 96,7%. La desviación estándar relativa del método para una concentración de níquel de 40 ng/L fue de 2,4%, y el correspondiente límite de detección (basado en 3 σ) fue de 0,06 ng/L. El método fue aplicado para la determinación de níquel en muestras de agua mineral y de desecho (Shemirani, 2004).

II.3.2.2.4. Extracción sólido-líquido con 8-hidroxiquinolina

La 8-hidroxiquinolina (8-HQ) (oxina), es uno de los reactivos orgánicos más populares y versátiles. Se conoce que reacciona con diversos iones metálicos para formar complejos muy estables, porque la misma posee tanto un nitrógeno básico como un grupo fenólico (Rao, 2002). Las diferencias entre las constantes de formación de los complejos de oxina con los metales de transición y los metales alcalinos-alcalino térreos es una importante ventaja para la separación cuantitativa de metales pesados en matrices salinas (Soylak, 2004).

La 8-hidroxiquinolina ha sido empleada como agente quelatante para extracción sólido-líquido de metales traza en aguas naturales, realizándose la determinación posterior de los metales por técnicas espectroscópicas (AAS, ICP-AES, ICP-MS) (Sohrin, 1998; Zih-Perenyi, 1998; Radzi, 2002).

Lofthouse y colaboradores publicaron un trabajo en el cual desarrollaron procedimientos miniaturizados de separación de matriz/preconcentración, usando microcolumnas rellenas de oxina inmovilizada en una novedosa estructura microporosa de sílice. La utilización de un nebulizador microconcéntrico en las determinaciones por ICP-MS permitió el análisis multielemental en un pequeño volumen. Con este método se obtuvieron factores de recuperación de 96-105% para una mezcla de V, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Cd y Pb. El método fue validado mediante el análisis de materiales de referencia certificados SLEW-1 (agua de estuario) y CASS-2 (agua costera) (Lofthouse, 1999).

Gurmani y colaboradores utilizaron la oxina inmovilizada en celulosa para la preconcentración de los iones metálicos Cu(II), Zn(II), Fe(II), Ni(II), Co(II), Cd(II) y Pb(II) previo a su determinación por espectrometría de absorción atómica con llama (FAAS), los cuales son cuantitativamente sorbidos, con un porcentaje de recuperación mayor del 97%, a pH 4,2-6,7; 4,2-7,5; 2,0-3,0; 5,3-6,7; 5,3-6,2; 6,2-9,0 y 4,2-5,3, respectivamente. La capacidad de sorción para los siete cationes varía desde 93,8 hasta 629,9 $\mu\text{mol/g}$. Se puede utilizar para desorber todos los iones metálicos HCl o HNO_3 (1 mol/L). La velocidad óptima de

flujo para la sorción y desorción de los cationes se encontró que era de 2-4 mL/min. El factor de preconcentración obtenido fue de 90-300. Este método acoplado con FAAS fue utilizado para preconcentrar y determinar los siete iones metálicos en muestras de agua de río (RSD < 7,4%) y muestras de agua certificada SLRS-4 (NRC, Canadá) con una RSD \approx 2,3% (Gurmani, 2003).

Otero-Romaní y colaboradores evaluaron las posibilidades del uso de los cartuchos comerciales C-18 para separar y preconcentrar elementos traza del agua de mar (Al, Cd, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Sn, V y Zn), los cuales son previamente complejados con oxina a pH 8 y posteriormente son eluidos con 2,5 mL de ácido nítrico 2 M. Los metales eluidos del cartucho fueron medidos por espectrometría de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES). El procedimiento analítico, así como su límite de detección y cuantificación, repetibilidad de todo el procedimiento y la precisión fueron evaluados con el material de referencia certificado CASS-3 y SLEW-3 (para muestras salinas) y TM-24 (para muestras no salinas). Después de una preconcentración de 40 el límite de detección alcanzado fue de 1,28; 0,04; 0,04; 0,02; 0,19; 0,001; 0,03; 0,03; 0,07; 0,06 y 1,13 $\mu\text{g/L}$ para Al, As, Cd, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Sn, V y Zn (Otero-Romaní, 2005).

II.3.2.2.5. Extracción sólido-líquido con calmagita

La calmagita (ácido 3-hidroxi-4-((6-hidroxi-m-tolil)azo)-naftalen sulfónico) es un agente quelatante orgánico utilizado en enriquecimiento químico y separación de iones metálicos a nivel traza, por diferentes técnicas de preconcentración previo a su determinación (Marczenko, 1986; Ferreira, 2000; Saliba, 2002; Soylak, 2003a).

Soylak y colaboradores desarrollaron un método para la preconcentración/separación de los iones Cu(II), Ni(II) y Pb(II) en agua de mar, usando una columna con Amberlita XAD-1180. La muestra, ajustada a pH 8 y conteniendo el reactivo, se pasa a través de la columna. Los quelatos metálicos adsorbidos son eluidos con HNO_3 0,5

M. La concentración de los iones metálicos en el eluente se determina por FAAS. El factor de recuperación para los iones Cu(II), Ni(II) y Pb(II) fue cuantitativo (>95%) a pH 8-9 (Soylak, 2002).

Estos autores también utilizaron la adsorción de estos quelatos sobre Chromosorb-102 para la separación de Cu(II), Fe(III), Ni(II) y Co(II), los cuales son eluidos con 10 mL de HNO₃ 1 mol/L en acetona. El eluato es evaporado hasta casi sequedad y posteriormente se diluye hasta 1 mL con HNO₃ 1 mol/L, para su determinación por FAAS (Soylak, 2003b).

II.3.2.3. Preconcentración por intercambio iónico

La determinación de níquel en agua de mar se ha realizado igualmente utilizando resinas de cambio iónico, tales como *Chelex-100* y *silice* modificada, o incluso mediante el empleo de microorganismos inmovilizados en *sepiolita*.

II.3.2.3.1. Empleo de Resina Chelex-100

La resina Chelex-100 ha sido ampliamente utilizada para la separación/preconcentración de iones metálicos en aguas naturales y agua de mar (Pesavento, 1999; Jiann, 2002; Bowles, 2006; Zhu, 2005a).

Las resinas quelatantes con grupos iminodiacéticos son muy útiles para la separación selectiva de metales pesados de matrices complejas. Se puede obtener una elución cuantitativa con factores de preconcentración buenos, utilizando pequeños volúmenes de disoluciones ácidas que sean apropiadas para la determinación posterior del metal por espectroscopía de absorción atómica. No obstante, se ha demostrado que la adsorción en continuo no es a menudo cuantitativa, incluso usando resinas fuertemente adsorbentes; además depende de la composición de la muestra particular considerada, de la cantidad de resina y del volumen de disolución. En estos casos el problema es como estimar la concentración real del ion

metálico en la muestra. Por este motivo Pesavento y colaboradores desarrollaron un nuevo método basado en la valoración de la resina para determinar la concentración total del ión. Midieron la concentración de metal adsorbido en la resina Chelex 100 desde disoluciones con distinta relación de volumen fase acuosa/cantidad de resina. Obtuvieron la concentración total del ion a partir de los datos experimentales, mediante un modelo para la adsorción en la resina, cuyos parámetros se obtienen por análisis de regresión no lineal (Pesavento, 1999). El método fue validado con muestras de agua de mar de referencia y aplicado a muestras del Mar de Liguria, determinando de manera simultánea la concentración de Cu(II), Mn(II), Cd(II) y Ni(II) (Pesavento, 1999).

Zhu y colaboradores utilizaron una minicolumna empaquetada con resina quelatante para pretratar las muestras de agua de mar, para la determinación de trazas metálicas mediante espectrometría de masas con plasma inductivamente acoplado (ICP-MS). La recuperación de los 23 elementos determinados (Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Y, Cd, todos los elementos de las tierras raras, Pb y U) fue mayor del 80%. El método se validó con material de referencia de agua de mar (NASS-5) y fue también aplicado al análisis multielemental de las muestras de aguas costeras de la Isla Taken y la bahía Ise (Japón) (Zhu, 2005b).

II.3.2.3.2. Empleo de Resina Muromac A-1

La resina Muromac A-1 al igual que la resina Chelex-100 contiene grupos funcionales del ácido iminodiacético $[-CH_2-N(CH_2COOH)_2]$, tienen habilidades quelatantes comparables (Taylor, 1996), pero la resina Muromac A-1 es purificable en un grado más alto y no se hincha o contrae a un pH por debajo de 4,5 (Sung, 1997). La contrapresión en la microcolumna se incrementa sustancialmente cuando la resina se hincha, causando que la disolución acuosa que pasa a través de la columna lo haga con dificultad (Sung, 1997).

Lin y colaboradores desarrollaron un sistema de preconcentración para la determinación de Co, Ni y Cu en agua de mar mediante una

microcolumna con esta resina. La elución se realizó con ácido nítrico y el eluato se inyectó directamente en el horno de grafito. La validez del método fue confirmada por el análisis de dos muestras de referencia certificadas de agua de mar (Lin, 2001).

Por su parte, Vassileva y Furuta desarrollaron un método en continuo, incorporando una microcolumna empaquetada con resina quelatante Muromac A-1, para la preconcentración de elementos traza seguida por la determinación de los mismos por espectrometría de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-AES). La muestra a pH=5 es bombeada a través de la columna y es secuencialmente eluida directamente al ICP-AES con una mezcla de HNO₃/HCl de concentración 3 M. El proceso fue validado analizando varias matrices simples, una muestra estándar de agua de río, así como de agua de mar artificial. El método propuesto fue aplicado a la determinación simultánea de In, Tl, Ti, Y, Cd, Co, Cu y Ni en agua de mar y para el análisis de 24 elementos traza en agua de río (Vassileva, 2003).

II.3.2.3.3. Empleo de Sílice modificada

El gel de sílice puede ser usado como adsorbente, además de como material de soporte para varios agentes quelatantes. No obstante, la interacción entre la mayoría de los iones metálicos y la superficie del gel de sílice es bastante débil debido a la baja acidez de los grupos silanol, además de las propiedades donadoras del oxígeno de la superficie menos pronunciadas. Por lo tanto no está muy extendido el uso de sílice no modificada como cambiador iónico. En cambio, el gel de sílice modificado con grupos inorgánicos es de gran interés para la preconcentración de iones y puede encontrarse mucha bibliografía al respecto (Akman, 1991; Sağlam, 2003).

Cordero y colaboradores elaboraron un original sistema de preconcentración en continuo para la determinación de Ni por GF-AAS, reemplazando la punta del brazo del automuestreador por una microcolumna empaquetada con una resina quelatante de sílica gel

modificada con 1-(di-2-piridil)metileno tiocarbohidracida. Cuando se toma la muestra se produce la preconcentración en la columna y luego el metal es eluido directamente con HNO₃ 2 M, pasando a través de la microcolumna y depositado en el tubo de grafito como una gota de un volumen definido con precisión. El método optimizado tiene un límite de detección de 0,06 ng/mL, y fue validado con un material de referencia certificado (CRM 505; agua de estuario) (Cordero, 1999).

Tokman y colaboradores llevaron a cabo un estudio similar en el cual usaron una jeringa rellena con sílica gel modificada con 3-aminopropiltrióxido de silano [(C₂H₅O)₃-Si(CH₂)₃NH₂] para la separación y enriquecimiento de Bi, Pb y Ni, previo a su análisis por espectrometría de absorción atómica con horno de grafito. El límite de detección fue de 0,5 µg/L para Bi, Pb y Ni respectivamente. Los elementos pueden ser concentrados aspirando sucesivamente varias porciones de la muestra, pero solo pueden ser eluidos una sola vez (Tokman, 2003).

Akl y colaboradores sintetizaron un adsorbente quelatante modificando sílica gel con ácido salicílico 5-formil-3-(1'-carboxifenilazo) (FCPASASG). Los metales adsorbidos puede ser perfectamente desorbidos con HNO₃ 1M o con Na₂EDTA 0,05 M. El modo de quelación entre el adsorbente FCPASASG y los iones metálicos se basa en la reacción de dichos iones metálicos con los centros quelatantes del salicílico y/o carboxifenilazo del adsorbente FCPASASG. Con este método se pueden determinar concentraciones a nivel de nanogramos (0,07-0,14 ng/mL) de Cd(II), Zn(II), Fe(III), Pb(II), Cr(III), Mn(II), Cu(II), Co(II) y Ni(II) con un factor de preconcentración de 100. La metodología propuesta fue empleada para el análisis de trazas en sistemas acuosos naturales de diferente origen (Akl, 2004).

II.3.2.3.4. Empleo de *Saccharomyces cerevisiae* inmovilizada en sepiolita

Los microorganismos pueden ejercer el papel de bioadsorbentes, ya que presentan en la membrana externa sitios cargados negativamente, como pueden ser grupos amino, celulosa y una gran variedad de monómeros de polisacáridos, de tal manera que se pueden producir

atracciones electrostáticas entre los cationes metálicos y estos grupos de la membrana.

Para este fin se suelen emplear microorganismos inmovilizados ya que permiten su uso sucesivo, fácil regeneración para poder reutilizarlos, mejor estabilidad mecánica que los microorganismos libres y características adsorbentes excelentes, existiendo numerosos métodos para inmovilizarlos.

Los microorganismos son capaces de enlazar selectivamente un catión metálico en presencia de otros, selectividad que se consigue cambiando el pH o las condiciones de elución (Özer, 2003).

Bağ y colaboradores preconcentraron Fe y Ni en *Saccharomyces cerevisiae* inmovilizada en sepiolita en el interior de una columna y su determinación por FAAS. El porcentaje de recuperación para Ni fue de $99,5 \pm 0,1\%$. El método fue aplicado a la determinación de Fe y Ni en un material de referencia certificado de latón (NBS SRM 37e). El límite de detección encontrado para hierro y níquel fue de 0,065 y 0,087 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente (Bağ, 1998).

II.3.2.4. Preconcentración por técnicas electroquímicas: electrodeposición

Dentro de las técnicas electroquímicas de preconcentración, para el análisis concretamente de níquel en agua, se ha empleado la Electrodeposición (Johansson, 1998). La electrodeposición consiste en la reducción de la especie iónica de un metal a su forma metálica, quedando éste depositado en la superficie del electrodo y separándose así de los iones de la disolución (Rubinson, 2001).

La determinación directa de metales en agua de mar por Espectroscopía de Absorción Atómica, se encuentra con el problema de las interferencias espectrales debidas a la presencia de altas concentraciones de haluros alcalinos en la matriz. La electrodeposición es muy ventajosa porque la salinidad del agua de mar es un medio ideal que permite preconcentrar y separar la matriz antes de

determinar por Espectroscopía de Absorción Atómica, evitando estas interferencias.

Los electrodos pueden fabricarse de distintos materiales, como metales de alta fundición, grafito o mercurio. La atomización se suele realizar con la inserción del electrodo, con el analito depositado, en el interior del atomizador de grafito. Igualmente, los electrodos pueden ser parte del atomizador, el cual se retira y se monta en el espectrofotómetro de absorción atómica después de la deposición. Es posible también disolver el depósito de metal y colocar la disolución dentro del atomizador.

Se ha demostrado que la electrodeposición es compatible con un sistema de flujo, donde la disolución circula alrededor del electrodo (Komarek, 1999).

Batley y Matousek desarrollaron un método para la determinación de metales pesados en agua de mar mediante electrodeposición en tubos de grafito pirolíticos y posterior determinación por espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito. El horno tubular de grafito recubierto es incorporado en una celda de flujo, para la electrodeposición con mercurio de los metales pesados presentes en el agua de mar. La técnica desarrollada es aplicada en la determinación de cantidades totales y lábiles de Co y Ni. Para un tiempo de electrodeposición de 15 y 10 minutos, respectivamente, las concentraciones características para Co y Ni son de 0,02 µg/L (Batley, 1977).

II.3.2.5. Preconcentración por flotación

La separación por flotación usando burbujas de aire puede aplicarse para separar y preconcentrar metales pesados traza de matrices acuosas (Zolotov, 1990; Caballero, 1990; Pavlosvka, 2000; Konjuncu, 2004). La flotación es ventajosa y útil debido a su rapidez y excelentes recuperación de analitos, donde el aspecto más importante es el colector con su naturaleza coloidal.

Ay y colaboradores describen un método rápido para la separación de Fe, Ni, Pb y Zn en matrices acuosas previo a su determinación por AAS. La separación y preconcentración de metales se lleva a cabo por flotación del coloide precipitado de cobalto(III) hexametileno-ditiocarbamato, Co(HMDTC)_3 , como colector. Los resultados de los análisis por AAS fueron comparados con los obtenidos por espectrometría de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-AES). Los límites de detección de los analitos fueron determinados obteniéndose 0,838 $\mu\text{g/L}$ para Fe y 1,105 $\mu\text{g/L}$ para Zn, por FAAS y 0,129 $\mu\text{g/L}$ para Pb y 0,113 $\mu\text{g/L}$ para Ni por GF-AAS (Ay, 2004).

Shamsipur y colaboradores establecieron un método rápido de flotación para la separación y enriquecimiento de cantidades ultratrazas de Cu(II), Cd(II), Ni(II) y Co(II) en muestras de agua, con ácido 2-aminociclopenteno-1-ditiocarboxílico (ACDA) a pH 6,5 y dodecilsulfato de sodio como agente espumante, realizando la determinación por ICP-AES. El factor de preconcentración del método es de 100 y el límite de detección establecido para los iones Cu(II), Cd(II), Ni(II) y Co(II) fue de 0,078; 0,075; 0,072 y 0,080 ng/mL, respectivamente (Shamsipur, 2005).

II.3.2.6. Preconcentración mediante el empleo de membranas líquidas

El uso de membranas líquidas constituye una alternativa eficaz para la separación y concentración de iones metálicos en muestras acuosas medioambientales. En concreto, resulta especialmente válida para su aplicación en aguas naturales de naturaleza salina, ya que por su diseño permiten eliminar el efecto de matriz que suele interferir en el análisis de metales. Esta tecnología combina la extracción con disolventes con un proceso de reextracción en un único paso, lo que se traduce en un ahorro de tiempo y manipulación de muestra; esto último es muy importante en la determinación de elementos traza metálicos, cuya cuantificación puede verse enormemente afectada por procesos de contaminación durante el tratamiento de la muestra.

En esta Tesis Doctoral se ha desarrollado una nueva metodología de análisis de metales pesados, centrada en la determinación de Ni, basada en la utilización de un sistema de membrana líquida que permite su aplicación a aguas naturales con diferente salinidad. Este sistema realiza la separación y/o preconcentración de este metal en continuo. Por ello, el siguiente capítulo se centrará en este sistema de preconcentración de trazas metálicas, donde será abordado con mayor profundidad.

CAPÍTULO III

MEMBRANAS LÍQUIDAS PARA LA PRECONCENTRACIÓN-SEPARACIÓN DE METALES TRAZA EN AGUAS

III.1. Introducción

Una **membrana líquida** es, esencialmente, una barrera líquida que separa dos disoluciones inmiscibles con ella y a través de la cual se realiza un transporte de especies químicas (Bartsch, 1996; Noble, 1987). El transporte de las especies químicas a través de una membrana líquida ocurre mediante la simultaneidad de procesos de extracción y reextracción. La barrera es usualmente una disolución orgánica situada entre dos disoluciones acuosas. Una de las disoluciones acuosas recibe el nombre de *disolución cargada*, en ella se encuentran inicialmente las especies químicas a transportar. La segunda recibe el nombre de *disolución receptora*, ya que es aquella que recibe a dichas especies tras pasar a través de la disolución orgánica que actúa como interfase líquida.

Los sistemas de membranas líquidas han sido ampliamente estudiados en Ingeniería Química, Ingeniería Biomédica Tecnología, Biotecnología, Fisiología y Química Inorgánica (Noble, 1987). El campo de aplicación de estos sistemas es amplio, destacando los siguientes (Bartsch, 1996; (Parthasarathy, 1997, 1999; Guyon, 2000; Acosta, 1998; Jönsson, 1992; Djane, 1997a; Kedari, 1999; Campderrós, 2000; Bukhari, 2004; Majors, 2004):

- Eliminación de compuestos orgánicos.
- Separaciones de gases.
- Recuperación selectiva de productos de fermentación.
- Preconcentración de compuestos orgánicos para su determinación en muestras biológicas o medioambientales.

- Aislamiento y eliminación de compuestos tóxicos o perjudiciales en fluidos biológicos con posible aplicación médica.
- Aplicaciones medioambientales destinadas al tratamiento de aguas residuales.
- Eliminación y recuperación de metales de residuos industriales y aguas residuales.
- Recuperación y separación selectiva de metales con aplicaciones metalúrgicas y medioambientales.
- Separación y concentración de metales en aguas residuales.

Cabe destacar que la utilización de los sistemas de membrana líquida para la separación, concentración y recuperación de iones metálicos está experimentando un gran auge desde el campo tecnológico, ya que aunque la técnica de extracción líquido-líquido convencional es adecuada para realizar este tipo de procedimientos, los sistemas de membrana líquida permiten efectuar el proceso en una sola etapa.

Su aplicación en Química Analítica es relativamente nueva (Jönsson, 1992), así como su aplicación al análisis de metales traza en aguas naturales y medios biológicos (Parthasarathy, 1997) y su aplicación a la especiación de metales en aguas naturales (Parthasarathy, 1999; Guyon, 1999). Entre las ventajas de la aplicación de esta técnica para el análisis de metales en aguas naturales, se encuentra la posibilidad de eliminar las interferencias de matriz, como pueden ser las sustancias húmicas en aguas dulces y las altas concentraciones de sal en agua de mar (Papantoni, 1995).

De ahí el interés del desarrollo de nuevas metodologías basadas en el empleo de membranas líquidas para la preconcentración, separación y el análisis de metales traza, y objeto de este capítulo de la presente Tesis Doctoral.

III.1.1. Tipos de membranas líquidas

En general, se suele aceptar una clasificación en tres grandes grupos: membranas líquidas de volumen (MLV), membranas líquidas de emulsión (MLE), también llamadas membranas líquidas tensioactivas (MLT) y membranas líquidas soportadas (MLS). Estos tipos de membranas tienen aplicaciones técnicas y analíticas. Las MLV y algunos tipos de MLS tienen su principal utilidad en el estudio y diseño de sistemas de transporte específicos en el laboratorio, mientras que otros tipos de membranas soportadas y sobre todo las MLE son empleadas profusamente a nivel industrial. En la Figura III.1 se muestra un dibujo esquemático de cada uno de los tipos principales de membranas citados.

En los últimos años han ido apareciendo en la bibliografía otros sistemas alternativos a los tres tipos básicos, cuyas aplicaciones básicamente se circunscriben a la separación de especies metálicas de disoluciones acuosas, desde el punto de vista industrial o tecnológico. Entre éstos destacan las membranas poliméricas de inclusión (MPI), las membranas compuestas activadas (MCA) y las membranas líquidas híbridas (MLH).

Aunque, las MPI fueron descritas por primera vez por Sugiura en 1980, ha sido en los últimos siete años en los que ha proliferado su uso, demostrándose que poseen ciertas propiedades mecánicas que las hacen competitivas respecto a las MLS (Salazar-Alvarez, 2005). En este sentido, los estudios de comparación de ambos tipos de membrana en el transporte de Cu^{2+} , Cd^{2+} y Pb^{2+} , realizados por Paugam (Paugam, 1998) y Aguilar (Aguilar, 2001), dieron resultados favorables para las MPI. El uso de las MCA como alternativa a las MLS aparece descrito en varias publicaciones a partir de 1998; entre estos trabajos cabe destacar su empleo para el transporte de Zn^{2+} (Oleinikova, 1999 y 2000) y Pb^{2+} y Cd^{2+} (Gumí, 2000). Por último, las MLH, aparecidas en la segunda parte de la década de los noventa, se han empleado satisfactoriamente en el transporte de Ti(IV) (Kislik, 1996a y 1996b), la recuperación de Cu^{2+} y Cd^{2+} (Eyal, 1999) y la separación de Cu^{2+} , Cd^{2+}

y Zn^{2+} de disoluciones procedentes de la producción de ácido fosfórico (Kislik, 2000a y 2000b).

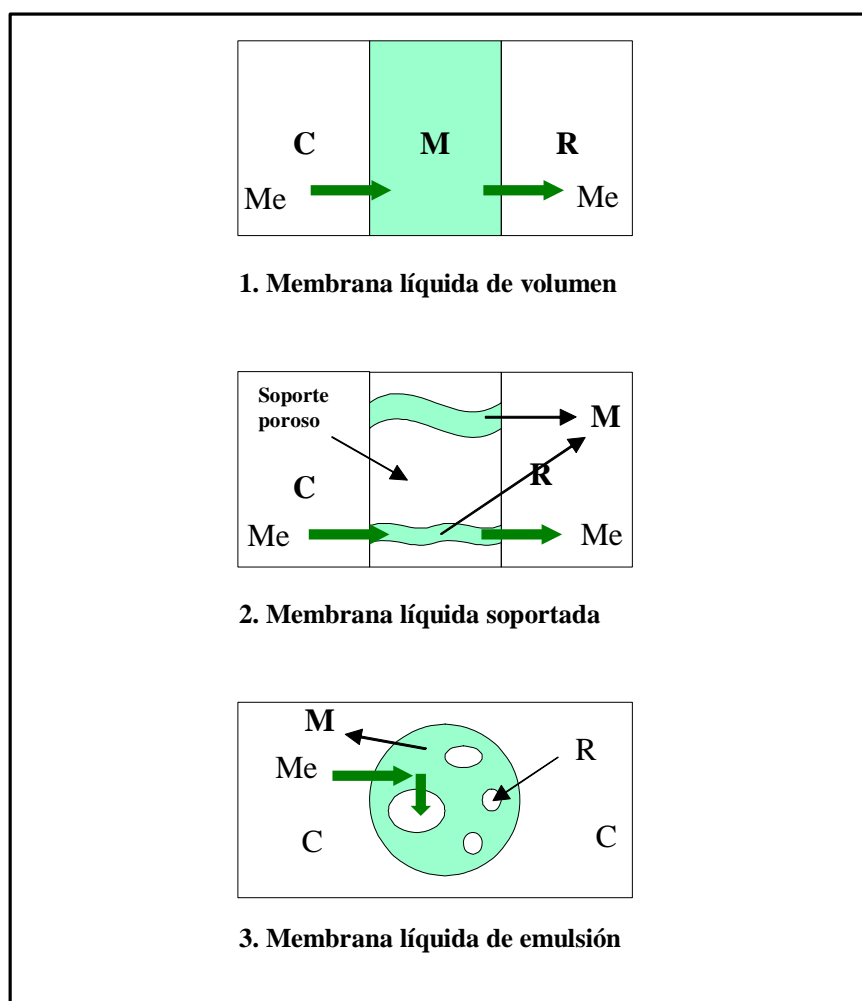


Figura III.1. Tipos de membranas líquidas comúnmente usadas. (C=fase cargada, R=fase receptora, M=membrana líquida; Me=analito)

III.1.1.1. Configuración de membrana líquida de volumen

Consiste en un volumen de fase orgánica que contiene usualmente el extractante y que separa a las dos fases acuosas del sistema. Este volumen desempeña la función de membrana líquida (Figura III.1). Debido a la facilidad de su manejo ha sido la más utilizada hasta el momento y por tanto la que ha alcanzado mayor difusión. Es de gran utilidad a escala de laboratorio y suele utilizarse para realizar una primera verificación, en membrana líquida, del funcionamiento del sistema químico elegido mediante los estudios previos por extracción líquido-líquido (Bartsch, 1996; Kontrec, 2003).

Las membranas líquidas de volumen son usadas frecuentemente para investigar transportadores novedosos, sistemas transportadores o mecanismos de transporte. Su función fundamental es optimizar las condiciones del transporte. Su principal desventaja en comparación con las membranas de emulsión y las membranas soportadas, es la menor área interfacial y velocidad de transferencia de masa. No obstante, tienen una clara utilidad analítica, por lo que ha sido la configuración utilizada en este trabajo.

III.1.1.2. Configuración de membrana líquida de emulsión

Se basa en la formación de una emulsión entre la membrana líquida y la fase acuosa receptora, la cual es posteriormente dispersada en la fase acuosa cargada, de manera que el volumen de esta última sea mucho mayor que el de la disolución receptora. Esta relación hace que el factor de concentración obtenido sea alto. Al mismo tiempo, en este tipo de membrana líquida se obtiene una mayor velocidad de transporte, debido a la mayor superficie de contacto que proporciona el sistema emulsionado. Una vez efectuado el transporte es necesario romper la emulsión existente entre las dos fases inmiscibles, con objeto de recuperar el producto contenido en la fase receptora, que ya se encontrará cargada con la especie de interés (Figura III.1) (Bartsch, 1996).

Las membranas líquidas de emulsión han sido aplicadas para extraer y determinar metales en agua. Las ventajas de esta membrana son su eficacia para separar los elementos de interés y el enriquecimiento en la fase acuosa interna de la emulsión. La recuperación de los metales suele ser superior al 90% (Li, 1993).

III.1.1.3. Configuración de membrana líquida soportada

Estriba en la utilización de un sólido microporoso, con características lipofílicas, como soporte del líquido orgánico que actúe como membrana (Figura III.1) (Bartsch, 1996; Aouad, 1998; Jönsson, 2001). Dentro de este tipo se encuentran a su vez distintas posibles configuraciones, las cuales pueden ser muy diferentes entre sí. Entre ellas:

- MLS de geometría plana o laminar. Este tipo de membrana está formada por una lámina de material polimérico microporoso, que posee características hidrofóbicas. La lámina se impregna con la disolución orgánica y se coloca entre la disolución cargada y la receptora.
- Capilar de fibra hueca. Está constituido por tubos capilares cilíndricos cuyas paredes están formadas por material polimérico microporoso y que, igual que las membranas laminares descritas anteriormente, pueden ser impregnadas con la disolución orgánica que actúe de membrana líquida.

Varios son los motivos por los que las membranas líquidas soportadas se han empleado para el análisis de níquel y otros metales, entre ellos que este tipo de membrana presenta ciertas ventajas con respecto a otras técnicas de extracción como son: menor riesgo de contaminación, fácil automatización, tiempo de procesamiento pequeño, equipamiento pequeño, gran área interfacial por unidad de volumen de extractante, factores de enriquecimiento mayores y ausencia de mezcla directa de las disoluciones acuosas y orgánica. Además, principalmente, el uso de este tipo de membranas reduce

significativamente el volumen de fase orgánica necesario para la extracción. Por lo que, pueden usarse también extractantes caros y altamente selectivos, los cuales no resultarían económicos en una extracción en fase sólida (Jönsson, 1992).

Las membranas líquidas soportadas son una alternativa bastante útil a otros métodos de pretratamiento para iones metálicos debido a su potencial para enriquecer selectivamente tales iones metálicos desde matrices complejas diversas, incluidas las aguas residuales industriales y agua de río (Djane, 1997a); así, esta técnica combina selectividad y enriquecimiento con eficacia para eliminar las interferencias de matriz (Jönsson, 1992).

III.1.2. Transporte de especies en una membrana líquida

El transporte de las especies químicas a través de una membrana líquida es un proceso cinético, en el cual no llega a alcanzarse el equilibrio entre las distintas especies que intervienen. El hecho de combinar en un solo proceso extracción y reextracción hace posible la obtención de factores de enriquecimiento muy altos en una sola etapa, y que se pueda reducir de manera importante el volumen de fase orgánica (Bartsch, 1996).

El transporte de especies químicas a través de la membrana puede llevarse a cabo mediante dos tipos de mecanismos de transporte: transporte simple y transporte asistido. Dentro de ambos mecanismos existen otras subdivisiones (Schlosser, 1993):

- **Transporte simple.** La membrana líquida está constituida simplemente por un disolvente orgánico. Este transporte se puede realizar de dos maneras: por *permeación simple* o por *permeación con reacción química en la disolución receptora*.
 - *Permeación simple.* Las especies químicas atraviesan la membrana líquida debido a su solubilidad en ella. El transporte se detiene cuando se alcanza el equilibrio entre las distintas fases.

- Permeación con reacción química en la disolución receptora. El transporte se ve incrementado por la presencia de un reactivo en la disolución receptora que reacciona con la especie transportada.
- **Transporte asistido**. En este caso, la disolución orgánica que actúa como membrana lleva disuelto un agente extractante que realiza el papel de transportador de las sustancias que se desean transferir desde la fase acuosa cargada a la receptora. Existen distintos tipos de transporte asistido, entre los que se encuentran:
 - Transporte facilitado: Las especies a transportar, aunque pueden pasar a través de la membrana por permeación simple, también reaccionan reversiblemente con el agente transportador.
 - Contratransporte acoplado: El analito forma un complejo con el extractante, el cual difunde hasta la interfase y la disolución receptora de donde es liberado por la acción de una sustancia química, que, al unirse al extractante, produce el proceso opuesto, siendo transportada esta nueva sustancia hacia la disolución cargada en sentido contrario.
 - Cotransporte acoplado. La especie de interés es transportada conjuntamente con otra especie presente en la disolución cargada, y que resulta necesaria para mantener la neutralidad de los complejos formados en la disolución orgánica.
 - Transporte primario activo. Existe también un cotransporte de especies impulsado por la existencia de reacciones redox.

En este trabajo utilizaremos el *transporte asistido* en el diseño de una nueva membrana líquida para la preconcentración y separación de

trazas de metal en disolución acuosa de diferente salinidad como paso previo a su determinación por AAS.

III.1.2.1. Transporte asistido: agentes transportadores

En 1970, Bloch (de Gyves, 1999) propuso por primera vez el uso de reactivos disueltos en disolventes orgánicos e inmovilizados sobre soportes microporosos inertes, con el fin de eliminar determinados iones metálicos de una mezcla. Puesto que, como ya se ha mencionado, el transporte asistido implica el uso de un agente extractante que actúa realizando el transporte de la sustancia objetivo, el empleo de un transportador u otro dependerá de numerosos parámetros, destacando la naturaleza del metal y del propio reactivo. Existe un gran número de sustancias que pueden ser empleadas como potenciales agentes transportadores. Habitualmente, en el transporte de metales se han empleado extractantes macrocíclicos, siendo una de las características de estos compuestos su selectividad frente a los iones metálicos.

La revisión de la bibliografía existente sobre membranas líquidas con transporte asistido recoge diversas posibilidades de combinaciones ión/transportador/disolvente/tipo de membrana líquida. En la Tabla III.1., aparecen recopiladas las sustancias que han sido empleadas como transportadores de iones metálicos, así como los diferentes disolventes usados en el diseño de membranas líquidas. También, se describe el tipo de membrana empleado en el estudio, así como los iones objeto de transporte en cada uno de los trabajos.

La mayoría de los ejemplos citados se refieren a metales pesados, aunque se han incluido algunos metales no pesados (alcalinos y alcalinotérreos) y semimetales, como Se(IV).

Tabla III.1. Características principales de los sistemas de membranas líquidas empleadas para el transporte de metales.

Agente Extractante ^a		Disolvente ^a	Membrana Líquida	Ión	Referencia
22DD	LA	tolueno/fenilhexano	soportada	Cu ²⁺	Parthasarathy, 1994, 1999, 2004; Guyon, 1999, 2000; Uebefeld, 2002
				Pb ²⁺	Slaveykova, 2004
				Pb ²⁺ , Cd ²⁺	Salaün, 2004a
				Cu ²⁺ , Pb ²⁺ , Cd ²⁺	Parthasarathy, 1997
	Cu ²⁺ , Pb ²⁺ , Cd ²⁺ , Zn ²⁺	Parthasarathy, 2001, 2002, 2003			
HDEP	tolueno ó tolueno/queroseno		Cu ²⁺	Parthasarathy, 1991	
Acorga M5640	Isopar L	emulsión	Cu ²⁺	Wright, 1995	
	Iberfluid	soportada	Cu ²⁺	Alguacil, 2002a	
Alamina 336	queroseno	soportada	Cu ²⁺ , Ni ²⁺ , Fe ³⁺	Gill, 2000	
			Mo ⁶⁺	Basualto, 2003; Marchese, 2004a	
			Co ²⁺ , Ni ²⁺ , Cu ²⁺	Marchese, 1995	
		emulsión	Cr ⁶⁺	Chakravarti, 1995	
	hexano	soportada	Zn ²⁺ , Cu ²⁺ , Ni ²⁺	Acosta, 1998	
	TBP		Nb ⁵⁺	Campderrós, 2001	
	cumeno		Au ⁺ (como Au(CN) ₂)	Sastre, 2000a	
o-xileno/queroseno	Cd ²⁺ , Cr ⁶⁺		Molinari, 1989		
Alamina 304	queroseno	volumen	Cd ²⁺	Kontrec, 2003	
		soportada	Cd ²⁺	Breembroek, 1998	
Acorga P-50	octano	volumen	Cu ²⁺	Szpakowska, 2000	
	octano	soportada ó volumen	Cu ²⁺	Szpakowska, 1996	
	1,3,5-trimetilbenceno				
Aliquat 336	dodecaeno	soportada	Rh ³⁺	Fontás, 1997	
	dihexil eter	soportada	Co ²⁺	Jönsson, 1992	
	queroseno	emulsión	Cr ⁶⁺	Chakravarti, 1995, Chakraborty, 2005	
			Cr ⁶⁺	Ortiz, 1996a, 1996b; Alonso, 1994, 1996a, 1996b; Soko, 2002	
		soportada	V ⁵⁺	Rosell, 1997	
			Cr ³⁺ , Cr ⁶⁺	Djane, 1999	
	heptano	soportada	Cd ²⁺ , Zn ²⁺	Ruey-Shin, 2004a	
	cumeno, dodecano		Au ⁺	Taylor, 1992	
	THF		V ⁵⁺	Palet, 1995	
			soportada	Cr ⁶⁺	Young-Woo, 2004

^a: ver final de la tabla III.1

Cont. Tabla III.1. Características principales de los sistemas de membranas líquidas empleadas para el transporte de metales.

Agente Extractante ^a	Disolvente ^a	Membrana Líquida	Ión	Referencia
ADOGEN 364	queroseno	soportada	In ³⁺	Rodríguez de San Miguel, 1996
APTS4	m-clorotolueno	soportada	Ag ⁺ , Pd ²⁺	Lachowicz, 2002
BDM	1,2-dicloroetano	volumen	Hg ²⁺	Safavi, 1998
BMACD	diclorometano	volumen	Cu ²⁺	Safavi, 1995
BTPD	queroseno, dodecano	soportada	Hg ²⁺ , Ag ⁺	Bromberg, 1993
B21C7	n-hexilbenceno	soportada	Cs ⁺	Dozol, 1995
Chelex 100 Versatic 10	queroseno	soportada	Ga ³⁺	Zha, 1995
Chelex 100	queroseno	soportada	Cd ²⁺ , Pb ²⁺	Aguilar, 2001
CMP	queroseno	soportada	Eu ³⁺	Nakamura, 1994
CMPO	1,2-NPOE	soportada	Eu ³⁺	Hill, 1996
CMPO TBP	dodecano	soportada	Ce ³⁺	Fu, 2004
cryptands	cloroformo	soportada	Ag ⁺ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺	Arous, 2004
Cyanex 272	dodecano	soportada	U ⁶⁺	Chiarizia, 1990
	queroseno		Zn ²⁺	Kanungo, 1995
			In ³⁺ , Ga ³⁺	Yonehara, 1988
Cyanex 272 A2Br		soportada	In ³⁺ , Ga ³⁺	Yonehara, 1988
Cyanex 301	CCl ₄	volumen	Bi ³⁺	Yamini, 2002
Cyanex 302	dodecano	soportada	Cd ²⁺	Alonso, 1997
	queroseno	emulsión	Ag ⁺	Othman, 2006
		emulsión soportada	Cd ²⁺	Urtiaga, 2000
		volumen	Co ²⁺	Dimitrov, 2006
Cyanex 302 LIX 860-I		soportada	Ni ²⁺	Van der Voorde, 2004
Cyanex 302	Escaid 110	Emulsión	Co ²⁺	Ribeiro Jr., 2004
Cyanex 471X	cumeno	soportada	Ag ⁺	Galindo, 1989
Cyanex 921	xileno	soportada	Fe ³⁺	Alguacil, 2000a
	Exxsol D 100, Solvesso 100	soportada	Cd ²⁺	Alguacil, 2004a
			Au ³⁺	Alguacil, 2004b
	xileno	soportada	Cr ⁶⁺	Alguacil, 2001a
			Au ⁺ , Au ³⁺	Alguacil, 2005a
Cyanex 921 LIX 79	heptano	soportada	Au ⁺	Kumar, 2000
Cyanex 921	cumeno	soportada	Au ⁺ (como Au(CN) ₂)	Sastre, 2000a

^a: ver final de la tabla III.1

Cont. Tabla III.1. Características principales de los sistemas de membranas líquidas empleadas para el transporte de metales.

Agente Extractante ^a	Disolvente ^a	Membrana Líquida	Ión	Referencia	
Cyanex 923	Exxsol D 100	soportada	Cd ²⁺	Alguacil, 2004a	
	Solvesso 100		Cd ²⁺	Alguacil, 2005b, Rodríguez, 2005	
	xileno		Cd ²⁺	Alguacil, 2001b	
	decano		Cr ⁺⁶	Alguacil, 2000b	
			Au ³⁺	Alguacil, 2001c	
Cyanex 925	queroseno	soportada	La ³⁺ , Nd ³⁺ , Tb ³⁺ , Yb ³⁺	García-Valls, 1999	
DA15C5/ácido palmítico	cloroformo	volumen	Cu ²⁺	Dadfarnia, 1992a	
DBDA15C4	cloroformo	volumen	Zn ²⁺	Fakhari, 2006	
DBDA15C4 ac. oleico	cloroformo	volumen	Cu ²⁺	Kazemi, 1999	
DBPY18C6	cloroformo	volumen	Pb ²⁺	Zolgharnein, 2003	
DbzDA18C6	cloroformo	volumen	Ag ⁺	Shamsipur, 2001a	
DB21C7	n-hexilbenceno	soportada	Cs ⁺	Dozol, 1995	
18C6	DCB	soportada	Ca ²⁺ , Sr ²⁺ , Ba ²⁺ , Na ⁺ , K ⁺ , Cs ⁺	Mackova, 1994	
DC18C6	diferentes disolventes	soportada	Ca ²⁺ , Sr ²⁺ , Ba ²⁺ , Na ⁺ , K ⁺ , Cs ⁺	Lamb, 1990	
	diclorometano	volumen	Cd ²⁺	Yaftian, 2005	
DIPSA/TIBPS	queroseno	emulsión	Cd ²⁺	Jianzhang, 2004	
DTH	cloroformo	soportada	Au ³⁺	Zuo, 1996	
D2EHPA	CCl ₄	soportada	Co ²⁺	Chaudry, 1990a	
			Ti ⁴⁺	Chaudry, 1992a	
		polimérica de inclusión		Pb ²⁺	Salazar-Alvarez, 2005
	queroseno	soportada		Co ²⁺ , Mn ²⁺	Mohapatra, 1992
				Co ²⁺ , Ni ²⁺	Juang, 1993a
				Co ²⁺ , Ni ²⁺ , Cu ²⁺	Marchese, 1993
				Sr ²⁺	Chaudry, 1994a
				V ⁴⁺	Juang, 1994, 1996
				Cd ²⁺	Marchese, 2004b
				Zn ²⁺	Dingsheng, 2006, Ata, 2005a
			Lantánidos (Ln ³⁺)	Moreno, 1999	
D2EHPA	queroseno	soportada	Cu ²⁺	Juárez-Islas, 1999	
			Ni ²⁺	Hernández-Cruz, 1998	
		emulsión	Cu ²⁺ , Co ²⁺ , Zn ²⁺ , Ni ²⁺ , Cd ²⁺ , Mn ²⁺ , Pb ²⁺ , Fe ²⁺	Li, 1993	
			Ni ²⁺	Chakraborty, 2004	

^a: ver final de la tabla III.1

Cont. Tabla III.1. Características principales de los sistemas de membranas líquidas empleadas para el transporte de metales.

Agente Extractante ^a		Disolvente ^a	Membrana Líquida	Ión	Referencia	
D2EHPA		CCl ₄	volumen	Mo ⁶⁺	Rezvanianzadeh, 2000	
		CCl ₄		In ³⁺	Ebrahimzadeh, 2004	
		queroseno	emulsión	Co ²⁺	León, 2004	
		SHELLSOL T		Zn ²⁺	Reis, 2004	
		dodecano	soportada	Cu ²⁺	Takigawa, 1992	
D2EHPA	LIX 63	tolueno	emulsión	Ni ²⁺	Yamashita, 1998	
D2EHPA		aceite de parafina	emulsión	Cd ²⁺	Sznejer, 1999	
		decano	soportada	Am ⁶⁺	Mikheeva, 1994	
		Exxsol D 100	soportada	Ca ²⁺	Nair, 1991	
		benceno	híbrida(HLM)	Zn ²⁺	Alguacil, 2005c	
		queroseno	soportada	soportada	Ti ⁴⁺	Kislik, 1996a, 1996b
					Cr ³⁺ , Cr ⁶⁺	Djane, 1999
					Cu ²⁺ , Cd ²⁺ , Pb ²⁺	Djane, 1997a
					Pb ²⁺	Djane, 1998
					Co ²⁺ , Cd ²⁺ , Zn ²⁺ , Ni ²⁺ , Mn ²⁺	Ndungú, 1998
					Pr ³⁺ , Nd ³⁺	Moreno, 1993
					Lantánidos (Ln ³⁺)	Dolezal, 2000
					Mn ²⁺	Soko, 2003
					Pb ²⁺	Djane, 1997b
					Cu ²⁺	Tric-Petrovic, 2002
		Co ²⁺ , Ni ²⁺	Huang, 1991			
Al ³⁺ , Cd ²⁺ , Cu ²⁺	Malcus, 1996					
	volumen	Eu ³⁺	Ma, 2002a			
		Cu ²⁺	Mendiguchia, 2002			
D2EHPA	PC88A	queroseno	soportada	Cd ²⁺ , Zn ²⁺	Ruey-Shin, 2004b	
D2EHPA	TBP	decano	soportada	Lantánidos (Ln ³⁺)	Kopunec, 1991	
		dodecano				
D2EHPA	TOPO	queroseno	soportada	U ⁶⁺	Sifniades, 1981	
DEHTPA		queroseno	soportada	Pd ²⁺	Rovira, 1998	
DETE		tolueno	soportada	Pd ²⁺	Yoshizuka, 1995	
DMPL		cumeno, tolueno ó queroseno	soportada	Au ³⁺	Sastre, 1998	
		cumeno		Au ⁺ (como Au(CN) ₂)	Sastre, 2000a	
DOS		m-clorotolueno	soportada	Ag ⁺ , Pd ²⁺	Lachowicz, 2002	

^a: ver final de la tabla III.1

Cont. Tabla III.1. Características principales de los sistemas de membranas líquidas empleadas para el transporte de metales.

Agente Extractante ^a	Disolvente ^a	Membrana Líquida	Ión	Referencia
DOPA	queroseno	soportada	Lantánidos, Th	Hrdlicka, 1996
DP-8R	Exxsol D100	soportada	Co ²⁺ , Mn ²⁺ Zn ²⁺	Alguacil, 2002b Alguacil, 2005d
DTMPPA	queroseno	soportada	Lantánidos (Ln ³⁺)	Nakamura, 1994
EACDA	cloroformo	volumen	Cu ²⁺	Gholivand, 2000
EHPA	queroseno	soportada	Y ³⁺ , Fe ³⁺	Akiba, 1997
EHPML	cumeno, tolueno ó queroseno	soportada	Au ³⁺	Sastre, 1998
2H5DBA	queroseno	soportada	Cu ²⁺	Molinari, 2006
HDPB	cloroformo	volumen	Pd ²⁺ (como PdBr ₄ ²⁻)	Alizadeh, 2002
HEH (EHP)	CCl ₄	volumen	Co ²⁺	He, 1997
	queroseno		Cu ²⁺	He, 2001
			Eu ³⁺	Ma, 2001
			La ³⁺	Ma, 2002b
	queroseno	soportada	Co ²⁺ , Ni ²⁺	Juang, 1993b, Youn, 1997
			Co ²⁺	Youn, 1995, Jae-Chun, 2004
HPMBP	cloroformo	volumen	Eu ³⁺	Ma, 1998
			La ³⁺	Ma, 1999a
HT18C6	cloroformo	volumen	Ag ⁺	Shamsipur, 2000a
		soportada	Ag ⁺	Shamsipur, 2001b
HS	DCB	soportada	Sr ²⁺	Mackova, 1996
K-DC18C6	cloroformo	volumen	Hg ²⁺ (como Hg(SCN) ₄ ²⁻)	Jabbari, 1999a
			Pd ²⁺ (como PdCl ₄ ²⁻)	Jabbari, 1999b
			Zn ²⁺ (como Zn(SCN) ₄ ²⁻)	Jabbari, 1999c
			Hg ²⁺ (como HgCl ₄ ²⁻)	Jabbari, 2001
		Cu ²⁺ (como Cu(SCN) ₄ ²⁻)	Akhond, 1995	
		soportada	Zn ²⁺ (como Zn(SCN) ₄ ²⁻)	Shamsipur, 2000b
MOC-55 TD	Iberfluid	soportada	Cu ²⁺	Alguacil, 2001d
MSP-8	heptano	emulsión	Pd ²⁺	Kakoi, 1996

^a: ver final de la tabla III.1

Cont. Tabla III.1. Características principales de los sistemas de membranas líquidas empleadas para el transporte de metales.

Agente Extractante ^a		Disolvente ^a	Membrana Líquida	Ión	Referencia
Lasalocid A		NPOE	soportada	Cd ²⁺	Aouad, 1998
LIX 26		queroseno	soportada	Pt ⁴⁺ , Pd ²⁺	Fu, 1995a
LIX 54-100		queroseno	soportada	Cu ²⁺	O'Hara, 1989
LIX 63	DOLPA	tolueno	emulsión	Ni ²⁺	Yamashita, 1998
LIX 79		heptano	soportada	Au ⁺	Kumar, 2000
		cumeno			Sastre, 2000b
LIX 84		heptano	soportada	Cu ²⁺	Yi, 1995
		n-decano			Yun, 1993
		queroseno			Guha, 1994
					de Haan, 1989
		emulsión	Cu ²⁺ , Ni ²⁺ , Fe ³⁺	Gill, 2000	
			Cu ²⁺	Cooper, 2004	
LIX 84-i		queroseno	soportada	Cd ²⁺ , Cu ²⁺ , Pb ²⁺	Breembroek, 1998
LIX 622		queroseno	emulsión	Cu ²⁺	Chakravarti, 2000
LIX 860		queroseno	soportada	Cu ²⁺	Van der Linden, 1998
LIX 864		queroseno	soportada	Cu ²⁺ , Co ²⁺ , Zn ²⁺ , Ni ²⁺	Campderrós, 1998a
LIX 973N		Iberfluid	soportada	Cu ²⁺	Alguacil, 2001d
LIX 984		cloroformo	soportada	Cu ²⁺	Campderrós, 1998b
		queroseno, n-heptano o n-octano	soportada	Cu ²⁺	Ata, 2005b
LPB		NPOE	soportada	Hg ²⁺	Ikeda, 1989
MF18		m-clorotolueno	soportada	Ag ⁺ , Pd ²⁺	Lachowicz, 2002
Na(DDTC)		queroseno	soportada	Se ⁴⁺	Noguerol, 1997
nDecB21C7		n-hexilbenceno	soportada	Cs ⁺	Dozol, 1995
4NB15C5		cloroformo	volumen	Hg ²⁺	Alpoguz, 2006a
NTH		cloroformo	soportada	Au ³⁺	Zuo, 1996
N ₂₃₅		CCl ₄	volumen	Cd ²⁺	He, 1998, 2000a; Ma, 1999b
		xileno			He, 2000a
		xileno acetato amónico			He, 2000b
		queroseno	He, 1999		
		xileno	soportada		Ma, 1999c He, 2000a, 2000c
N ₂₃₅	ROH	queroseno	híbrida	Cd ²⁺ , Zn ²⁺	Liu, 2003; He, 2004

^a: ver final de la tabla III.1

Cont. Tabla III.1. Características principales de los sistemas de membranas líquidas empleadas para el transporte de metales.

Agente Extractante	Disolvente ^a	Membrana Líquida	Ión	Referencia
Na(DDTC)	queroseno	soportada	Se ⁴⁺	Noguerol, 1997
NH ₄ ⁺ -DBzDA18C6	cloroformo	volumen	Pd ²⁺ (como PdCl ₄ ²⁻)	Khayatian, 1999
NMPL	cumeno, tolueno ó queroseno	soportada	Au ³⁺	Sastre, 1998
ODPHA	queroseno	soportada	Ga ³⁺	Okushita, 1995, 1996
PC 88A	dodecano	soportada	U ⁶⁺	Kedari, 2001
			Pu ⁴⁺	Kedari, 1999
			Co ²⁺ , Ni ²⁺	Matsuyama, 1987
	queroseno	emulsión	Cu ²⁺ , Co ²⁺ , Zn ²⁺ , Ni ²⁺ , Cd ²⁺ , Mn ²⁺ , Pb ²⁺ , Fe ²⁺	Li, 1993
			Zn ²⁺	Valenzuela, 2005
	heptano	soportada	Mo ⁶⁺	Sato, 1989a
			Zn ²⁺	Sato, 1989b
Cu ²⁺ , Zn ²⁺			Saito, 1990	
	emulsión	Co ²⁺	Kasaini, 1998	
PVSA	agua	Acuosa híbrida(AHLM)	Cd ²⁺ , Cu ²⁺	Kislik, 2000b
P204	queroseno	emulsión	Co ²⁺	Longquan, 1997
tBuB21C7	n-hexilbenceno	soportada	Cs ⁺	Dozol, 1995
TCBA	cumeno	soportada	Ag ⁺	El-Aamrani, 1999
OCT	cumeno	soportada	Ag ⁺	El-Aamrani, 1999
TBP	benceno	soportada	Th ⁷⁺	Rasul, 1995
	ciclohexano		Cd ²⁺	Nowier, 2000
	cumeno		Au ⁺	Sastre, 2000a
			(como Au(CN) ₂)	
	TBP		Nb ⁵⁺	Campderrós, 2000
	dodecano		Cr ⁶⁺	Venkateswaran, 2005
			U ⁶⁺ , Pu ⁴⁺	Rathore, 2004
			U ⁶⁺	Shukla, 1991
			Lantánidos	Kopunec, 1992
	queroseno		Pu ⁴⁺	Rathore, 2001
			V ⁵⁺ , Zn ²⁺ , Be ³⁺	Chaudry, 1989
			Tc ⁷⁺	Chaudry, 1993
			U ⁶⁺	Chaudry, 1994b, 1995
			Ce ³⁺ , Ce ⁴⁺	El-Said, 2002
octanol		Au ⁺	Taylor, 1992	
xileno	Zr ⁴⁺	Chaudry, 1989-90		
	Hf ⁴⁺ , Zr ⁴⁺	Chaudry, 1992b		

^a: ver final de la tabla III.1

Cont. Tabla III.1. Características principales de los sistemas de membranas líquidas empleadas para el transporte de metales.

Agente Extractante ^a		Disolvente ^a		Membrana Líquida	Ión	Referencia
TDA		TBP	heptano	soportada	Au ⁺	Taylor, 1992
TIOA		dimetilbenceno		emulsión	Cd ²⁺	Li, 1998
TNOA		CCl ₄		volumen	Cd ²⁺	He, 1998, 2000d; Ma, 1999b
		xileno		soportada		Ma, 1999c; He, 2000a, 2000c
		queroseno				He, 1999
		xileno				He, 2000a
		Xileno	acetato amónico	volumen		He, 2000b
TNOA	ROH	queroseno		híbrida	Cd ²⁺ , Zn ²⁺	Liu, 2003; He, 2004
TOA		queroseno		soportada	Pt ⁴⁺	Fu, 1995b
		xileno			Pd ²⁺	Fu, 1995c
					Mo ⁶⁺	Chaudry, 1990b, 1992c
					W ⁶⁺	Chaudry, 1991
					Tc ⁷⁺	Chaudry, 1996
					Cr ³⁺	Ashraf, 1997
					Cr ⁶⁺	Yun, 1993
		Cr ⁶⁺ , Hg ²⁺	Guha, 1994			
				emulsión	Cd ²⁺	Li, 1997
TOA	LIX 84	queroseno		soportada	Cu ²⁺ , Cr ⁶⁺	Yang, 1996
TOMAC		queroseno		soportada	Mo ⁶⁺ , W ⁶⁺	Mahmoud, 1996
TOPO		dodecano		soportada	Lantánidos	Ngo Manh, 1992
TOPO	TBP	queroseno				Chitra, 1997
TOPS-99		queroseno		soportada	Cu ²⁺ , Zn ²⁺	Swain, 2004a, Sarangi, 2004
					Cd ²⁺ , Zn ²⁺	Swain, 2004b, Swain, 2006
TPP		o-nitrofenil octil éter		soportada	Alcalinos y alcalinoterreos	Saito, 1993
		cloroformo, diclorometano o dicloroetano		volumen	Cr ⁶⁺	Sahmoune, 2004
TTD		MCT	queroseno	soportada	Au ⁺ , Au ³⁺	Lachowicz, 1996
TT12C4		cloroformo		volumen	Hg ²⁺	Shamsipur, 2002
TT12C4/PhenS ₂ O		NPOE		soportada	Ag ⁺ , Hg ²⁺	Shamsipur, 2006
R2DC18C6		fenilhexano		soportada	Ba ²⁺ , Ca ²⁺ , Cd ²⁺ , Hg ²⁺ , K ⁺ , Li ⁺ , Ni ²⁺ , Sr ²⁺ , Zn ²⁺	Izatt, 1989

^a: ver final de la tabla III.1

Cont. Tabla III.1. Características principales de los sistemas de membranas líquidas empleadas para el transporte de metales.

Agente Extractante ^a		Disolvente ^a	Membrana Líquida	Ión	Referencia
Diferentes aminas		heptano	soportada	Au ¹⁺	Barnes, 1993
Diferentes β-dicetonas		mezcla de nitrifenil, octil, heptil o fenil éteres y TBEP	soportada	Lantánidos	Sugiura, 1989
Acido láurico		TEHP	soportada	Cu ²⁺	Paugam, 1998
A-18C6	AP	cloroformo	volumen	Pb ²⁺	Akhond, 1997
				Cd ²⁺	Akhond, 1996
Batocuproina		dibencil éter	soportada	Zn ²⁺	Saito, 1990, 1992
Batocuproina ó neocuproina ó batofenantrolina		dibencil éter	soportada	Cd ²⁺ , Zn ²⁺ , Cu ²⁺ , Ag ⁺	Saito, 1990, 1991, 1994, 1998
Decil-18-corona-6		cloroformo	volumen	Sr ²⁺	Shamsipur, 2002
Diferentes estructuras de calixareno		cloroformo	volumen	Ag ⁺	Chen, 2000
				UO ₂ ²⁺	Ramkumar, 2002
				Hg ²⁺	Alpoguz, 2004, 2005a, 2006b
		NPOE, cloroformo o xileno	soportada	Hg ²⁺	Alpoguz, 2005b
Derivado cíclico de carboxil calixareno		tolueno	emulsión	Ho ³⁺ , Er ³⁺ , Y ³⁺	Kakoi, 1997
Diferentes 4-acil-5-pirazolonas y diferentes tipos de β-dicetonas		SHELLSOL T, SHELLSOL AB	emulsión	Cd ²⁺ , Zn ²⁺ , Ni ²⁺	Mickler, 1996
Diferentes 1,10-fenantrolinas cóncavas	cloroformo	volumen	Cu ²⁺ , Pb ²⁺	Köning, 1999	
	o-nitrofenil octil éter	emulsión	(como nitratos)		
Diferentes aza-tioeter conora / 1,10-fenantrolina		o-nitrofenil octil éter	soportada	Ag ⁺	Shamsipur, 2003
Thioridazina·HCl (TRHCl) / ácido oleico		cloroformo	volumen	Pd ²⁺	Farhadi, 2000
tetratio-12-corona-4		cloroformo	volumen	Au ³⁺	Mashahadzadeh, 2004
Prime JMT, Amberlite LA2		cumeno	soportada	Au ⁺ (como Au(CN) ₂)	Sastre, 2000
Janus Green (JG)		cloroformo	volumen	Au ³⁺ (como Au(CN) ₄ ⁻)	Safavi, 2002
hidroxamato tetradentado		CHBr ₃	soportada	Cu ²⁺	Bromberg, 1992
Victoria blue		cloroformo	volumen	Au ³⁺ (como Au(CN) ₄ ⁻)	Safavi, 1999
1,10-diaza-18-corona-6		cloroformo	volumen	Zn ²⁺	Dadfanian, 1992b
2-BDA		dodecano	soportada	Ga ³⁺	Teramoto, 1993

^a: ver final de la tabla III.1

Cont. Tabla III.1. Características principales de los sistemas de membranas líquidas empleadas para el transporte de metales.

Agente Extractante ^a	Disolvente ^a	Membrana Líquida	Ión	Referencia
derivado del ditiiofosfonato	cloroformo	volumen	Cu ²⁺	Alpoguz, 2005c
ketoconazol/ácido oléico	cloroformo	volumen	Cd ²⁺	Farhadi, 2005
piroxicam	cloroformo	volumen	Cu ²⁺	Sadeghi, 2005
serie de aciltioureas	cloroformo	volumen	Ag ⁺	Habtu, 2006
salophen	cloroformo	volumen	Cu ²⁺	Gholivand, 2000
2H-5-DBA	queroseno	soportada	Cu ²⁺	Molinari, 2004
8HQ5	dihexil eter	soportada	Cu ²⁺	Jönsson, 1992
	tolueno/n-heptano	emulsión	Fe ³⁺	Kageyama, 2004
18C6	xileno	emulsión	Cs ⁺	El-Said, 2003
18C6/tetrabutil amonio/ácido palmítico	cloroformo	volumen	Pb ²⁺	Parham, 1994

^a : **AP**: ácido palmítico; **Acorga M5640**: 2-hidroxi-5-nonilbenzaldehído oxima; **Acorga P-50**: salicilaldioxoxima; **ADOGEN 364**: aminas trialquil terciarias; **Alamina 304**: trilaurilamina; **Alamina 336**: tri-(C₈-C₁₀) amina; **Aliquat 336**: cloruro de metiltricaprililamonio; **APTS4**: 2,5-bis(3,6-ditianoil)tiofeno; **18C6**: 18-corona-6-éter ; **A-18C6**: Aza-18-corona-6; **A2Br**: ácido 2 bromodecanoico; **BDM**: rojo de metilo; **BMACD**: 1,2-Bis metil (2-aminociclopenteno carboditioato) etano; **BTPD**: bis(bis(2-etilhexiloxi)tiofosforil) disulfuro; **B21C7**: decilbenzo-21-corona-7; **CMP**: dihexil-N,N-dietilcarbamoilmetilfosfonato; **CMPO**: óxido octilfenil-N,N'-diisobutilcarbamoil metileno-fosfina; **Cyanex 272**: ácido bis(2,4,4-trimetilpentil) fosfínico; **Cyanex 301**: ácido Bis(2,4,4-trimetilpentil) ditiiofosfínico; **Cyanex 302**: ácido bis(2,4,4-trimetilpentil) tiofosfínico; **Cyanex 471X**: triisobutilfosfina sulfuro; **Cyanex 921**: óxido trioctilfosfina; **Cyanex 923**: óxido trialquilfosfínico; **Cyanex 925**: óxido bis(2,4,4-trimetilpentil) octilfosfina; **DA15C5**: 1,7-diaza-15-corona-5; **DBDA15C4**: dibenzodiaza-15-corona-4; **DBPY18C6**: dibenzopiridino-18-corona-6; **DBzDA18C6**: dibenzildiaza-18-corona-6; **DB21C7**: dibenzo-21-corona-7; **DCB**: 1,2-diclorobenzeno; **DC18C6**: dicitlohexano-18-corona-6; **DEHTPA**: ácido di(2-etilhexil) tiofosfórico; **DETE**: 3,3-dietiltietano; **DIPSA**: ácido 3,5-diisopropilsalilico; **DMPL**: 1-(dodeciloil)-3-metil-1-oxo-Δ³-fosfoleno; **DOLPA**: ácido diolilfosfórico; **DOPA**: ácido di(n-octil)fosfórico; **DOS**: dioctil sulfuro; **DTH**: dodeciltiurea; **DTMPPA**: ácido di(2,4,4-trimetilpentil) fosfínico; **D2EHPA**: ácido bis(2-etilhexil) fosfórico; **EACDA**: ácido N-etil-2-aminociclopenteno-1-ditiocarboxilico; **EHPA**: ácido 2-etilhexil-2-etilhexilfosfínico; **E-HNBPO**: E-2-hidroxi-5-nonilbenzofenona oxima; **EHPML**: 1-(2-etilhexiloxi)-3-metil-1-oxo-Δ³-fosfoleno; **2-HBET**: 2-hidroxibenzaldehído N-etiltiosemi-carbazona; **2H5DBA**: 2-hidroxy-5-dodecylbenzaldehyde; **HDEP** ó **DP-8R**: Di(2-etilhexil) fosfórico; **HDPB**: hexadecilpiridina bromuro **HEH (EHP)**: mono(2-etilhexil)2-etilhexilfosfato; **HPMBP**: 1-fenil-3-metil-4-benzoil-5-pirozolen; **HT18C6**: hexatia-18-corona-6; **HS**: ácido dinonilnaftaleno-sulfónico; **K⁺ DC18C6**: K⁺ dicitlohexano-18-corona-6; **LA**: ácido laúrico; **LIX 26**: oxina; **LIX 54**: 1-fenil-3-alquil 1,3-propanodiona; **LIX 63**: 5,8-dietil-7-hidroxi-6-dodecano oxima; **LIX 84**: 2-hidroxi-5-nonilacetofenona oxima; **LIX 622**: LIX 860 + tridecano; **LIX 860**: 5-dodecilsalicilaldoxima; **LIX 864**: LIX 860 + LIX 64N (LIX 63 + LIX 65N (2-hidroxi-5-nonilbenzofenona)); **LIX 973N**: nonilsalicil aldoxima + cetoxima + nonilfenol; **LIX 984**: LIX 84 + LIX 860; **LPB**: polibutadieno; **MF18**: octilfenilmetano-sulfuro; **MSP-8**: ácido di(2-etilhexil)monotiofosfórico; **Na(DDTC)**: dietilditiocarbamato sódico; **nDecB21C7**: n-decilbenzo-21-corona-7; **4NB15C5**: 4-nitrobenzo [15-corona-5]; **NH₄⁺-DBzDA18C6**: Amonio-dibenzildiaza-18-corona-6; **NMPL**: 1-(2,6-dimetilhept-4-iloxi)-3-metil-1-oxo-Δ³-fosfoleno; **NPOE**: o-nitrofenil octil éter; **NTH**: noniltiurea; **N₂₃₅**: tricaprilamina; **ODPHA**: N-octadecanoil-N-fenilhidroxilamina; **PC 88A**: ácido 2-etilhexil fosfónico mono-2-etilhexil éster; **PVSA**: ácido polivinil sulfónico; **P204**: bis (2-etilhexil) fosfato; **ROH**: octilalcohol secundario; **salophen**: N,N'-bis(salicilidene)-1,2-phenyldiamina; **TBP**: tri-n-butil fosfato; **tBuB21C7**: tert-butylbenzo-21-corona-7; **TCBA**: N-(N,N'-diel tiocarbamoil)N'-fenilbenzamidina; **TCTH**: 1,6-dietilcarbamoil imino-1,6-difenil-2,5 ditiahexano; **TDA**: Tridecilamina; **THF**: tetrahidrofurano; **TIOA**: tri-iso-octilamina; **TIBPS**: sulfuro de triisobutilfosfina; **TNOA**: tri-n-octilamina; **TOA**: tri-octilamina; **TOMAC**: cloruro de tri-n-octilmetil amonio, **TOPO**: tri-n-octilfosfina oxido; **TOPS-99**: di-2-ethyl hexyl phosphoric acid; **TPP**: tripentil fosfato; **TTD**: 1,12-di-2-tienil-2,5,8,11-tetratadodecano; **TT12C4**: tetratia-12-corona-4; **R2DC18C6**: bis(1-hidroxiheptilciclohexano)-18-corona-6; **22DD**: 11,10-didecil-1,10-diaza-18-corona-6; **2H-5-DBA**: 2-hidroxi-5-dodecilbenzaldeido; **8HQ5**: 8-Hidroxi-quinolina; **18C6**: 18-corona-6; **2-BDA**: ácido 2-bromodecanoico.

Así mismo, las aplicaciones de las membranas líquidas que se recogen son de naturaleza tecnológica, industrial o teóricas, sobre las propiedades, el mecanismo o la cinética de transporte de un tipo de membrana dado, encaminadas a la separación de metales de disoluciones acuosas diversas. Así, se pueden citar, por su mayor uso, la extracción de metales de aguas residuales, de las aguas procedentes de la industria minera, de los efluentes de la producción del ácido fosfórico, de disoluciones de nitrato/ácido nítrico, de disoluciones cloruradas, de disoluciones alcalinas, de disoluciones cianuradas, de disoluciones de sulfatos, de aguas residuales de la industria joyera, de aguas procedentes de la industria del curtido, de aguas residuales de la industria nuclear, eliminación de impurezas en la recristalización de sales, separación de lantánidos, separación de actínidos, separación de níquel y cobalto, separación de hafnio y circonio, etc.

III.1.3. Aplicaciones de las membranas líquidas en análisis de metales traza en aguas naturales

La utilización de las membranas líquidas en Química Analítica no fue muy destacada hasta la última década (no supuso más del diez por ciento), y principalmente se aplicaron en la separación y/o preconcentración de metales en la determinación de traza de metales en agua potable, cerveza, bebidas potables, leche, en soluciones cianuradas y en fluidos biológicos (como orina o suero).

No obstante, hay que destacar el auge que actualmente está experimentando la tecnología de membranas líquidas en el campo del análisis medioambiental, habiéndose empleado como sensores ambientales y encontrándose un aumento significativo en el número de aplicaciones a muestras acuosas medioambientales como aguas de río, aguas subterráneas y agua de mar, por lo que serán objeto del trabajo experimental de esta Tesis Doctoral.

En la Tabla III.2., se recogen las aplicaciones analíticas de las membranas líquidas para la determinación de metales en muestras

reales de aguas de diferente naturaleza, indicándose el metal y el sistema de membrana líquido empleado.

Aunque en esta revisión, la extracción con membrana de emulsión y la extracción con membrana líquida soportada han resultado ser técnicas más comunes que las MLV, una ventaja de éstas, no explotada analíticamente de modo suficiente, es que son químicamente muy estables (Szpakowska, 1996). Hay pocos ejemplos de su uso para la determinación de metales traza en aguas naturales. Así, Ramkumar y colaboradores (Ramkumar, 2002) han empleado recientemente este sistema para la determinación de trazas de U, Mendiguchía y colaboradores (Mendiguchía, 2002) para trazas de Cu, y Granado-Castro para trazas de Cu y Cd (Granado-Castro, 2004a, 2004b), siendo en los tres casos en muestras de agua de mar.

Los resultados de estos trabajos apuntan resultados muy satisfactorios y novedosos en el desarrollo de nueva metodología de análisis, sobre todo a partir de una característica importante de las membranas líquidas: *pueden ser selectivas para las formas iónicas libres y/o lipofílicas de los componentes que se analizan*, de aquí que puedan proporcionar información sobre la biodisponibilidad y toxicidad de éstas especies. Esto las hace viables para estudios de **especiación en muestras acuosas medioambientales** (Majors, 2004), aspecto que está aún por abordar y que tiene excelentes perspectivas de futuro.

En la Tabla III.3., se han recogido las escasas aplicaciones de los sistemas de membrana líquida a la especiación de metales en muestras de agua. Así, en la bibliografía se recogen algunos estudios de especiación realizados sobre diferentes iones metálicos pesados en aguas naturales. Los reactivos transportadores más usados son 22DD (11, 10-didecil-1,10-diaza-18-corona-6), D2EHPA (ácido bis(2-etilhexil) fosfórico) y 8-hidroxiquinolina, y se han aplicado a la extracción de Cu^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} , Cd^{2+} y Cr^{3+} en aguas naturales (Parthasarathy, 1997; Tomaszewski, 2003; Djane, 1999, 1997a, 1997b; Ndung'u, 1998).

Tabla III.2. Aplicaciones analíticas de las membranas líquidas a la determinación de metales en aguas.

Tipo de Muestra	Agente Extractante/ Disolvente ^a	Membrana Líquida	Metal	Referencia
Agua natural	Aliquat 336/ dihexil éter	soportada	Co ²⁺	Jönsson, 1992
Agua natural	8HQS/dihexil éter	soportada	Cu ²⁺	Jönsson, 1992
Agua potable	PC 88A + D2EHPA/queroseno	emulsión	Cu ²⁺ , Co ²⁺ , Zn ²⁺ , Ni ²⁺ , Cd ²⁺ , Mn ²⁺ , Pb ²⁺ , Fe ²⁺	Li, 1993
Agua natural	Kriptofix 22DD/tolueno + fenilhexano	soportada	Cu ²⁺	Parthasarathy, 1994, 1999, 2002
Agua procedente de industria minera	Acorga M5640/ Isopar L	emulsión	Cu ²⁺	Wright, 1995
Agua residual industrial	MSP-8/heptano	emulsión	Pd ²⁺	Kakoi, 1996
Agua residual industrial de	TOA/tolueno	soportada	Cr ³⁺	Ashraf, 1997
Agua de río	D2EHPA / queroseno	soportada	Cu ²⁺ , Cd ²⁺ , Pb ²⁺	Djane, 1997a
Agua natural	Kriptofix 22DD ó HDEP / tolueno ó tolueno + queroseno	soportada	Cu ²⁺ , Pb ²⁺ , Cd ²⁺	Parthasarathy, 1997
Agua de río	D2EHPA/queroseno	soportada	Co ²⁺ , Cd ²⁺ , Zn ²⁺ , Ni ²⁺ , Mn ²⁺	Ndungú, 1998
Agua natural	22DD + LA/fenilhexano + tolueno	soportada	Cu ²⁺	Parthasarathy, 1999, 2004
			Cd ²⁺	Bayen, 2006
	Pb		Salaün, 2004b, Slaveykova, 2004	
	Cu ²⁺		Romero, 2005	
Agua residual de industria de curtidos	Aliquat 336 ó D2EHPA/ queroseno	soportada	Cr ³⁺ , Cr ⁶⁺	Djane, 1999
Disolución acuosa salina	Cyanex 925/queroseno	soportada	La ³⁺ , Nd ³⁺ , Tb ³⁺ , Yb ³⁺	Garcia-Valls, 1999
Agua residual de la extracción de Pu	PC 88A /dodecano	soportada	Pu ⁴⁺	Kedari, 1999
Agua residual	Aliquat 336 ó Alamina 336 /queroseno	emulsión	Cr ⁶⁺	Chakravarti, 1995
Aguas residuales	LIX 622 ó LIX 84/ queroseno	emulsión	Cu ²⁺	Chakravarti, 2000
Agua de alta salinidad	TBP / ciclohexano	soportada	Cd ²⁺	Nowier, 2000
Agua salina sintética	Alamina 336 ó LIX 84/ queroseno	soportada	Cu ²⁺ , Ni ²⁺ , Fe ³⁺	Gill, 2000
Agua residual de la extracción de Pu	PC 88A/dodecano	soportada	U ⁶⁺	Kedari, 2001
Agua natural	Kriptofix 22DD/tolueno + fenilhexano	soportada	Cu ²⁺ , Pb ²⁺ , Cd ²⁺ , Zn ²⁺	Parthasarathy, 2001, 2002, 2003

^a: ver final de la tabla III.1

Cont. Tabla III.2. Aplicaciones analíticas de las membranas líquidas a la determinación de metales en aguas.

Tipo de Muestra	Agente Extractante/ Disolvente ^a	Membrana Líquida	Metal	Referencia
Agua residual ácida	TBP/dodecano	soportada	Pu ⁴⁺	Rathore, 2001
Agua de mar	D2EHPA/queroseno	volumen	Cu ²⁺	Mendiguchía, 2002
Agua de mar	Diferentes estructuras de calixareno/cloroformo	volumen	UO ₂ ²⁺	Ramkumar, 2002
Agua natural	D2EHPA/queroseno	soportada	Cu ²⁺	Trtic-Petrovic, 2002
Agua natural	D2EHPA/queroseno	soportada	Mn ²⁺	Soko, 2003
Agua natural y potable	D2EHPA/queroseno	soportada	Cd ²⁺	Marchesse, 2004b
Agua residual industrial	TEA/ciclohexanona	soportada	Co ²⁺	Bukhari, 2004
Agua residual	2H-5-DBA/queroseno	soportada	Cu ²⁺	Molinari, 2004
Agua de mar	2-APBH/tolueno	volumen	Cu ²⁺	Granado-Castro, 2004a
			Cd ²⁺	Granado-Castro, 2004b
Agua de mar	N-benzoil-N', N'- diheptadeciltiurea/ decalino + cumeno	soportada	Hg ²⁺	Fontàs, 2005
Agua de mar	lasalocid/NPOE	soportada	Cu ²⁺	Ndung'u, 2005
Agua sintética	neocuproina/tolueno + n- heptano	emulsión	Cu ²⁺	Matsumiya, 2006

^a: ver final de la tabla III.1

Existen trabajos en los que se realiza la especiación del ión metálico en presencia de ácido fúlvico y otros ligandos naturales presentes comúnmente en las aguas naturales. En este sentido, Parthasarathy y colaboradores (Parthasarathy, 1999) realizaron estudios de este tipo para Cu²⁺ en agua de río. Igualmente, estos autores (Parthasarathy, 1997) han propuesto una MLS en capilares de fibra hueca para realizar la especiación de cobre, plomo y cadmio en aguas naturales, empleando dos sistemas, uno de flujo y otro sin flujo, para separar y preconcentrar los iones libres metálicos y realizando la determinación posterior por espectroscopía de absorción atómica.

En algunos de estos trabajos de especiación los iones metálicos se separan de forma simultánea (Papantoni, 1995; Djane, 1999, 1997a; Ndung'u, 1998), debido a que el transportador puede extraer más de un ión en función de su carga. También, se han empleado dos membranas conectadas en serie para separar y hacer la especiación redox de Cr(VI) y Cr(III) en una misma muestra de agua (Djane, 1999), usando Aliquat 336 y D2EHPA en queroseno. La alta selectividad de los transportadores hacia el ión objeto de interés también ha quedado de manifiesto en estudios de U(VI) en aguas naturales (Chimuka, 2003).

Por todo ello, se ha considerado el alto interés de este tipo de metodología en la preconcentración, separación y posible especiación de metales pesados en muestras de aguas reales.

Tabla III.3. Aplicación de las membranas líquidas a la especiación de metales en aguas.

Tipo de muestra	Agente extractante/ Disolvente ^a	Membrana líquida	Metal	Referencia
Agua natural	22DD /tolueno + queroseno	soportada	Cu ²⁺	Parthasarathy, 1991
Agua natural	22DD / tolueno + fenilhexano	soportada	Cu ²⁺	Parthasarathy, 1994
Agua natural	22DD ó DP-8R / tolueno ó tolueno + queroseno	soportada	Cu ²⁺ , Pb ²⁺ , Cd ²⁺	Parthasarathy, 1997
Agua natural	Aliquat 336/queroseno y D2EHPA/queroseno	soportada	Cr ³⁺ , Cr ⁶⁺	Djane, 1999
Agua natural	22DD + LA/ fenilhexano + tolueno	soportada	Cu ²⁺	Parthasarathy, 1999, 2004
Disoluciones acuosas salinas	Cyanex 923 /xileno	soportada	Cr ⁶⁺	Alguacil, 2000b
Agua natural	22DD + LA/ fenilhexano + tolueno	soportada	Cu ²⁺ , Pb ²⁺ , Cd ²⁺ , Zn ²⁺	Parthasarathy, 2001, 2002
Agua natural	D2EHPA /queroseno	soportada	Cu ²⁺	Trtic-Petrovic, 2002
Agua natural	TBP/queroseno	soportada	U ⁶⁺	Chimuka, 2003
Agua natural	22DD + LA/ fenilhexano + tolueno	soportada	Cu ²⁺ , Pb ²⁺ , Cd ²⁺	Salaun, 2003
Agua natural	22DD + LA/ fenilhexano + tolueno	soportada	Cu ²⁺ , Pb ²⁺ , Cd ²⁺ , Zn ²⁺	Parthasarathy, 2003
Agua natural	22DD + LA/ fenilhexano + tolueno	soportada	Pb ²⁺	Slaveykova, 2004

^a: ver final de la tabla III.1

III.2. Parte experimental

III.2.1. Sistema de membrana líquida empleado

De las diferentes posibilidades de configuración de membranas líquidas existentes en la bibliografía, en el presente trabajo se ha optado por el uso de una membrana líquida de volumen (MLV) por ser, junto con la configuración de membrana líquida soportada (MLS), la que mejor se adapta a estudios de laboratorio. Por otro lado, la configuración de volumen permite, respecto a las soportadas, un diseño y manipulación más sencillos.

La celda de membrana líquida empleada es de diseño propio y aparece detallada en la Figura III.2. Consta de dos vasos concéntricos, fabricados en vidrio, de distinto volumen. En el compartimiento exterior, de mayor capacidad, se coloca lo que se ha denominado como *fase acuosa cargada* (V_1) con la especie que se desea transferir a la *fase acuosa receptora* (V_2), que se sitúa en el vaso interior. La disolución orgánica empleada como membrana líquida (V_0), de menor densidad que las disoluciones acuosas utilizadas, queda sobre éstas poniéndolas en contacto, posibilitando el transporte del metal desde la fase cargada hacia la fase receptora. En este sistema, la diferencia de volumen entre los compartimentos destinados a las disoluciones cargada y receptora hace posible la concentración de la especie recuperada durante la separación. El proceso se lleva a cabo mediante agitación de ambas disoluciones.

El fundamento del método a optimizar se basa en una preconcentración a través de una extracción-reextracción simultánea del ión metálico mediante la formación de un complejo neutro y su posterior destrucción con una fase receptora ácida. Por tanto, el

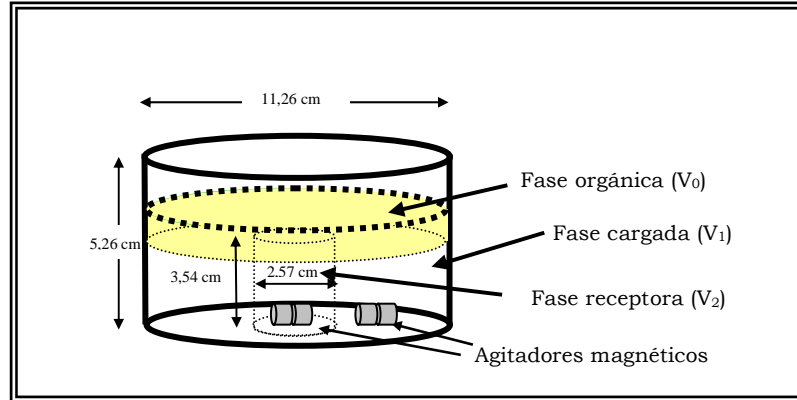


Figura III.2. Celda de membrana líquida de volumen empleada (factor de preconcentración: 18).

mecanismo de transporte que se utilizará será el transporte asistido, en el cual, el ligando metálico actúa de transportador (“carrier”) del ión metálico.

En la interfase entre la fase cargada y la membrana líquida se forma el complejo metálico L_nM , complejo que es soluble fundamentalmente en la fase orgánica. Dicho complejo metálico difunde a través de la membrana hacia la interfase membrana-disolución receptora, donde se descompone por la acción de una tercera especie química, el medio ácido, que al unirse al extractante produce el proceso opuesto. De esta forma, los iones metálicos son liberados en la fase receptora y se regenera el transportador, que regresa a la fase orgánica. La fuerza impulsora de esta transferencia de materia es el gradiente de concentración de protones entre las dos fases acuosas, de tal forma que los iones metálicos llegan a ser transportados incluso en contra de su gradiente de concentración (Figura III.3).

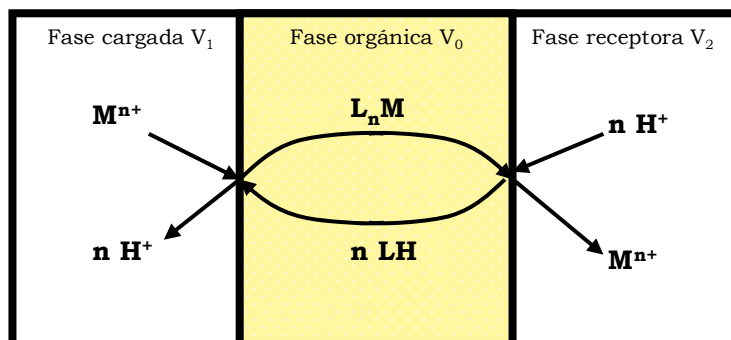


Figura III.3. Mecanismo de transporte de metal a través de la membrana líquida (LH= 2APBH)

La celda de membrana líquida de volumen se mantuvo tapada durante el proceso de preconcentración para evitar problemas de evaporación del disolvente orgánico y/o de contaminación. Para ello, se empleó una placa Petry de vidrio que se acoplaba perfectamente a la celda de membrana.

Las disoluciones contenidas en la celda de membrana líquida se agitaron con pequeños imanes (1,2 cm x 0,4 cm), usando un aparato de agitación magnética (Agimatic-S (Selecta, España)).

Se realizaron ensayos previos para determinar los volúmenes de las disoluciones cargada y receptora que permitían un factor de preconcentración máximo sin mezclas entre las fases. Así, para el diseño de celda de la figura III.2. se optó por adicionar un volumen de fase cargada V_1 de 288 mL y un volumen de fase receptora V_2 de 16 mL. Con estos datos el factor de preconcentración en el sistema de membrana líquida diseñado obtenido fue de 18.

El volumen de la membrana líquida (V_0) que se utilizó en estos estudios previos fue ≥ 69 mL, debido a que se comprobó que era el necesario para que existiera contacto de la membrana líquida con las dos disoluciones acuosas.

III.2.2. Selección de la membrana líquida de volumen

III.2.2.1. Disolvente orgánico de la membrana líquida

El diseño de la membrana líquida de volumen con transporte asistido que se quería proponer requería de un disolvente orgánico y un agente extractante disuelto en éste, que funcionase como transportador del metal traza disuelto en la muestra de agua.

La forma de la celda de vidrio diseñada en este trabajo (Figura III.4.) requiere el uso de un disolvente orgánico cuya densidad sea menor que la del agua, para que la fase orgánica quede situada sobre ambas fases acuosas. Además, el disolvente elegido debe presentar ninguna o muy baja miscibilidad con el agua.

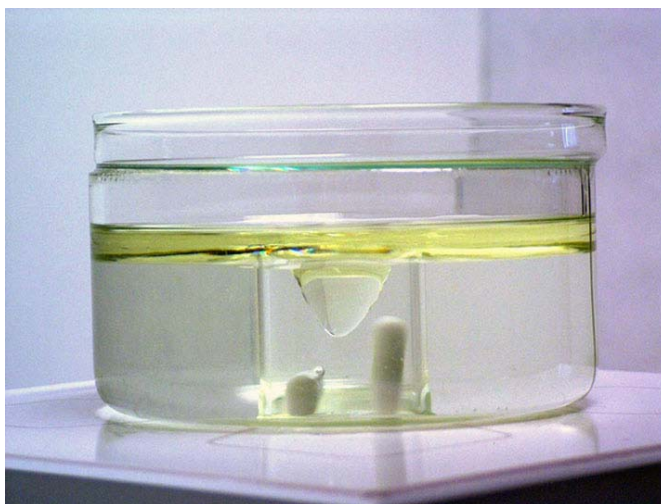


Figura III.4. Celda de membrana líquida de volumen.

Así, de los diferentes disolventes orgánicos que presentan las características citadas anteriormente se pensó en el uso de tolueno, keroseno, hexano, hexanol o octanol. Además, todos estos disolventes

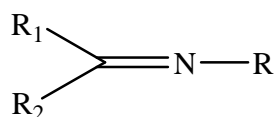
orgánicos pueden ser empleados en sistemas de membrana líquidas soportadas, lo que supone la posibilidad de futuras aplicaciones a ese tipo de membranas de los trabajos aquí desarrollados.

III.2.2.2. Agente transportador

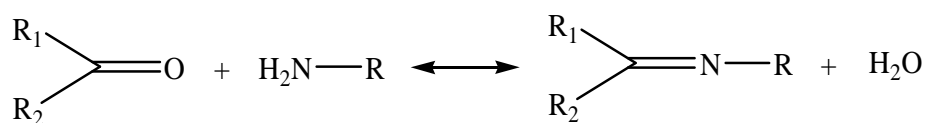
De igual forma se pasó a la selección del agente extractante, teniendo en cuenta que el sistema a diseñar se proponía para la determinación de trazas metálicas en muestras acuosas. Así, entre los reactivos extractantes de metales pesados de interés medioambiental, se propuso la utilización de un grupo muy conocido, la familia de las hidrazonas.

Las hidrazonas se encuentran dentro del grupo de los compuestos orgánicos de tipo “imino”. Este tipo de compuestos han sido ampliamente estudiados por su aplicabilidad en el Análisis Inorgánico, tanto como reactivo fotométrico como fluorométrico (del Moral, 1986).

Los compuestos del tipo imino se pueden representar de manera general de la siguiente forma:



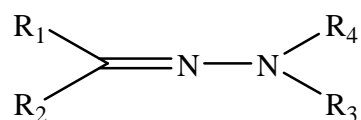
Se sintetizan de manera simple mediante una reacción de condensación entre compuestos carbonílicos y aminas primarias (del Moral, 1986):



Según la naturaleza de R se obtienen, entre otros, oximas (R:-OH), acinas (R:-N=CR₁´R₂´), semicarbazonas (R:-NH-CO-NH₂), tiosemi-

carbazonas ($R:-NH-CS-NH_2$), selenosemicarbazonas ($R:-NH-CSe-NH_2$) e hidrazonas ($R:-N-R_1'R_2'$).

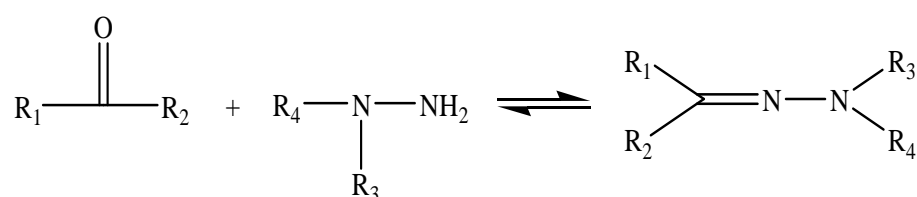
Así pues, las hidrazonas son azometinos caracterizados por la presencia de la agrupación triatómica $C=N-N$. Se representa de forma general:



donde R_1 , R_2 , R_3 y R_4 representan la existencia de hasta cuatro radicales. El átomo de nitrógeno del grupo azometino ($C=N$) recibe el nombre de nitrógeno imínico y el inmediatamente posterior se denomina nitrógeno amínico.

Los radicales pueden ser de distinta naturaleza, lo que da lugar a distintos tipos de hidrazonas. Los sustituyentes pueden ser: protones, radicales alquilo, radicales arilo, radicales acilo, radicales O-alquilo, radicales O-arilo, así como grupos nitrilo o halógenos.

Las hidrazonas se obtienen de la condensación de compuestos carbonílicos con hidracinas. Para ello se suelen calentar a reflujo cantidades equimolares de la hidracina y del compuesto carbonílico correspondiente, previamente disueltos en el disolvente adecuado:



La hidrazona precipita durante el proceso de calefacción o, generalmente, cuando se enfría la disolución resultante. Es frecuente

realizar la recristalización del precipitado, empleando para ello un disolvente apropiado.

El hecho de que las hidrazonas sean compuestos fáciles de sintetizar y que posean alta reactividad, hace posible su aplicación en numerosos campos:

- * En medicina: para el tratamiento de la tuberculosis, leucemia y enfermedades mentales (Qingbao, 1996); como agentes antitumorales (Kratz, 1998), antivirales (Abdelrahman, 1993), antibacterianos (Shen, 1995) o antimicrobianos (Bergamaschi, 1997).
- * En agricultura: como componentes de plaguicidas o agentes reguladores del crecimiento de las plantas (Serrano Muñoz, 2001).
- * En análisis medioambiental: para la determinación y control en el aire de compuestos orgánicos que pueden llegar a ser importantes contaminantes atmosféricos (Zurek, 2000), tales como el acetaldehído y formaldehído, o para la determinación de compuestos fenólicos que pueden estar presentes en aguas residuales industriales (Russell, 1999).

Sus dos aplicaciones fundamentales dentro del campo de la Química Analítica se centran en la detección, determinación y aislamiento de compuestos carbonílicos, así como en la detección y determinación de iones metálicos. En este último aspecto, se aprovecha el hecho de que las hidrazonas actúan como ligandos multidentados, siendo capaces de formar con iones metálicos, generalmente de los metales de transición, quelatos coloreados. Estos quelatos presentan una alta absorptividad molar y son fácilmente extraíbles en disolventes orgánicos inmiscibles con agua (Samara, 1986). Las hidrazonas pueden coordinar a los metales a través de uno de los átomos de nitrógeno o en combinación de uno de éstos y algún otro átomo electronegativo, tal como el oxígeno o el azufre. Los quelatos metálicos originados, en general, son determinados por técnicas

espectroscópicas de absorción molecular o de fluorescencia molecular, según las características del complejo metálico.

Entre las hidrazonas que se han empleado en análisis de metales destacan las determinaciones fluorimétricas siguientes:

- *Picolinoilhidrazona de la 2-acetilpiridina* (APPH), que se ha empleado para la determinación de trazas de titanio (IV) (Mánuel-Vez, 1992) y aplicado satisfactoriamente en la determinación de este metal a niveles de $\mu\text{g.L}^{-1}$ en suelos agrícolas.
- *Saliciloilhidrazona del 2-hidroxil-1-naftaldehido* se ha utilizado en la determinación de magnesio en sangre (Zachilas, 1995).
- *Saliciloilhidrazona del salicilaldehido* (SASH) utilizada en la determinación de aluminio. El método se ha aplicado a la determinación de aluminio en glucosa y en bebidas comunes (Jiang, 2005).
- *Picolinoilhidrazona del salicilaldehido* (SAPH) para determinación fluorimétrica directa de aluminio en agua de mar a niveles de nmol.L^{-1} (Mánuel-Vez, 1997).

Para la determinación fotométrica directa de iones metálicos se han utilizado hidrazonas como:

- *Bis-(2-hidroxilbenzoil hidrazona) del difenilglioxal* (BSHB), empleada en la determinación de calcio (II) en aguas (agua de pantano, agua mineral) y alimentos (zumo de naranja, cerveza, leche, queso, huevo, etc.). (Silva, 1980).
- *2'-Dipiridil-4-amino-3-hidrazino-5-mercaptop-1,2,4-triazolhidrazona* (DPTH), útil en la determinación de Co(II) y como indicador metalocrómico para la valoración del cobre (Samara, 1986).
- *2,4-Hidroxilbenzaldehido isonicotinoil hidrazona* (2,4-DHBINH), que permite determinar titanio (IV) en pequeñas cantidades en medio acuoso (Mánuel-Vez, 1992).

Las hidrazonas han sido también empleadas en métodos de preconcentración de trazas metálicas principalmente mediante

extracción líquido-líquido y determinación por Espectrofotometría molecular o Espectroscopía de Absorción Atómica, en la fase orgánica. Dentro de este grupo destacan las siguientes:

- *2-Acetilpiridina benzoilhidrazona* (2-APBH), empleada para determinar trazas de cobre, níquel, cobalto y cinc en muestras acuosas, mediante extracción simultánea con alcohol isoamílico de los complejos formados con la 2-APBH. Los extractos fueron medidos por FAAS (García-Vargas, 1984).
- *2,2'-Dipiridilcetona Picoloinilhidrazona* (dPKPH), reacciona, entre otros, con hierro(II) de forma selectiva, lo que permite su especiación.

Por ello, y dada la experiencia dentro del grupo de trabajo en el que se ha realizado la Tesis Doctoral con diferentes hidrazonas, se pensó en su utilización como agente transportador en el diseño de la membrana líquida.

La elección de la fase orgánica de la membrana líquida requería una serie de premisas: el reactivo debía ser soluble en el disolvente orgánico, permaneciendo estable el tiempo necesario para su aplicación al sistema de membrana elegido, formar complejo con el ion metálico de interés y que dicho complejo se destruyera a un pH determinado, lo suficientemente alejado del pH de formación.

Se realizaron diferentes estudios previos con algunas hidrazonas de baja solubilidad en agua y se utilizaron diferentes disolventes orgánicos. En la Tabla III.4. se muestran los resultados obtenidos para las pruebas de solubilidad de diversas hidrazonas en tolueno, hexanol y octanol. Según la naturaleza del reactivo, se obtuvieron diferentes resultados cualitativos.

Tabla III.4. Carácter soluble de diferentes hidrazonas en tolueno, hexanol y octanol.

Reactivo ^a	Solubilidad en tolueno	Solubilidad en hexanol	Solubilidad en octanol
DAPBH	Baja	Baja	Baja
3-APBH	Alta	Baja	Alta
2-APBH	Alta	Alta	Baja
PABH	Baja	Alta	Alta
BABH	Baja	Alta	Baja
PhenBH 1:1	Alta	Baja	Alta
PhenBH 1:2	Alta	Alta	Baja
BPBH	Alta	Alta	Alta
NABH	Baja	Baja	Alta
DABBH	Alta	Baja	Alta

^a: Diacetilpiridina benzoilhidrazona (DAPBH), 3-acetilpiridina benzoilhidrazona (3-APBH), 2-acetilpiridina benzoilhidrazona (2-APBH), Picolinaldehído benzoilhidrazona (PABH), Benzaldehído benzoilhidrazona (BABH), Fenilbenzoilhidrazona (PhenBH 1:1), Fenilbenzoilhidrazona (PhenBH 1:2), Benzoilpiridina benzoilhidrazona (BPBH), Naftaldehído benzoilhidrazona (NABH), Diacetilbenzaldehído benzoilhidrazona (DABBH).

Con los reactivos más solubles en tolueno, se realizaron estudios de extracción-reextracción en discontinuo a diferentes pH y con diferentes metales pesados: Pb, Zn, Fe, Tl, Ni, As, Ti,...

Así, se realizaron las siguientes pruebas:

En un tubo de ensayo se adicionaron 3 mL de agua desionizada (MQ) y 0,5 mL de disolución reguladora de diferentes valores de pH: 4,5; 7 y 9,5. En esta disolución acuosa, se adicionaron 0,5 mL de disolución de metal de concentración 20 ppm.

El contenido del tubo de ensayo se agitó con 2 mL de disolución de reactivo en el disolvente orgánico seleccionado con una concentración de 0,2 % (p/V) durante unos 60-120 segundos con objeto de producir la extracción. Posteriormente se dejó que ambas

fases se separaran. El cambio del color de la fase orgánica posiblemente indicaba la presencia de complejo Metal-Ligando neutro en dicha fase.

En una segunda etapa en la que se quería realizar la reextracción del metal mediante la destrucción del complejo Metal-Ligando, se añadió sobre la fase orgánica obtenida en la etapa anterior una disolución de HNO_3 1 mol.L⁻¹.

Después de la separación de las nuevas fases se observó el aspecto de la fase orgánica. En aquellos casos donde el color obtenido en la etapa primera desaparecía se supuso que había tenido lugar la reextracción del complejo metálico.

A partir de los resultados obtenidos se decidió iniciar los estudios utilizando como ligando transportador el reactivo 2-acetilpiridina benzoilhidrazona (2-APBH) disuelto en tolueno y desarrollar una membrana líquida con posibles aplicaciones al **análisis de níquel**, pues a pH ligeramente ácido se produjo satisfactoriamente la extracción-reextracción del metal.

La hipótesis de trabajo radica en el transporte del metal mediante la formación de un complejo metálico en la fase orgánica y posterior eliminación del metal de la fase orgánica hacia la fase receptora por destrucción del complejo metálico por efecto del ácido nítrico.

III.2.3. Características y síntesis del reactivo transportador: 2-APBH

III.2.3.1. El compuesto 2-APBH

La 2-acetilpiridina benzoil hidrazona (2-APBH) es un reactivo orgánico que pertenece a la familia de las aroilhidrazonas. Presenta la fórmula molecular $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}$, y su fórmula semidesarrollada se recoge en la Figura III.5.

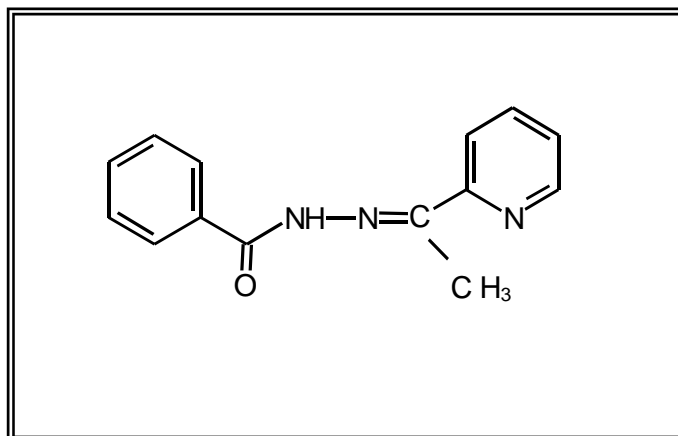
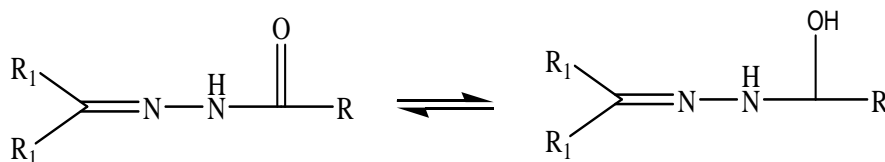


Figura III.5. 2-Acetilpiridina Benzoilhidrazona (2-APBH).

Las aroilhidrazonas se caracterizan por la presencia de un radical aroilo unido al nitrógeno amínico y por presentar tautomería ceto-enólica (en medio ácido o moderadamente alcalino el hidrógeno del grupo NH-CO puede enolizarse), lo cual hace que estos compuestos puedan complejar por el oxígeno del grupo carbonilo tanto en forma ceto como en forma enólica:



Por otro lado pueden también coordinarse al ion metálico a través del primer nitrógeno de la cadena hidracídica.

III.2.3.2. Síntesis de la 2-APBH

La síntesis de este reactivo (García-Vargas, 1981) consistió en la condensación de la 2-acetilpiridina y la benzoilhidrazina (Aldrich

(USA)). Para ello se mezclaron cantidades equimolares de 2-acetilpiridina (0,8 mL) y benzoilhidrazina (1 g) en 20 mL de etanol destilado, en un matraz de fondo redondo de 250 mL de capacidad. A la mezcla se le adicionaron unas gotas de HCl, sometiéndola posteriormente a calor con reflujo durante 60 minutos, sobre una manta calefactora. La mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente, dejando que apareciera precipitado un sólido blanco, la 2-APBH, que se separó del líquido sobrenadante por filtración a vacío. El producto obtenido fue recrystalizado y filtrado al menos dos veces más para asegurar su pureza. El rendimiento de la síntesis fue aproximadamente del 40 %.

III.2.3.3. Propiedades de la 2-APBH

- *Espectro Infrarrojo*

En el espectro IR de este compuesto se detectan las bandas correspondientes a las vibraciones características (cm^{-1}) de el modo de tensión del N-H a 3182 m (esta frecuencia es baja para corresponder a una absorción de N-H libre, por tanto puede asignarse a una absorción de N-H enlazado), el modo de tensión =C-H a 3030-3010 w (correspondiente a las vibraciones de los anillos fenilo y piridina), el modo de tensión del -CH₃ a 2980 y 2875 w, el modo de tensión del C=O a 1655 vs (banda I de la amida), la deformación del N-H a 1540 s (banda II de la amida, probablemente con contribución del modo de tensión el C=N), y el modo de tensión del C-N a 1285 s (banda de la amida) (García-Vargas, 1981).

- *Solubilidad de la 2-Acetilpiridina Benzoilhidrazona en diferentes disolventes*

En la Tabla III.5 se ha recogido la solubilidad de la 2-APBH en distintos disolventes, con objeto de disponer de esta información para su utilización en los sistemas de membranas líquidas.

Tabla III.5. Valores de solubilidad de 2-APBH en distintos disolventes

Disolvente	Solubilidad (g.L ⁻¹)
Agua	0,9 ^a
Metanol	37,7 ^a
Etanol	17,6 ^b
Alcohol Isoamílico	5,6 ^b
Metil Isobutil Cetona	9,9 ^a
Éter Etilico	1,5 ^a
Acetona	40,5 ^b
Tetracloruro de Carbono	2,9 ^a
Benceno	6,0 ^a
Tolueno	15 ^b
Cloroformo	>50 ^a
N,N-dimetilformamida	>50 ^b

a- solubilidades medidas a 20 °C

b- solubilidades medidas a 25 °C

- Espectro ultravioleta en agua y cloroformo

El espectro de una disolución del reactivo 2-APBH, de concentración $8,35 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹, presenta un máximo de absorción sobre 300 nm en agua y 295 nm en cloroformo, siendo las absorptividades molares del reactivo de $2,32 \cdot 10^4$ L.mol⁻¹.cm⁻¹ y $1,84 \cdot 10^4$ L.mol⁻¹.cm⁻¹, respectivamente.

No obstante, se ha observado que el efecto de un cambio de pH en el espectro de una disolución acuosa del reactivo muestra desplazamiento batocrómico a valores de pH menores que 4 o mayores que 10. La 2-APBH muestra a pH 1-3 dos máximos de absorción a 265 y 320 nm (el último de mayor absorptividad molar) y un punto

isobéptico a 308 nm. A pH > 12 muestra máxima absorción a 285-315 nm y también un punto isobéptico a 315 nm.

- Estabilidad de las disoluciones del reactivo. Efecto de sustancias redox

Una disolución de reactivo en etanol o cloroformo, es estable durante varios días. Pero en disoluciones diluidas se puede producir su hidrólisis, descomponiéndose en 2-acetilpiridina y benzoilhidrazina. La velocidad de hidrólisis del ligando aumenta conforme el valor de pH disminuye, pero en tampón acetato o amoníaco disminuye cuando la relación etanol/agua es aumentada. La 2-APBH presenta una ligera mayor inestabilidad que otros compuestos de la familia de las aroilhidrazonas. Para evitar la hidrólisis, la 2-APBH es añadida en exceso a la disolución del ión metálico cuando se usa como reactivo.

La presencia de determinados agentes reductores (como sulfito de sodio, hidroxilamina o ácido ascórbico) u oxidantes (como agua oxigenada o persulfato de potasio) a ciertas concentraciones, influyen en el espectro de absorción del reactivo en tampón acetato, pero no lo hacen en tampón cloroacetato. Esto se debe probablemente a que el reactivo se hidroliza más rápidamente que se oxida/reduce. El espectro de absorción del reactivo en tampón amoníaco se ve también afectado por la presencia de hidroxilamina, ácido ascórbico o agua oxigenada, pero otras especies como sulfito o persulfato no tienen un efecto perceptible. No obstante, los agentes reductores a bajas concentraciones, menos del 0,4 %, no tienen efecto perceptible.

- Reactividad de la 2-APBH con iones metálicos.

En esta Tesis Doctoral, se pensó en este reactivo dada sus características quelatantes con diversos metales pesados. Así, el reactivo forma quelatos coloreados con algunos iones metálicos en tampón ftalato, acetato y amoníaco, lo que permite su determinación espectrofotométrica. Entre estos iones metálicos se encuentran Pb(II), Mn(II), Ga(III), Zn(II), Ti(IV), Hg(II), Ni(II), Bi(III), V(V), Fe(II), Fe(III), Pd(II), Cu(II) y Co(II) (García-Vargas, 1981). También forma complejos

incolores con otros metales, como ocurre en el caso del Cd^{2+} (Patole, 2003; Zidan, 2003).

Las bandas de máxima absorción de los complejos coloreados aparecen entre 353 y 405 nm, excepto para hierro (II) que aparece a 648 nm. Pero la absorción del complejo puede variar en función del pH. Por ejemplo, en el caso de los complejos con Hg(II), Pb(II), Mn(II), Zn(II) y Co (II), cuando el pH aumenta, la absorción máxima sufre un desplazamiento batocrómico de 6 a 32 nm, mientras que para los complejos de Ga(III), Bi(III), V(V) y Cu(II) se produce un desplazamiento batocrómico de 10 a 24 nm. Este hecho puede explicarse por la existencia de formas catiónicas o aniónicas del reactivo a bajos o altos valores de pH, respectivamente, en las cuales el color es intensificado por coordinación. En un medio alcalino, la extensión del sistema π de la molécula produce un color de reactivo aún más intenso.

En el caso del sistema formado por Fe(II) y 2-APBH se forman dos complejos según el pH, uno amarillo a pH ácido ($\lambda_{\text{max}} = 354$ o 372 nm) y el otro verde a pH básico ($\lambda_{\text{max}} = 648$ nm). El Fe(III) y al 2-APBH forman rápidamente un complejo color amarillo en tampón ftalato o acetato, que se vuelve verde en tampón amoniacal. Este hecho puede explicarse por la reducción del hierro (III) por el reactivo.

Un aspecto importante a tener en cuenta en la formación de complejos con 2-APBH en disolución acuoetanolica es que se necesita la presencia de al menos un 40 % (v/v) de etanol en el medio de reacción para prevenir la precipitación del exceso de reactivo y de sus complejos. Este aspecto será interesante, pues presupone una solubilidad mayor en disolventes orgánicos inmiscibles con el agua, objeto que perseguimos en su aplicación al desarrollo de una membrana líquida.

El desarrollo del color del complejo depende del pH del medio en el que éste se encuentra. El rango óptimo de pH para la formación del quelato depende del metal, lo que permite aplicaciones analíticas selectivas.

Por ejemplo, los iones Hg(II), Pb(II), Mn(II), Zn(II), Co(II), Ni(II) y Bi(III) presentan el rango de pH óptimo en medio neutro o alcalino, mientras que para los iones Ga(III), V(V) y Cu(II) se localiza en medio ácido. El hecho de que los complejos metálicos, cuyo pH óptimo se encuentra en medio neutro o alcalino, se destruyan parcial o totalmente por la adición de ácido, puede permitir su aplicación en los procesos de extracción-reextracción en continuo en la membrana líquida.

Por último, es interesante apuntar que aunque el reactivo se hidroliza parcialmente en medio acuoso, sin embargo la mayoría de los complejos metálicos son estables al menos durante varias horas. Será por tanto importante establecer la estabilidad del quelato que se utilice en la membrana para conocer el intervalo de tiempo de aplicación en la misma.

La estequiometría de los complejos metálicos en el rango de pH óptimo puede estudiarse con el método de las variaciones continuas (García-Vargas, 1981). La relación metal:ligando para el metal objeto de esta Tesis, el níquel es de 1:3. El reactivo actúa como un ligando tridentado y se producen anillos de cinco miembros.

Las constantes de estabilidad aparentes de los complejos ML, ML₂ y ML₃ (donde M = metal y L = ligando) son del orden de 10⁴-10⁵, 10⁶-10⁸ y 10¹⁶-10¹⁷, respectivamente. El sistema formado por el metal y el reactivo está moderadamente disociado en disolución acuotánolica (García-Vargas, 1981), por lo que para nuestros estudios, se utilizará en exceso en relación al metal para favorecer la formación del quelato en su funcionamiento como transportador en la membrana líquida.

Los complejos pueden extraerse, en otros disolventes orgánicos, como en cloroformo o tolueno. El estudio de la extracción de los quelatos es interesante porque:

- La absorción máxima se puede desplazar hacia una región espectral donde la absorción del reactivo se vuelva más baja.
- Las absortividades molares suelen ser más altas.

- El reactivo suele ser más estable en disolventes orgánicos.

Estas aplicaciones basadas en su reaccionabilidad vislumbran su posible aplicabilidad en el desarrollo de nuevos sistemas de membranas líquidas. Así, Ishikawa y colaboradores han propuesto el uso de diferentes politiamonoazaalcano hidrazonas para la extracción de iones Ag^+ procedentes de soldaduras de plata mediante un sistema de membrana líquida de volumen (Ishikawa, 1997, 1999). Sin embargo, a pesar de sus enormes posibilidades, se han encontrado en la bibliografía muy pocos estudios conducentes a la aplicación analítica de estos compuestos. De aquí que en este trabajo se propone el empleo de la 2-acetilpiridina benzoilhidrazona como agente transportador de metales pesados en un sistema de membrana líquida de volumen y su aplicación en aguas naturales, disolviendo este reactivo en tolueno. Por ello, se estudió más concretamente la solubilidad y estabilidad de la 2-APBH en tolueno.

- Solubilidad de la 2-APBH en tolueno

En este estudio se pretendía comprobar si la 2-APBH era lo suficientemente soluble en tolueno como para que su concentración le permitiera actuar como agente transportador en la membrana líquida. Se consideró como concentración adecuada de agente transportador la presencia de un exceso considerable de ligando frente a las concentraciones usuales de níquel en aguas naturales.

De los resultados de este estudio se observó que este reactivo era bastante soluble en tolueno, permitiendo disolver hasta 15 g.L^{-1} (ver Tabla III.5.), lo que proporcionaba concentraciones suficientes de reactivo para el transporte del metal.

- Estabilidad de la 2-APBH en tolueno

De igual forma, la realización de experimentos cinéticos con la membrana líquida requería de la estabilidad de la 2-APBH en tolueno. Por ello, este parámetro fue estudiado espectralmente. El registro del

espectro de absorción UV-Visible de la 2-APBH en tolueno frente a tolueno como disolución de referencia presentó un máximo de absorción a 305 nm, valor al cual se realizó el estudio de la variación de la absorbancia con el tiempo.

De los resultados de este estudio (Figura III.6), se pudo observar que la disolución de 2-APBH en tolueno era estable al menos 15 horas después de su preparación; transcurridas las 15 primeras horas, la absorbancia de la disolución a 305 nm comenzaba a decrecer lentamente. Por ello, se concluyó la necesidad de preparar las disoluciones del reactivo diariamente y utilizarlas dentro de las 15 horas posteriores a su preparación. Además, para asegurar la presencia de reactivo para el proceso de transporte, en todos los casos se decidió utilizar un exceso considerable del mismo en comparación con la concentración de metal de la fase cargada.

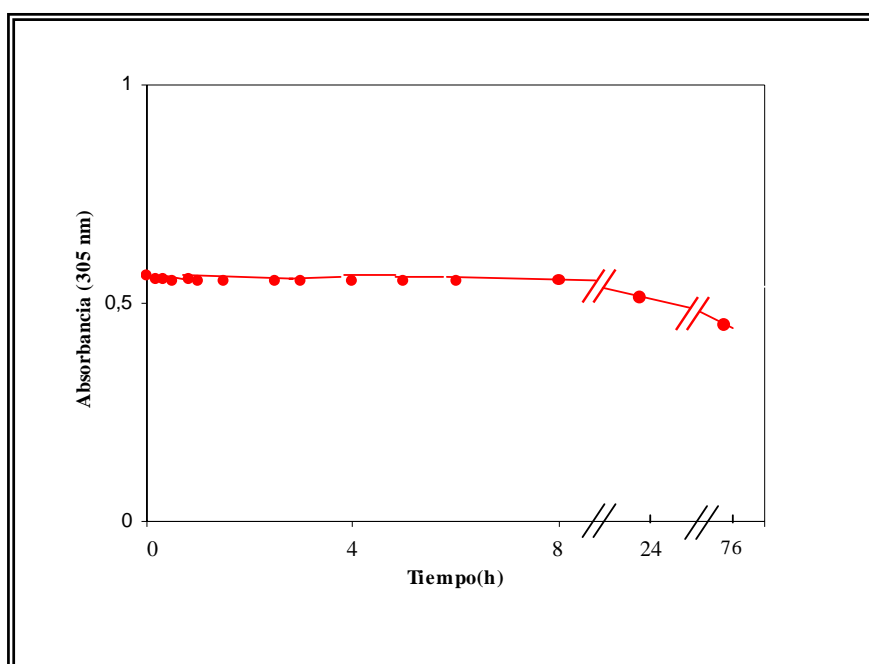


Figura III.6. Estabilidad espectral de la disolución de 2-APBH (0,0085% p/V) en tolueno

III.2.4. Características de la fase cargada y la fase receptora

El estudio del pH adecuado de la **fase cargada** para el transporte efectivo de Ni con 2-APBH se realizó empleando una reguladora de pH que barriera un intervalo de pH amplio, como es el caso de las disoluciones Britton-Robinson (con capacidad de regular en un rango de pH por debajo de 12). Estas disoluciones reguladoras de diferentes pH, fueron preparadas según el procedimiento descrito por Mongay (Mongay, 1977) usando ácido o-bórico, ácido o-fosfórico, ácido acético e hidróxido sódico (Merck, Alemania). En todas las disoluciones reguladoras se mantuvo una fuerza iónica constante de $1,5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, por adición de KCl (Merck, Alemania).

Como paso previo, se realizó un estudio de la cantidad de reguladora que era necesaria para obtener un determinado valor de pH en la fase acuosa cargada (V_1). Basándose en estos resultados, se preparó la fase cargada (V_1) añadiendo 50 mL de disolución reguladora Britton-Robinson de fuerza iónica 1,5 M a un volumen de fase cargada de 350 mL al pH deseado. De esta disolución, se utilizarán 288 mL para completar el vaso cilíndrico externo de la celda de membrana, teniendo por tanto una concentración final de reguladora de $0,214 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ en la fase cargada.

Además, con objeto de minimizar la contaminación producida por la adición al sistema de membrana de la disolución reguladora, ésta fue preparada tomando en todo momento las precauciones necesarias para evitar su contaminación tanto en el material de laboratorio como en su manipulación y conservación. Todas las disoluciones fueron preparadas utilizando agua desionizada ($18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}^{-1}$) obtenida en un sistema Milli-Q de purificación de agua de calidad reactivo analítico (MQ).

Los resultados previos mostraron que el transporte del metal se producía mejor en condiciones ligeramente ácidas.

Para los estudios de muestras reales, una vez definido el pH óptimo al cual se debe realizar el transporte, se comprobó que se podía utilizar

tanto disolución reguladora Britton-Robinson como HCl Suprapur (Merck, Alemania) diluido con agua desionizada Milli-Q. Este último sistema, reducía considerablemente los niveles de contaminación del blanco, siendo la preparación de las muestras más rápida.

Dado que la fase cargada contendrá la muestra y el objetivo del método es la determinación de la concentración de níquel, en los estudios de desarrollo de la metodología y de optimización, se adicionó a esta fase concentraciones variables de este metal a partir de disoluciones patrón de concentraciones conocidas.

Las disoluciones patrón de níquel utilizadas para ello, fueron preparadas en campana de flujo laminar por dilución de disoluciones patrón de $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ CertiPUR (Merck, Alemania) con agua desionizada obtenida en un sistema Milli-Q (Millipore) de purificación de agua de calidad reactivo analítico. Estas disoluciones se prepararon en medio ácido, añadiendo HNO_3 Suprapur (Merck, Alemania) hasta una concentración final de $0,05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Además, con objeto de evitar contaminación debida al vidrio se emplearon matraces aforados de plástico TPX. Las disoluciones de concentración inferior a $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ fueron preparadas diariamente.

La **fase receptora** de la membrana líquida contenía 16 mL de disolución de HNO_3 Suprapur (Merck, Alemania) de concentración variable, según los experimentos, preparada en agua desionizada Milli-Q, y utilizada como agente reextractante del ión metálico, al destruir el complejo por exceso de acidez.

III.2.5. Procedimiento de preconcentración de níquel mediante membrana líquida

El sistema de la membrana líquida de volumen propuesto inicialmente para estudiar la preconcentración de Ni y realizar su optimización consistió en:

- **Contenido de la fase cargada (V_1):** Se prepararon 288 mL de una disolución acuosa con una concentración de Ni del orden de los $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y disolución reguladora Britton-Robinson ($0,214 \text{ mol/L}^{-1}$) en cantidad suficiente para acondicionar la disolución al pH adecuado de extracción del complejo Ni(II)-2APBH.
- **Disolución acuosa receptora (V_2):** 16 mL de disolución de HNO_3 de concentración variable en función del ensayo realizado.
- **Membrana líquida (disolución orgánica, V_0):** Esta disolución está compuesta por cantidades variables de 2-APBH disuelto en tolueno. El volumen de esta disolución debía ser mayor de 69 mL, que fue el volumen mínimo estudiado como necesario para que exista contacto de la membrana líquida con las dos disoluciones acuosas, en función de la celda de vidrio empleada.

Todo ello se dispuso en la celda de membrana líquida descrita anteriormente.

Los parámetros físicos que se utilizaron en los estudios de optimización de la metodología fueron establecidos a partir de estudios previos, y fueron los siguientes:

- **Velocidad de agitación:** Para facilitar el contacto entre las fases acuosas y la membrana líquida de volumen se utilizó agitación magnética, introduciendo pequeños imanes en ambas fases acuosas. Se estudió la influencia de la velocidad de agitación aplicada sobre las fases acuosas, variándola entre 300 y 1200 r.p.m. Se observó que un aumento en la velocidad de agitación provocaba una respuesta lineal en el aumento del transporte del metal, debido probablemente a que el uso de una velocidad de agitación mayor favorecía el contacto entre las fases cargada y orgánica y de ésta con la fase receptora, lo que aumentaba la velocidad de transporte. Por ello, se decidió seleccionar un valor máximo para este sistema de 900 rpm, pues valores más elevados de agitación podían llegar a romper las barreras entre las

fases y producir la mezcla de las dos fases acuosas, lo que implicaría la rotura de la membrana líquida. Valores más pequeños daban lugar a una cinética muy lenta de preconcentración.

- **Temperatura para la optimización del sistema:** En cualquier sistema en el que se produce un equilibrio de distribución de una especie entre dos fases, existe una influencia de la temperatura en el proceso, y es por ello que se realizó un estudio previo de este parámetro.

El estudio de la influencia de la temperatura se centró en un intervalo de valores usuales de trabajo en el laboratorio (25-35 °C), con objeto de observar si existían variaciones de los resultados debido a los posibles cambios de la temperatura ambiente del laboratorio. Para controlar la temperatura se empleó un baño termostático (TECTRON-100, 3473100, Selecta, España), dentro del cual se introducía la celda de membrana líquida de volumen.

Los resultados mostraron como el transporte a través de la membrana mejoraba con la temperatura. No obstante, a 35°C se observó un descenso muy brusco de la permeabilidad de la membrana. Así, y según la teoría cinética, las moléculas se mueven más rápido al aumentar la temperatura y por lo tanto la difusión de iones a través de la membrana puede aumentar. Sin embargo, la disminución de la permeabilidad a 35°C pudo estar ocasionada por la hidrólisis de la 2-APBH a esa temperatura disminuyendo su capacidad como agente transportador. Por todo ello, a partir de ese momento se decidió controlar la temperatura del sistema de preconcentración a 30°C con el baño termostático.

Por último, destacar que una vez realizados los experimentos de preconcentración en la celda de membrana líquida, **la determinación del contenido de Ni** en la fase receptora ácida se realizó por Espectrometría de Absorción Atómica con Llama o con Horno de Grafito, según las concentraciones de metal esperadas en esta fase. El equipo utilizado fue un espectroscopio de la marca Thermo Elemental, modelo SOLAAR M Series, Unicam (Reino Unido). Igualmente, se utilizó

un espectrómetro de análisis simultáneo de Emisión Atómica con Plasma Acoplado Inductivamente de la marca Thermo Elemental, modelo Iris Intrepid con detector de estado sólido del tipo CID (Charge Injection Device) Unicam (Reino Unido).

III.2.6. Optimización de la metodología propuesta para la preconcentración de níquel

Para establecer un método analítico se requiere encontrar las condiciones químicas, instrumentales o de otra índole adecuadas para el análisis. Así, la finalidad de cualquier optimización es descubrir las condiciones que producen mejor respuesta (Montgomery, 2001). Esto históricamente se ha llevado a cabo controlando la influencia en la respuesta experimental de un factor cada vez o *método univariante*. Se trata de identificar el valor (o valores) de una variable al cual una determinada respuesta alcanza el máximo o mínimo para, posteriormente, realizar el mismo proceso sobre la siguiente variable, manteniendo la primera de ellas en su zona óptima, y así sucesivamente con todas las variables que se desean estudiar. Aunque se trata de un método simple, el sistema de optimización de un factor tiene sus desventajas, entre ellas el tiempo que implica y el riesgo de mal interpretar los resultados si existen interacciones importantes entre las variables, pudiéndose obtener errores sobre las condiciones óptimas de trabajo.

Por tanto, se han desarrollado otros *métodos de optimización multivariantes* de los que los más relevantes en optimización analítica son los diseños *simultáneos* y *secuenciales* (Araujo, 1996).

En la optimización de esta metodología, y tras los estudios previos, se decidió aplicar el método secuencial *SIMPLEX*, cuyo fundamento se describe a continuación.

III.2.6.1. Diseños multivariantes secuenciales: El método SIMPLEX

Los diseños de optimización secuenciales se usan cuando el analista tiene conocimientos limitados sobre la localización de la región óptima en la que se encuentra su sistema (Bayne, 1986).

Existen distintos tipos de diseño secuencial, siendo el más utilizado el *diseño Simplex* y sus versiones modificadas.

El *Simplex* implica la identificación de los valores de las variables que dan lugar al óptimo de la respuesta deseada. Esto se alcanza por medio de una sucesión de ensayos en los que los valores de las variables se encuentran condicionados por los resultados del ensayo inmediatamente anterior.

Desde la introducción del diseño *Simplex* en 1962 por Spendley y col., éste ha sido aplicado a muchos problemas químicos. La técnica se basa en la figura geométrica más simple posible, que es una línea en una dimensión, un triángulo en dos dimensiones, un tetraedro en tres dimensiones y una figura de $K + 1$ vértices en K dimensiones (Bayne, 1986). Así pues, el *Simplex* se visualiza como una figura geométrica definida por un número de puntos una unidad superior al número de variables a optimizar.

Una optimización *Simplex* de un sistema que depende de K factores comienza con un diseño *Simplex* inicial de $K + 1$ experimentos. Para crear los vértices iniciales es necesario elegir unos valores de variables de partida y un ancho de paso para cada una de las variables, teniendo en cuenta estos valores elegidos se crea un *Simplex* inicial.

Para moverse hacia el óptimo de la forma más rápida y eficaz posible se siguen una serie de reglas:

1. Se produce un nuevo *Simplex* rechazando el peor o el mejor valor experimental, dependiendo de si se quiere maximizar o minimizar la respuesta, y sustituyendo éste por uno nuevo simétrico con respecto al centro de gravedad del *Simplex*. Para calcular los valores de las variables del nuevo vértice se

multiplica la media de los valores de los vértices que se mantienen por dos y al resultado se le resta el valor descartado. La aplicación gráfica de esta regla se muestra en la Figura III.7.

Cuando el nuevo punto tiene el peor valor del nuevo *Simplex*, no se puede aplicar de nuevo la regla 1, ya que una nueva reflexión daría de nuevo el *Simplex* anterior, produciéndose una oscilación entre los dos *Simplex*. En este caso se aplica la regla número 2.

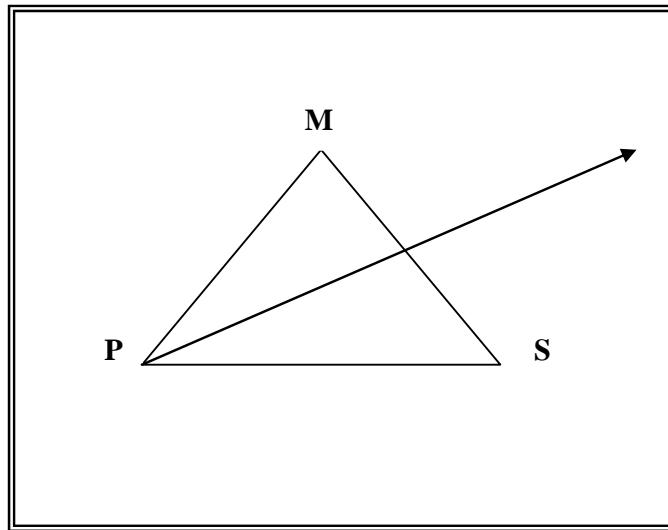


Figura III.7. Reflexión del Simplex (dos factores) en dirección opuesta al peor valor, siendo P la peor respuesta, M la mejor y S la segunda peor respuesta.

2. Siempre que el nuevo vértice produzca una respuesta peor, el *Simplex* avanza eliminando el segundo vértice con peor respuesta y obteniendo el nuevo *Simplex* mediante la imagen especular ya explicada. El resultado es obtener un cambio de

dirección en la progresión hacia el óptimo, lo que suele suceder en la zona próxima al mismo. La representación gráfica se muestra en la Figura III.8.

Si el punto obtenido está próximo al óptimo, los sucesivos *Simplex* girarán en torno al óptimo.

Este método permite también sustituir viejos vértices. Si un vértice se mantiene durante $K + 1$ *Simplex* sin ser eliminado, se puede sustituir

1. Haciendo una repetición del mismo antes de continuar con la optimización. Esta regla evita que el sistema de los *Simplex* se ancle en resultados falsos.

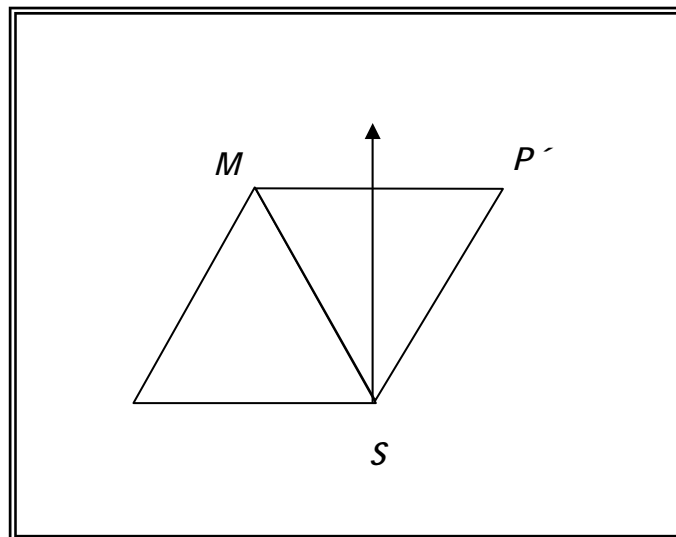


Figura III.8. Cambio de dirección mediante el rechazo del segundo peor punto, siendo P' la peor respuesta, M la mejor y S la segunda peor respuesta, para un Simplex de dos factores.

Estas reglas se aplican en un método *Simplex* básico, pero el método *Simplex* presenta diversas variantes, las cuales aceleran la aproximación hacia el óptimo. En este trabajo de investigación se ha utilizado el método del *Simplex Modificado* (MSM) introducido por Nelder y Mead en 1965. Este método permite realizar, además de reflexiones, expansiones, contracciones y traslaciones del *Simplex*. En las Figuras III.9. y III.10. se muestran los posibles movimientos a realizar. Se rige por las mismas reglas que el *Simplex* básico, pero tiene reglas adicionales para saber qué operaciones usar (Bayne, 1986).

Los valores del primer vértice reflejado se construyen añadiendo al centroide (D) la distancia desde el peor valor (P) a dicho centroide. Este movimiento puede observarse en la Figura III.9. Este método de reflexión es equivalente a la regla 1 del método básico antes mencionada.

$$R = D + (D - P)$$

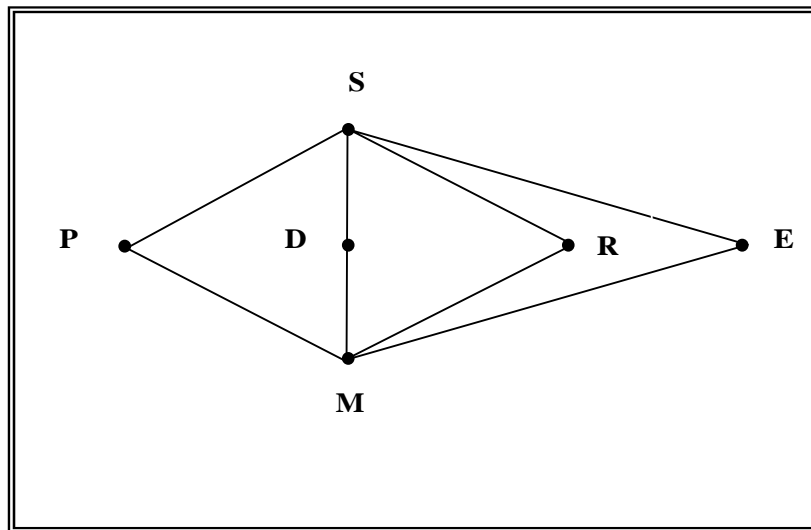


Figura III.9. Reflexión (R) y expansión (E) del Simplex modificado, siendo P la peor respuesta, M la mejor, S la segunda mejor y D el centroide.

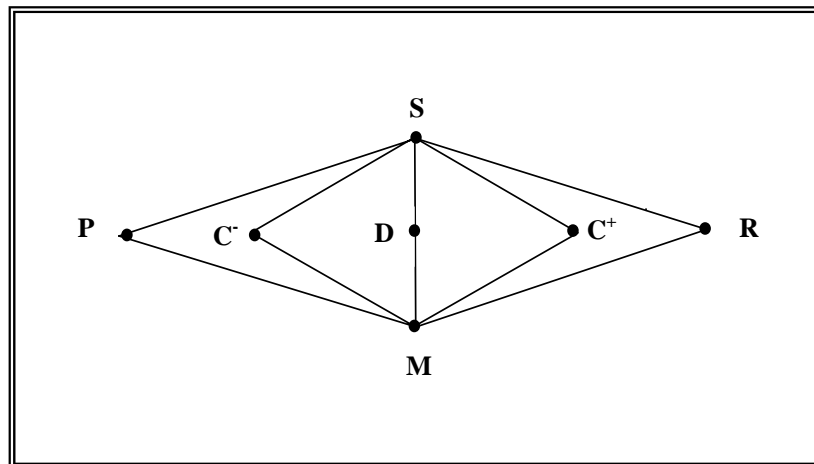


Figura III.10. Contracción positiva (C⁺) o negativa (C⁻) en la optimización del Simplex modificado, siendo P la peor respuesta, M la mejor, S la segunda peor, R la reflexión y D el centroide.

Los diferentes movimientos del *Simplex* modificado se determinan por comparación del nuevo valor de R con el mejor valor (M). Existen varias posibilidades:

1. Si $R > M$, el *Simplex* sufrirá una expansión (Figura III.9.). El nuevo vértice (E) se calcula teniendo en cuenta la expresión:

$$E = D + a (D - P) \quad a > 1$$

El valor de “a” suele ser 2, pero puede ser modificado dependiendo de la situación.

2. Si $E > M$ el nuevo *Simplex* será MSE, de otro modo será MSR y el nuevo vértice será calculado aplicando otro algoritmo.
3. Si $S < R < M$, siendo S el segundo peor valor, el nuevo *Simplex* será el compuesto por MSR (Figura III.9).
4. Si $R < S$, el nuevo *Simplex* sufre una contracción, existiendo dos posibles situaciones: que se produzca una contracción negativa (C⁻) o que se produzca una contracción positiva (C⁺).

En ambos casos debe restarse o sumarse al centroide la distancia (D-P), respectivamente. Estos movimientos pueden apreciarse en la Figura III.10.

- I. Si $R > P$, se produce contracción positiva y el nuevo *Simplex* será MSC^+

$$C^+ = D + b(D - P) \quad 0 < b < 1$$

normalmente b vale 0,5.

- II. Si $R < P$, el nuevo *Simplex* es MSC^-

$$C^- = D - b(D - P) \quad 0 < b < 1$$

normalmente b vale 0,5.

El método *Simplex* modificado se podrá detener teniendo en cuenta una de las tres condiciones que se detallan a continuación:

- 1) Que el número de experimentos sea excesivo.
- 2) Que la distancia entre los vértices sea demasiado pequeña.
- 3) Que la varianza de respuesta sea demasiado pequeña.

III.2.6.2. Variables de estudio en el SIMPLEX aplicado

En el diseño del *Simplex* seguido en este trabajo de investigación se analizaron cuatro **variables independientes** con objeto de realizar su optimización: el pH de la disolución cargada (V_1), la concentración de 2-APBH ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) en la fase orgánica, la concentración de HNO_3 ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) en la fase receptora (V_2) y el volumen de fase orgánica V_o (mL). En todos los experimentos realizados en el proceso de optimización, y para seguir el estudio cinético del proceso de transporte se utilizó una concentración de Ni en la fase cargada de $0,4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, con objeto de apreciar desde los primeros instantes la velocidad del proceso con cantidades significativas de metal.

A partir de los estudios previos, descritos anteriormente, se establecieron las condiciones de partida del *Simplex*, el cual requiere

dar un valor central inicial, un ancho de paso y el número de cifras decimales significativas de cada parámetro de estudio.

Para todo ello, se utilizó el programa de software *MultiSimplex*, versión 2.0. En este programa se introdujeron los valores iniciales para el estudio, los cuales se han detallado en la Tabla III.6.

Tabla III.6. Condiciones iniciales del Simplex

Variable	Valor central	Ancho de paso	Decimales
Volumen de disolución orgánica (V_o) (mL)	100	50	0
[2-APBH] ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) en la disolución orgánica	0,005	0,003	3
pH disolución cargada (V_1)	5	2	1
[HNO_3] ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) en la disolución receptora (V_2)	0,3	0,2	2

La **variable de respuesta** elegida fue el coeficiente de permeabilidad **P**, obtenido en cada uno de los experimentos, que representa la eficacia en el transporte del metal desde la fase cargada hacia la fase receptora. Por tanto, nuestro objetivo fue la maximización de este valor, definiéndolo en el programa como una variable con influencia alta. A continuación se define como se calcula este parámetro.

III.2.6.3. Evaluación de la eficacia del proceso de transporte en el sistema de membrana líquida empleado

Para evaluar la eficacia de un proceso de transferencia de especies químicas a través de una membrana líquida es necesario cuantificar el transporte realizado, y para ello debe estimarse el flujo de materia, **J**, que tiene lugar a través de la membrana en un periodo de tiempo

determinado. El flujo de materia puede definirse como (Danesi, 1984-1985):

$$J = -\frac{d[M]_f}{dt} \cdot \frac{V_f}{Q} \quad [1]$$

donde $[M]_f$ representa la concentración del metal en la disolución cargada, V_f es el volumen de esta disolución y Q es el área efectiva de la membrana.

El flujo de materia se puede expresar también en función de parámetros relacionados con él, como es el caso del coeficiente de permeabilidad, P , que se define como el cociente entre el flujo y la concentración de la especie de interés en la disolución cargada:

$$P = \frac{J}{[M]_f} \quad [2]$$

Si se sustituye en esta expresión la ecuación dada por [1], se obtiene una nueva expresión para la permeabilidad:

$$P = -\frac{1}{[M]_f} \cdot \frac{d[M]_f}{dt} \cdot \frac{V_f}{Q} \quad [3]$$

Si se integra la última expresión, se obtiene:

$$-\ln[M]_f = \frac{Q}{V_f} \cdot P \cdot t - \ln[M]_{f,0} \quad [4]$$

en la que $[M]_f$ representa la concentración del metal en la disolución cargada en el tiempo t y $[M]_{f,0}$ corresponde a la concentración inicial del metal en dicha fase. A partir de la expresión [4] se llega a:

$$\ln \frac{[M]_{f,0}}{[M]_f} = \frac{Q}{V_f} \cdot P \cdot t \quad [5]$$

Si se representa la variación del $\ln [M]_{f,0}/[M]_f$ vs tiempo, se obtiene una relación lineal, cuya pendiente es:

$$\text{Pendiente} = \frac{Q}{V_f} \cdot P \quad [6]$$

De esta expresión puede obtenerse la permeabilidad para cada uno de los procesos de transporte. La permeabilidad se suele expresar en unidades de $\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$.

En el proceso de optimización en estudio y para la celda de membrana utilizada, el valor de Q era de $94,39 \text{ cm}^2$.

El valor de $[M]_f$ fue obtenido midiendo la concentración de metal en la fase receptora (fase ácida) a intervalos de tiempo consecutivos y calculando a partir de este valor, la disminución en la concentración en la fase cargada por diferencia del valor inicial y teniendo en cuenta el factor de preconcentración desde la fase cargada hacia la fase receptora (factor de preconcentración = 18).

La técnica de medida empleada en este estudio fue la Espectroscopía de Absorción Atómica con atomización con llama; para ello, se tomaron alícuotas de 2 mL de dicha fase, restableciéndose el volumen mediante la adición de otros 2 mL de disolución de HNO_3 de igual concentración y saturado en tolueno. Los cálculos de las

concentraciones reales se realizaron en base a las extracciones y correcciones de volumen realizadas en cada momento.

La representación gráfica de la ecuación [5] da como resultado una recta, a partir de cuya pendiente es posible obtener el valor del coeficiente de permeabilidad, P.

Cada experiencia, que permitía el cálculo del coeficiente de permeabilidad de la membrana, se realizó durante 300 minutos (5 horas), tiempo suficiente para comprobar que condiciones fisico-químicas eran las más adecuadas para el transporte de níquel a través de dicha membrana líquida.

III.2.6.4. Resultados del proceso de optimización

A partir de las condiciones iniciales del *Simplex*, definidas en la Tabla III.6, el software utilizado proporcionó las condiciones de los experimentos (definidos en el *Simplex* como vértices) de partida, las cuales se detallan en la Tabla III.7.

Tabla III.7. Simplex inicial proporcionado por el programa MultiSimplex 2.0.

Vértice	Vo	pH	[2-APBH]	[HNO ₃]
1	75	6	0,004	0,4
2	125	6	0,007	0,2
3	125	4	0,004	0,2
4	125	4	0,007	0,4
5	75	4	0,007	0,2

Como el diseño se realiza con 4 variables independientes, cada simplex del proceso estará conformado por 5 vértices. Con los valores de la variable de respuesta (permeabilidad de la membrana líquida) de cada uno de estos cinco vértices, se calculará la varianza de cada simplex.

El avance del *Simplex* se dirige hacia valores de permeabilidad mayores, dado que ese criterio ha sido introducido como característico de la variable de respuesta. Entre los diversos criterios que existen para detener el *Simplex*, en este estudio se ha utilizado el basado en la “comparación de las varianzas del método y de la variable respuesta (varianza del *Simplex*)”.

Con ambas varianzas se calcula el valor de la distribución F, el cual viene dado por el cociente entre la varianza del cada simplex y la varianza del método. Este valor calculado se compara con el valor tabulado para la misma distribución (Bayne, 1986).

La optimización se considera concluida cuando el valor calculado de la distribución F sea menor que el tabulado. El valor tabulado es función de los grados de libertad del sistema y de la probabilidad admitida.

El número total de experimentos que fue preciso realizar, antes de parar el *Simplex* y decidir cuales eran las condiciones óptimas, fueron 31, dando lugar a 20 simplex; en la Tabla III.8. se han recogido cada una de las condiciones de éstos experimentos, detallando los valores de las variables independientes y la variable de respuesta, así como el tipo de simplex (inicial, reflexión, expansión y contracción positiva o negativa).

En su avance, el *Simplex* puede requerir la repetición de algún experimento, los cuales figuran en la Tabla III.8. como vértice nR1, nR2, ..., siendo n el número del vértice que se repite una vez, dos, etc. Como puede observarse, el Simplex ha requerido de 4 repeticiones, de los experimentos 5, 13 y 16.

Tabla III.8. Resultados de la optimización Simplex.

Vértice	Vo	pH	[2-APBH]	[HNO ₃]	Permeabilidad · 10 ³	Tipo
1	75	6	0,004	0,4	19,3146	I
2	125	6	0,007	0,2	8,4502	I
3	125	4	0,004	0,2	17,3027	I
4	125	4	0,007	0,4	17,7051	I
5	75	4	0,007	0,2	23,3385	I
6	75	3	0,004	0,4	5,231	R
7	113	5,3	0,006	0,25	17,3027	C-
8	69	5,7	0,008	0,42	19,3146	R
9	59	4,5	0,007	0,46	Imposible	R
10	100	5,1	0,006	0,3	19,717	C-
11	35	6,4	0,006	0,26	Imposible	R
12	102	4,6	0,007	0,36	19,3146	C-
13	98	3,7	0,01	0,24	22,5337	R
14	69	4,7	0,009	0,22	21,729	R
15	102	3	0,008	0,06	16,0955	R
16	77	5	0,008	0,33	35,8126	C-
17	60	3,6	0,011	0,2	Imposible	R
5RE1	75	4	0,007	0,2	28,1672	I
18	90	4,7	0,007	0,27	16,4979	C-
19	101	4	0,007	0,3	14,8884	R
20	77	4,5	0,009	0,24	19,717	C-
21	74	3,9	0,01	0,23	22,5337	R
22	85	3,8	0,009	0,26	16,4979	R
23	79	4,3	0,009	0,24	18,5099	C-
24	91	4,6	0,007	0,28	19,3146	R
13RE1	98	3,7	0,01	0,24	15,6931	R
25	92	4,4	0,007	0,29	16,9003	R
26	70	5,3	0,004	0,31	24,1433	R
16RE1	77	5	0,008	0,33	20,9242	C-
27	55	6,1	0,002	0,35	Imposible	E
28	65	5	0,002	0,27	Imposible	R
5RE2 ^a	758	4	0,007	0,2	23,385	I
29	85	4,6	0,007	0,29	23,7409	C-
30	63	4,8	0,006	0,28	Imposible	R
31	84	4,7	0,007	0,28	23,3385	C-

Vo: volumen de fase orgánica (mL); **pH:** pH de la disolución cargada (V_1); **[2-APBH]:** concentración de 2-APBH ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$); **[HNO₃]:** concentración de ácido nítrico en la fase receptora (V_2) ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$); **Permeabilidad:** $\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$; **I:** Simplex inicial; **R:** reflexión; **E:** expansión; **C:** contracción negativa; **C*:** contracción positiva. **a:** Repetición del experimento 5RE1.

Para calcular la varianza del método se eligió al azar uno de los experimentos dados por el *Simplex* (dentro de los que producían un valor aceptable del coeficiente de permeabilidad), repitiéndose un total de cuatro veces, y de forma independiente al avance de la optimización. El experimento elegido fue el correspondiente al vértice 5, descrito en la Tabla III.8.

Los resultados del coeficiente de permeabilidad obtenidos para cada una de las repeticiones del experimento 5, aparecen recogidos en la Tabla III.9.

La varianza del método corresponde a la varianza de la función respuesta la cual puede calcularse mediante la siguiente expresión:

$$\sigma^2 = \frac{\sum (y - \bar{y})^2}{n-1} \quad [7]$$

Tabla III.9. Varianza del método de preconcentración de níquel a partir del experimento 5

Réplica	Permeabilidad · 10 ³ (cm · min ⁻¹)	Varianza
A	18,9122	1,2279 · 10 ⁻⁶
B	20,5218	
C	21,3266	
D	19,3146	

Como se ha indicado anteriormente, para determinar en cuál de los Simplex se encuentra el experimento que proporciona las condiciones óptimas, es necesario comparar la varianza del método con la varianza del Simplex. Por esta razón, se calculó la varianza de la función respuesta para cada simplex (formado por cinco experimentos) ofrecido por el programa. Los resultados obtenidos aparecen recogidos en la Tabla III.10.

Tabla III.10. Varianza de cada uno de los diferentes simplex realizados

Simplex	Experimentos que constituyen cada simplex	σ^2
1	1-2-3-4-5	$2,97437 \cdot 10^{-5}$
2	1-3-4-5-7	$6,58993 \cdot 10^{-6}$
3	1-4-5-7-8	$5,71475 \cdot 10^{-6}$
4	1-4-5-8-10	$4,25922 \cdot 10^{-6}$
5	1-5-8-10-12	$2,96506 \cdot 10^{-6}$
6	5-8-10-12-13	$3,48544 \cdot 10^{-6}$
7	5-8-10-13-14	$2,70993 \cdot 10^{-6}$
8	5-10-13-14-16	$4,09166 \cdot 10^{-5}$
9	10-13-14-16-5RE1	$4,2471 \cdot 10^{-5}$
10	13-14-16-5RE1-18	$5,39994 \cdot 10^{-5}$
11	13-16-5RE1-18-20	$5,80475 \cdot 10^{-5}$
12	13-16-5RE1-20-21	$4,10462 \cdot 10^{-5}$
13	13-16-5RE1-21-23	$4,49806 \cdot 10^{-5}$
14	16-5RE1-23-24-13RE1	$6,91873 \cdot 10^{-5}$
15	16-5RE1-24-13RE1-25	$7,37211 \cdot 10^{-5}$
16	5RE1-24-25-26-16RE1	$1,92358 \cdot 10^{-5}$
17	16-5RE1-24-13RE1-25	$7,3721 \cdot 10^{-5}$
18	24-25-26-16RE1-5RE2	$6,99483 \cdot 10^{-6}$
19	24-26-16RE1-5RE2-29	$4,36415 \cdot 10^{-6}$
20	26-16RE1-5RE2-29-31	$1,59281 \cdot 10^{-6}$

Una vez calculadas las varianzas de cada uno de los diferentes Simplex se procedió a calcular el valor de la distribución F, con objeto de determinar si entre las dos varianzas había diferencias significativas. Este parámetro se calcula mediante el cociente de la varianza del Simplex y la varianza del método (Räisänen, 1992). Los valores obtenidos aparecen en la Tabla III.11.

Teniendo en cuenta que la varianza del Simplex corresponde a la varianza en la función de respuesta de cinco experimentos, el número de grados de libertad que le corresponde es cuatro. De la misma manera, el número de grados de libertad correspondiente a la varianza del método es tres. Para estos grados de libertad y una probabilidad de 0,67, el valor F teórico tabulado (Bayne, 1986) en las condiciones de este estudio era de 1,77.

Observando los resultados de la Tabla III.11., se aprecia que el valor del F calculado se hace inferior al tabulado en el simplex 20. Por tanto, el criterio seleccionado indicaba que el diseño podía ser detenido y que las condiciones óptimas son válidas para cualquiera de las condiciones de los experimentos que conforman este simplex.

No obstante, para establecer las condiciones óptimas del método se decidió seleccionar, dentro del simplex 20, aquel experimento que presentó mayor función de respuesta, aunque todo el conjunto puede considerarse óptimo, con resultados sin diferencias significativas.

El Simplex 20 estaba constituido por los experimentos 26, 16RE1, 5RE2, 29, y 31. De estos experimentos, el que mayor coeficiente de permeabilidad, y por tanto mayor función de respuesta presentaba, era el experimento 26, con un valor de $24,1433 \times 10^{-3} \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$ (5 horas).

Así pues, las condiciones óptimas de preconcentración de iones níquel que se propusieron para el proceso de preconcentración y separación de níquel mediante el sistema de membrana líquida descrito fueron:

- pH de la fase acuosa cargada (V_1): valor de 5,3; regulado por medio de la disolución reguladora Britton-Robinson ($0,214 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ de reguladora en V_1), siendo el volumen de 288 mL.

Tabla III.11. Valores de la distribución F calculados.

Simplex	$\sigma^2_{\text{simplex}}$	$\sigma^2_{\text{método}}$	F calculado
1	$2,97437 \cdot 10^{-5}$	$1,2279 \cdot 10^{-6}$	24,22
2	$6,58993 \cdot 10^{-6}$		5,36
3	$1,09617 \cdot 10^{-5}$		4,65
4	$8,33871 \cdot 10^{-6}$		3,47
5	$6,26626 \cdot 10^{-6}$		2,41
6	$5,22996 \cdot 10^{-6}$		2,83
7	$3,28693 \cdot 10^{-6}$		2,20
8	$4,09166 \cdot 10^{-5}$		33,32
9	$4,2471 \cdot 10^{-5}$		34,58
10	$5,39994 \cdot 10^{-5}$		43,97
11	$5,80475 \cdot 10^{-5}$		47,27
12	$4,10462 \cdot 10^{-5}$		33,43
13	$4,49806 \cdot 10^{-5}$		36,63
14	$6,91873 \cdot 10^{-5}$		56,34
15	$7,37211 \cdot 10^{-5}$		60,03
16	$7,37211 \cdot 10^{-5}$		16,66
17	$1,92358 \cdot 10^{-5}$		60,03
18	$7,37211 \cdot 10^{-5}$		5,69
19	$5,06804 \cdot 10^{-6}$		3,55
20	$3,77266 \cdot 10^{-6}$		1,29

- Concentración de HNO_3 en la fase receptora (V_2): $0,31 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, siendo el volumen de 16 mL.
- Fase orgánica (V_o): 70 mL de disolución de tolueno que contiene 2-APBH con una concentración de $0,004 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ($0,956 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$).
- Velocidad de agitación de las fases acuosas: 900 r.p.m.
- Temperatura de 30°C controlada en baño termostático.

III.2.7. Recuperación de níquel en la membrana líquida diseñada

Una vez optimizadas todas las variables físico-químicas del proceso de preconcentración-separación del metal, se estudió la eficacia de este proceso para la preconcentración de $400 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de metal en muestras acuosas no salinas.

Para ello se hicieron experimentos, por duplicado, en los cuales se midió el porcentaje de transporte a través de la membrana desde la fase cargada hasta la fase receptora para los siguientes tiempos de extracción: 3, 5, 7 y 9 horas.

En estas pruebas se comprobó que un tiempo de extracción de 9 horas era suficiente para obtener un porcentaje de preconcentración muy adecuado, para el cual todo el metal fue transportado hacia la fase receptora. No obstante, y dado que el proceso es cinético, pueden realizarse experiencias con menor tiempo de preconcentración y aplicar el factor de corrección de la eficacia del proceso para el tiempo que se emplee. Igualmente, cantidades menores de níquel (niveles usuales en aguas naturales) probablemente requiriesen menor tiempo de transporte.

En la Figura III.11. se muestra esta variación del porcentaje de preconcentración en función del tiempo de extracción.

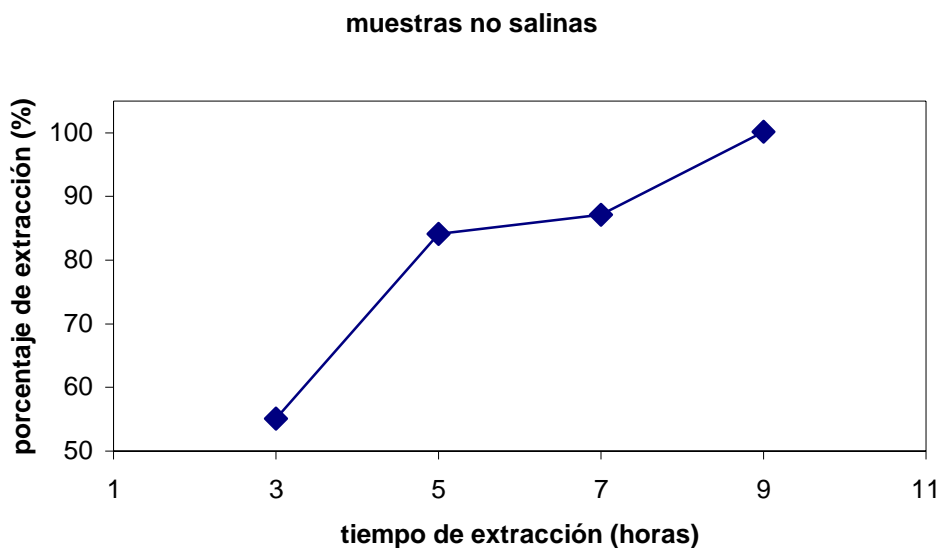


Figura III.11. Influencia del tiempo de extracción en la eficacia del proceso de preconcentración de Ni (Fase cargada: $400 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de Ni; pH 5,3. Fase receptora: $0,31 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HNO_3 . Membrana líquida: $0,004 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de 2-APBH en 70 mL de tolueno. Agitación: 900 rpm. Temperatura: $30 \text{ }^\circ\text{C}$).

III.2.8. Efecto de la salinidad de la fase cargada en la recuperación de níquel

Una vez establecidas las condiciones físico-químicas del método de preconcentración de Ni se estudió su aplicabilidad a muestras de agua con diferente salinidad. Para ello se prepararon muestras sintéticas a las cuales se les adicionó diferentes concentraciones de cloruro sódico.

Como paso previo, se realizó un estudio de la influencia de la presencia de NaCl en la capacidad reguladora de la disolución de Britton-Robinson empleada para controlar el pH deseado en la fase cargada.

En estas pruebas se constató que no era necesario emplear mayor concentración de disolución reguladora en presencia de NaCl, lográndose controlar el pH en la fase cargada (V_1) con una concentración de disolución reguladora equivalente a $0,214 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

Los valores de salinidad seleccionados para este estudio fueron cuatro: 0, 10, 20, 30 y $40 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de NaCl. No se estudiaron salinidades mayores debido a que las aguas naturales con mayor salinidad, es decir las aguas marinas, suelen tener una salinidad de $30\text{-}35 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Los experimentos se realizaron por duplicado. Para cada una de las condiciones se obtuvo el rendimiento de la preconcentración en función del tiempo. En la Figura III.12 se muestra el porcentaje de preconcentración medio ($n=2$) para los experimentos realizados en función del tiempo transcurrido.

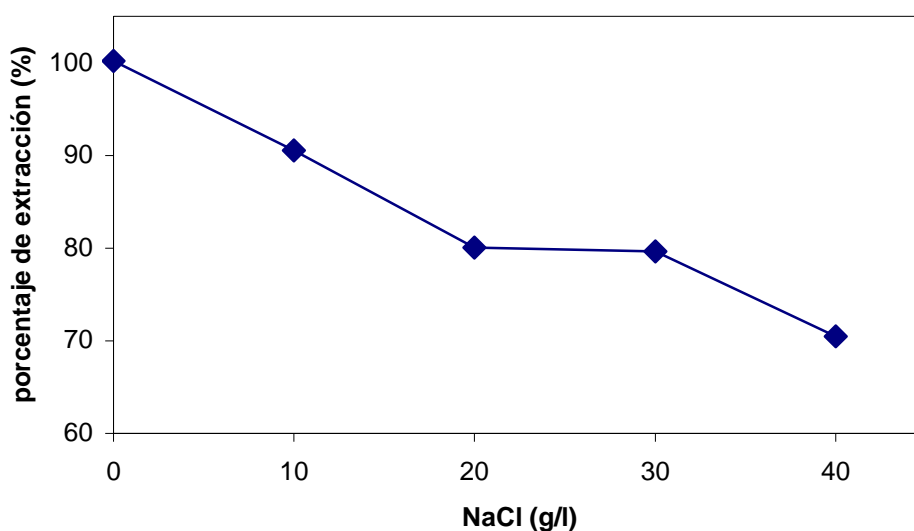


Figura III.12. Influencia de la salinidad de la fase cargada en el porcentaje de preconcentración de Ni (Fase cargada: $400 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de Ni; pH 5,3. Fase receptora: $0,31 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HNO_3 . Membrana líquida: $0,004 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de 2-APBH en 70 mL de tolueno. Agitación: 900 rpm. Temperatura: $30 \text{ }^\circ\text{C}$, Tiempo de extracción: 9 horas).

Debido a la disminución en el porcentaje de extracción obtenido al aumentar la salinidad hasta $40 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de NaCl, se procedió a estudiar el tiempo de extracción necesario para obtener el porcentaje de extracción máximo en las condiciones más extremas de salinidad.

Para ello se fue incrementando el tiempo de extracción, desde el tiempo establecido para disoluciones no salinas, es decir valores mayores de 9 horas, adicionando a la fase cargada la máxima concentración de NaCl estudiada, es decir, $40 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de sal. En la Figura III.13 se muestra el porcentaje de preconcentración obtenido en función del tiempo de extracción. Los experimentos fueron realizados por duplicado ($n=2$).

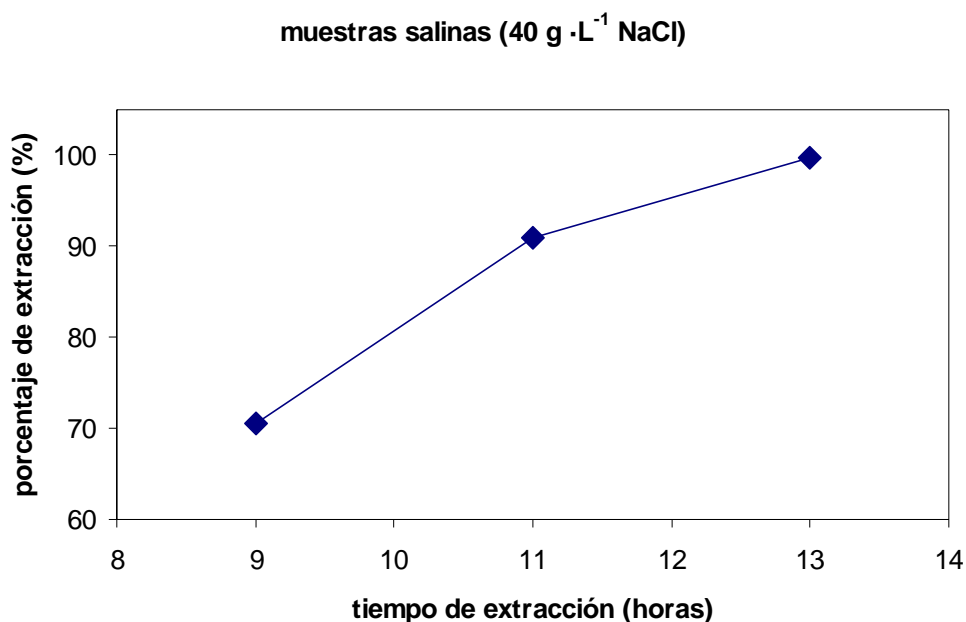


Figura III.13. Influencia del tiempo de extracción en función del porcentaje de extracción para una concentración de NaCl de $40 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en la fase cargada. (Fase cargada: $400 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de Ni; pH 5,3; $40 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de NaCl . Fase receptora: $0,31 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HNO_3 . Membrana líquida: $0,004 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de 2-APBH en 70 mL de tolueno. Agitación: 900 rpm. Temperatura: $30 \text{ }^\circ\text{C}$).

Del estudio presentado, y en función de las Figuras III.12 y III.13. se puede concluir que disoluciones acuosas con mayor salinidad requerirán mayor tiempo de preconcentración, para alcanzar el 100 % de recuperación.

Así, con el método desarrollado para el transporte de níquel, se requieren de 9 a 13 horas de tiempo de transporte a través de la membrana (estudio realizado para $400 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ de metal) para una variación de salinidad de 0 a $40 \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$.

III.2.9. Eficacia del transporte en la membrana líquida para diferentes concentraciones de metal (Ni)

Con objeto de estudiar si el transporte de níquel a través de la membrana líquida era igual de efectivo para diferentes cantidades de metal, se realizaron una serie de experimentos su concentración en la fase cargada (V_1) en un intervalo de 0,025 a $0,400 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$. En este caso, se utilizaron disoluciones cargadas acuosas no salinas, por lo que el tiempo de preconcentración fue de 9 horas. Estas experiencias se realizaron por duplicado, en las condiciones fisico-químicas optimizadas previamente. , correspondiendo a:

- pH de la fase acuosa cargada (V_1)= 5,3; obtenido por adición de disolución reguladora Britton-Robinson ($0,214 \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) con un volumen de 288 mL.
- Concentración de HNO_3 en la fase receptora (V_2): $0,31 \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, con un volumen de 16 mL.
- Membrana líquida (V_0): 70 mL de disolución de 2-APBH de concentración $0,004 \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ en tolueno.
- Velocidad de agitación de las fases acuosas: 900 r.p.m.
- Temperatura de 30°C controlada en baño termostático.
- Tiempo de agitación: 9 horas.

En la Tabla III.12. se recogen los resultados de la eficacia de la extracción obtenida para las diferentes concentraciones de níquel en la fase cargada.

De los resultados obtenidos se constató que la eficacia de la preconcentración era independiente de la cantidad inicial de Ni para el intervalo estudiado, obteniéndose en todos los casos valores de aproximadamente el 100 % de preconcentración transcurridas 9 horas desde el inicio del experimento (en estos experimentos se preparó la disolución acuosa de la fase cargada sin concentración de cloruro sódico).

Tabla III.12. Eficacia de la extracción en función de la concentración de Ni en la fase cargada para muestras no salinas (n=2)
(Tiempo de Preconcentración: 9 h)

CONCENTRACIÓN DE NÍQUEL EN LA FASE CARGADA (V₁) (mg·L⁻¹)	EFICACIA DE LA PRECONCENTRACIÓN (%)	RSD (%)
0,025	101,02	0,97
0,05	103,10	0,18
0,1	102,67	0,95
0,2	101,31	0,33
0,4	100,19	0,16

III.2.10. Reproducibilidad del método

El estudio de la reproducibilidad del método de preconcentración-separación propuesto se realizó para una concentración de níquel de $0,4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y salinidad de $40 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de NaCl, con objeto de conocer su aplicabilidad a muestras de elevada salinidad, las cuales pueden dificultar en mayor medida el transporte del metal. De esta forma, si en estas condiciones el método es reproducible, igualmente lo será si la fuerza iónica del medio disminuye en aguas menos salinas.

Se realizaron cinco replicados en las condiciones fisico-químicas óptimas descritas anteriormente y la eficacia de la preconcentración (%) se calculó para 13 horas de transporte, dado que la fuerza iónica correspondía a $40 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de NaCl.

En la Tabla III.13. se muestran los resultados obtenidos para estos experimentos.

La precisión del método fue calculada a partir de la siguiente expresión:

$$\text{Precisión (\%)} = \frac{s \cdot t}{\bar{X} \cdot (\sqrt{n})} \cdot 100 \quad [8]$$

donde t es el valor de la distribución t tabulado (Miller, 1993). Para este cálculo se aplicó un nivel de significación del 95 %, por lo que el valor de este parámetro para los 4 grados de libertad correspondientes era de 2,132, como aparece en la Tabla III.13.

La reproducibilidad obtenida en el proceso de transporte fue satisfactoria, confirmando las adecuadas características analíticas del método propuesto.

Tabla III.13. Estudio de reproducibilidad del sistema de preconcentración de Ni ($0,4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) en muestras salinas ($40 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de NaCl).
(Tiempo de Preconcentración: 9 h)

Parámetros	Resultados
Eficacia de la preconcentración (%)	105,14
	101,23
	99,2
	93,42
	99,7
Media	99,75
n-1 (grados de libertad)	4
t	2,132
n (nº de experimentos)	5
Intervalo de confianza	95 %
s	4,23
RSD (%)	4,23
Precisión (%)	4,04

III.2.11. Ruido químico del método: Límite de preconcentración

Un paso que se consideró importante a la hora de poner a punto el método de preconcentración que se estaba desarrollando, fue establecer la cantidad mínima de níquel que era posible determinar tras su preconcentración aplicando el método de membrana líquida desarrollado.

Durante el trabajo experimental se constató que los experimentos realizados en la membrana líquida sin adición de níquel en la fase cargada habían producido como resultado una fase receptora en la que se apreciaba cierta señal debida a la presencia de pequeñas cantidades de metal, lo que hizo pensar en la existencia de ruido químico durante el proceso de preconcentración. Por esta razón, a la hora de cuantificar

el límite de preconcentración se realizaron “blancos del método” partiendo de una fase cargada inicial que se limpió antes de ser colocada en la celda de membrana líquida.

Para la limpieza de la fase cargada se procedió a extraer cualquier cantidad de Ni que, procedente de los reactivos químicos empleados en su preparación, pudiera contener. La extracción se realizó en embudos de decantación que contenían el tampón y una disolución de 2-APBH en tolueno ($0,004 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, cantidad equivalente a la usada en el dispositivo de membrana líquida de volumen), haciendo que ambas disoluciones estuvieran en contacto el tiempo suficiente, y repitiendo el proceso de limpieza dos veces.

Los blancos se realizaron por cuadruplicado dentro de una campana de extracción, para evitar problemas de contaminación, empleando como fase cargada agua desionizada MQ regulada a pH 5,3 (Britton-Robinson $0,214 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ en V_1), que había sido limpiada previamente. El resto de las condiciones fisico-químicas fueron las óptimas para la metodología propuesta. Estos blancos, al tener la fase cargada muy poca fuerza iónica, fueron sometidos a un tiempo de preconcentración de 9 horas.

Transcurrido el tiempo de agitación máximo se determinó la concentración de níquel en la fase receptora empleando GFAAS, ya que el empleo de la llama como sistema de atomización no tenía suficiente sensibilidad. El valor medio de los blancos fue de $0,094 \pm 0,016 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

El límite de detección para la preconcentración se cuantificó a partir de estos resultados, el cual se calculó como tres veces la desviación estándar del blanco (3σ). De forma similar, se determinó el límite de cuantificación para la preconcentración definido como diez veces la desviación estándar del blanco (10σ).

Límite de detección (3σ) = $0,048 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de Ni (en la fase cargada)

Límite de cuantificación (10σ) = $0,16 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de Ni (en la fase cargada)

III.2.12. Procedimiento propuesto para la preconcentración

Concluido el estudio analítico del sistema seleccionado, se propuso el siguiente método de separación-preconcentración de níquel por medio de una nueva membrana líquida de volumen:

Se deposita en la celda de la membrana diseñada un volumen de muestra problema de 288 mL ajustada a pH = 5,3, constituyendo la fase cargada (V_1); como fase receptora (V_2) se usan 16 mL de una disolución de HNO_3 de concentración $0,31 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$; por último, sobre estas dos disoluciones se depositan 70 mL de 2-APBH de concentración $4\cdot 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ en tolueno. El sistema se agita mediante un agitador magnético a una velocidad de 900 r.p.m. durante un periodo de tiempo de 9 a 13 horas (según la salinidad de la muestra), controlando la temperatura con ayuda de un termostato a 30°C .

Las pérdidas de disolución orgánica por evaporación se deben evitar tapando la celda. Para ello, se puede colocar durante todo el proceso de reextracción una placa de vidrio sobre la celda de membrana líquida; esto también servirá como barrera frente a la contaminación exterior.

Los estudios de laboratorio realizados para la optimización del método de membrana líquida propuesto, se llevaron a cabo empleando una disolución reguladora Britton-Robinson para mantener el pH de la fase acuosa cargada; sin embargo, la aplicación de esta disolución en el caso de muestras de agua real puede provocar algún tipo de efecto en función de la matriz de que se trate. Por ello, se deberá tener en cuenta los posibles efectos y optar por realizar el control de pH con el sistema químico más adecuado en cada caso. Suele ser conveniente el empleo de NH_3 Suprapur (Merck, Alemania) si la muestra se acidificó para su conservación o en algún proceso de digestión de la materia orgánica, pues tiene muy bajos contenidos de trazas metálicas. En

caso de que la muestra necesitare una disminución en el pH se puede adicionar HCl Suprapur (Merck, Alemania).

Según el procedimiento descrito se parten de 288 mL de muestra que contiene la especie metálica, y se preconcentran en 16 mL de HNO₃, por lo que el factor de preconcentración de la muestra en dicho proceso es de 18. Para el cálculo de la concentración real de níquel presente en la muestra problema se deberá tener en cuenta ese valor de preconcentración, además de la posible dilución causada en la fase cargada en el caso de precisarse un ajuste de pH previo al proceso de preconcentración.

III.2.13. Validación de la metodología propuesta

El análisis de muestras tomadas en sistemas medioambientales, como es el caso de las aguas naturales (continentales o marinas), cuenta con la dificultad añadida de la variabilidad que presentan en su composición debido a factores de diversa naturaleza, entre los que se encuentran tanto los debidos a fenómenos naturales como a procesos antrópicos. De aquí que la exactitud de un método sea una propiedad primordial, ya que de otro modo no se tiene seguridad en la cuantificación del analito. Para ello, la simulación en el laboratorio de la composición química de los diferentes tipos de muestras acuosas procedentes de ecosistemas naturales no resulta una tarea sencilla. Dos aproximaciones corrientes, que al menos subsanan en parte este problema consisten en el análisis de materiales de referencia certificados y en la elaboración y análisis de muestras sintéticas. No obstante, el grado de adecuación y similitud de las muestras artificiales con las muestras naturales es, a veces, hasta cierto punto limitado.

La exactitud del método ha sido verificada determinando el contenido de Ni(II) total disuelto mediante el empleo de la membrana líquida que contiene 2-APBH en una muestra de referencia certificada para análisis de metales traza en aguas naturales (TMDA-62).

Las muestras se han analizado por triplicado empleando las condiciones experimentales. La muestra de agua de referencia fue irradiada, previamente a ser sometida a la preconcentración en el sistema de membrana líquida, en digestor de UV (Equipo Metrohm 705 UV Digester), tras la adición de unas gotas de H₂O₂ al 30% (Suprapur, Merck, Alemania), con objeto de destruir la materia orgánica que pudiera contener la muestra real. Posteriormente, fue ajustada al pH óptimo de transporte con NH₃ Suprapur (Merck, Alemania), ya que, para su conservación, estas muestras de referencia tienen un pH muy ácido, del orden 1,5-2.

Los resultados de la validación se han recogido en la Tabla III.14.

Tabla III.14. Validación de la metodología propuesta usando muestras de agua de referencia certificada TMDA-62 (n=3).

Muestra	Valor certificado (Ni, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Valor medido Membrana+FAAS (Ni, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
TMDA-62	97,8 \pm 8,77	97,21 \pm 0,95

Como se desprende de los resultados obtenidos tras la aplicación del método propuesto, se obtiene un valor de concentración de Níquel en la muestra de referencia certificada que se encuentra dentro del intervalo certificado, por lo que el método que se ha desarrollado ha sido satisfactoriamente validado.

III.2.14. Aplicación de la metodología de membrana líquida propuesta a muestras reales: determinación de Ni en muestras de agua del río Martín Pérez (Cuba)

Como aplicación del método de preconcentración de Ni propuesto se procedió a su aplicación sobre muestras de agua real, las cuales forman parte del estudio químico analítico aplicado de esta Tesis Doctoral y que quedará descrito en el siguiente capítulo. Así, se eligieron tres muestras diferentes de agua natural tomadas a lo largo del Río Martín Pérez. Igualmente se aplicó esta metodología a una muestra de agua de mar correspondiente a la ensenada de Guasabacoa en la Bahía de la Habana, lugar donde vierte sus aguas este Río. De esta forma, el método se aplicó a muestras con diferente salinidad (3 muestras con muy baja conductividad y una muestra con elevado valor de fuerza iónica).

La zona muestreada está bajo una fuerte influencia urbana, ya que a todo lo largo de la cuenca del Río Martín Pérez existen importantes asentamientos urbanos como son los Repartos Mañana, Monterrey, y La Corea, también recibe la influencia de otras zonas vecinas por ser sus aguas receptoras de las conductoras del alcantarillado. Esta influencia urbana se manifiesta fundamentalmente por vertidos de aguas residuales en diversos puntos a lo largo del río.

Por último, el área ha experimentado un importante proceso de proliferación de industrias a lo largo del Río Martín Pérez, cuyos productos de desecho llegan de una u otra forma a sus aguas, muchas veces sin ningún tratamiento previo. Así pues, en este contexto cabe esperar unos contenidos metálicos altos tanto en sus sedimentos como en sus aguas.

Se realizó el análisis del contenido total de Ni (disuelto y particulado), por lo que previamente a la aplicación del método de preconcentración las muestras fueron pretratadas con digestión ácida. Para ello, se aplicó la digestión asistida por microondas de las muestras de agua y se empleó el método EPA 3015, (EPA, 1994a). Este

método de digestión se recomienda para analizar muestras de agua que contengan materia en suspensión, como es nuestro caso.

Posteriormente a este tratamiento previo, las muestras fueron neutralizadas con NH_3 Suprapur (Merck, Alemania) hasta el pH óptimo para la aplicación del método de membrana líquida y posterior análisis del extracto por el método de Espectroscopia de Absorción Atómica con Llama.

Los resultados obtenidos se compararon con las medidas realizadas por otros dos métodos establecidos en la bibliografía. Así, se utilizó la Voltamperometría de Redisolución Catódica Adsorbtiva (AdCSV), (Metrohm, 2004) y por Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente. En los métodos de determinación directa se llevó a cabo el mismo método de digestión que se siguió para el caso de la preconcentración con membrana líquida.

En la Tabla III.15 se muestran los resultados obtenidos, realizando replicados de estos análisis.

Las muestras RMP-1, RMP-2 y RMP-3 corresponden a las estaciones de muestreo establecidas en el Río Martín Pérez (puntos de muestreo 1, 2 y 3) y la muestra RMP-0 (punto de muestreo 0) corresponde a la estación situada en la Ensenada de Guasabacoa, perteneciente a la Bahía de la Habana (ver Capítulo IV). Estas muestras fueron tomadas en octubre de 2005 en Cuba, bajo los protocolos de toma de muestra requeridos en los análisis de metales traza en aguas naturales. Las muestras fueron acidificadas con HNO_3 Suprapur (Merck, Alemania) en su país de origen, y transportadas y almacenadas en frío hasta su análisis en España.

De los resultados, se puede observar la buena exactitud del método de preconcentración-separación de níquel aplicado a muestras reales, con errores relativos entre 0,30 y 11,05 % para la comparación de nuestro método con la técnica de AdCSV y entre -0,39 y 2,90 % para la comparación con los resultados por ICP-MS.

Tabla III.15. Aplicación de la metodología propuesta de membrana líquida ($n=2$) a muestras de agua real procedentes del río Martín Pérez (La Habana, Cuba) y de la ensenada de Guasabacoa en la bahía de La Habana y su validación con AdCSV ($n=3$) y ICP-MS ($n=3$)

MUESTRA	AdCSV (Ni $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	ICP-MS (Ni $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	MEMBRANA LÍQUIDA+ICP-AES		
			Valor medio (Ni, $\mu\text{g l}^{-1}$)	Error relativo (%) versus	
				AdCSV	ICP-MS
RMP-0	11,82 \pm 0,066	11,90 \pm 0,71	11,85 \pm 0,48	+0,30	-0,39
RMP-1	3,37 \pm 0,079	3,56 \pm 0,82	3,62 \pm 0,21	+7,63	+1,91
RMP-2	3,24 \pm 0,074	3,35 \pm 0,61	3,38 \pm 0,24	+4,33	+0,87
RMP-3	2,52 \pm 0,121	2,72 \pm 0,45	2,80 \pm 0,38	+11,05	+2,90

III.2.15. Conclusiones y perspectivas futuras

En los estudios presentados en el Capítulo III de esta memoria se ha desarrollado un nuevo método de análisis de metales pesados basados en el empleo de membranas líquidas de volumen, mediante el uso de 2-APBH como agente transportador en la membrana. El método se ha aplicado con éxito a la preconcentración de Ni en muestras de agua natural real, previo a su análisis con Espectroscopía de Absorción Atómica con Llama (FAAS) o Espectroscopía de Emisión Atómica con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-AES). Con ello se ha alcanzado uno de los objetivos que se pretendía en la presente Memoria.

Entre las ventajas de la nueva metodología presentada, cabría destacar los bajos niveles de determinación alcanzados y la posibilidad de aplicación a muestras de naturaleza compleja como son las aguas salinas, sin que existan fuentes de error por causa del efecto de matriz de las mismas.

Los trabajos desarrollados presentan, además, varias líneas de desarrollo para el futuro:

1. Posibilidad de poner a punto nuevos métodos de preconcentración de otros metales (Co, Pb, Zn,...), que han demostrado formar complejo con el agente transportador de membrana empleado (2-APBH), usando la misma estructura de celda de membrana líquida de volumen.
2. Adaptar los sistemas estudiados a membranas líquidas soportadas, en las que el tiempo de preconcentración, así como el gasto de reactivo y disolvente se reduciría considerablemente, con los ahorros económicos y de residuos que ello supone.

CAPÍTULO IV

EVALUACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN METÁLICA EN MUESTRAS DEL RÍO MARTÍN PÉREZ Y LA BAHÍA DE LA HABANA

IV.1. Introducción

Durante el período previo al establecimiento de leyes que regularan la liberación de sustancias químicas en el ambiente, con la consiguiente exposición de los seres vivos, no era algo fuera de lo común que toda una serie de sustancias fueran liberadas directamente en el aire, el agua y la tierra como destino final de estos desechos. Al mismo tiempo se pensaba que el mero hecho de disminuir la concentración de las sustancias en un medio en particular era suficiente para mitigar su impacto en última instancia. Esta práctica y el pensamiento subyacente fueron muchas veces resumidos en la siguiente expresión: “la dilución es la solución para la contaminación”. Lo absurdo que resulta el que se halla esgrimido esta filosofía que nos exponía a factores como son la toxicidad crónica, la bioacumulación, hasta incluso la carcinogénesis, se debe a que estos factores no fueron del todo bien entendidos como resultan ahora (Anastas, 1997).

Ahora comprendemos mucho mejor la importancia y la interrelación que tienen todos estos factores con el medioambiente. Incluso se comprende mejor la importancia que tiene el clima y los cambios climáticos en el transporte y acumulación de los contaminantes en el medioambiente. Por ello en la actualidad se le da cada vez más una mayor importancia al trabajo multidisciplinar cuando se hace este tipo de estudios.

De ahí no sólo la importancia de estudiar la concentración de los contaminantes en un ecosistema, sino también la necesidad de conocer la biodisponibilidad de las sustancias tóxicas y su ecotoxicidad, la actividad biológica de sus fondos, la naturaleza geológica, el clima de la zona, el régimen de precipitaciones, las corrientes marinas, la dirección

en que soplan los vientos, etc., para poder interpretar mejor los resultados de los análisis de laboratorio.

En esta Tesis Doctoral, y como segundo gran objetivo se propuso la evaluación de la contaminación metálica en una zona de gran interés como son el **Río Martín Pérez** y su desembocadura en la **Bahía de la Habana**, en Cuba. Para ello, se propuso el análisis tanto de muestras en fase líquida como sólida, es decir, el análisis de las aguas y de los sedimentos del ecosistema.

IV.1.1. Características de la zona de estudio

La Bahía de la Habana juega un papel fundamental como puerto marítimo comercial y lugar turístico de Cuba. Posee características de bahía de bolsa, protegida además por un canal de entrada largo y estrecho que unido al régimen de circulación del estuario, condicionan el intercambio de sus aguas con el mar. La población asentada en esta área es de unos 800000 habitantes, destacando el movimiento del puerto con 71 atraques. Es una zona de gran interés para el estado, que ha centrado grandes esfuerzos en revertir su deterioro ambiental y mejorar el entorno de la bahía.

Su cuenca hidrográfica tiene 68 km², con 3 tributarios importantes: el río Luyanó, el arroyo Tadeo y el río Martín Pérez.

El río Martín Pérez una corriente fluvial que desemboca en la Ensenada de Guasabacoa, tiene un área de cuenca de 13,2 km² y una longitud de 7 Km, desde su nacimiento en el Reparto Delicias (al este del Reparto Diezmero) hasta su desembocadura, y es utilizado como cuerpo receptor de residuales domésticos, industriales y pluviales, a su paso por los repartos Monterrey, Mañana y Vía Blanca entre otros (Figura IV.1.). La población que afecta a este tributario es de unos 73000 habitantes.

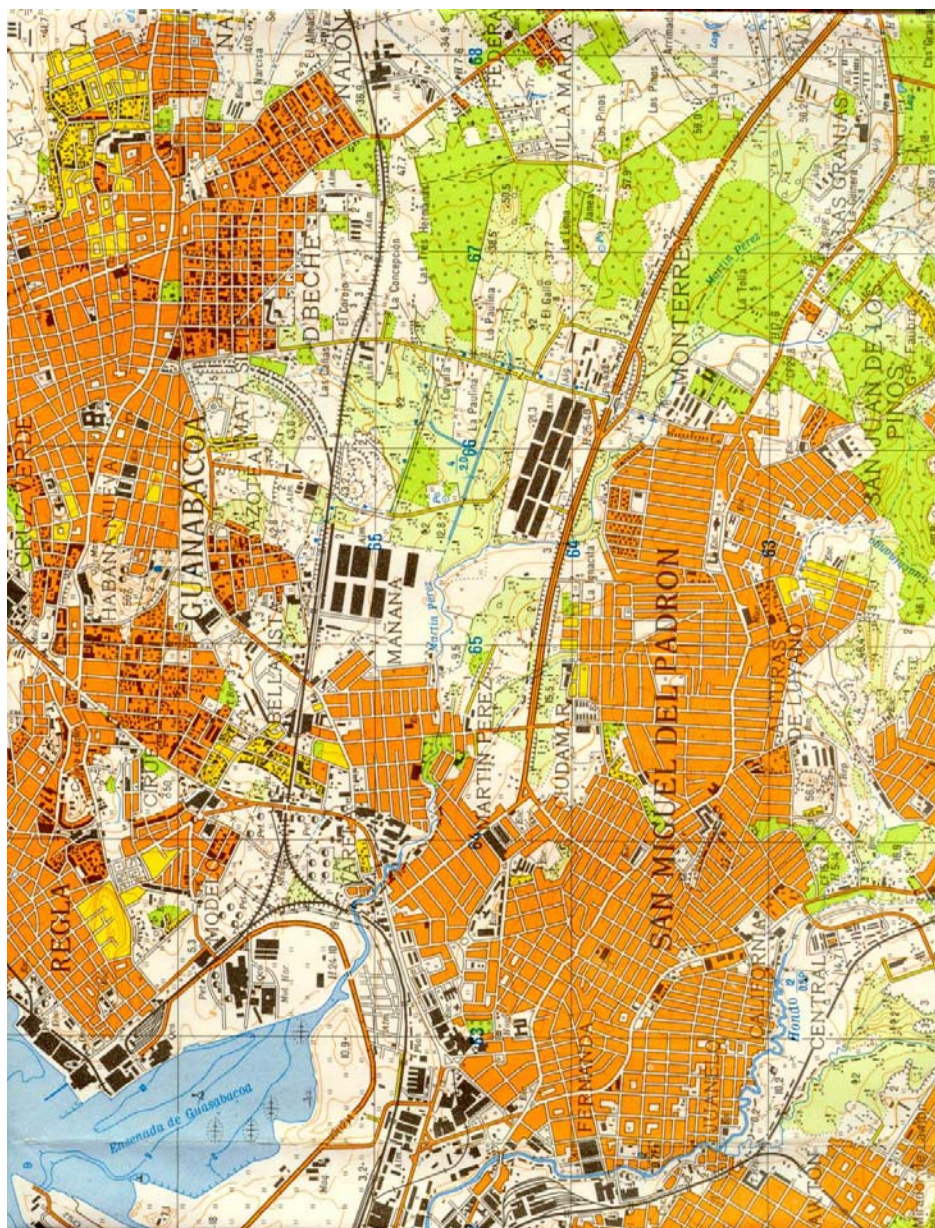


Figura IV.1. Situación geográfica del Río Martín Pérez y la Ensenada de Guasabacoa.

El volumen de agua dulce que incorpora este río a la bahía es 3,4 veces menor que el que incorpora el Río Luyanó y su carga contaminante es menor a la aportada por este último, aunque también destacada:

- carga contaminante del río Martín Pérez: 1245 kg/día.
- carga contaminante del río Luyanó: 9476 kg/día.

El Río Martín Pérez recibe las descargas de más de 10 drenajes pluviales y colectores de alcantarillado de los repartos ubicados en su cuenca. Los principales ramales corresponden al Alcantarillado de Calle 1^{ra} y 8^{va}, Alcantarillado Calle 3^{ra} y Río en el Reparto Mañana, Alcantarillado Ave. 3^{ra} y Calle 1^{ra} en el Reparto Monterrey, Alcantarillado Pasaje A esq. Zenea y Narciso López, Alcantarillado Arroyo San Lázaro en el Reparto La Corea, Alcantarillado Calle Central y 1^{ra} y el Alcantarillado de Vía Blanca y Cowley.

Además recibe el aporte contaminante de alrededor de 20 fuentes industriales, seis de las cuales presentan una contaminación significativa. De las industrias e instalaciones evaluadas el 33% adolecen de sistemas de depuración para tratar sus residuales, el 50% tratan sus residuales parcialmente y el 17% tienen sistemas de tratamiento que funcionan eficientemente.

Las industrias más contaminantes son la Tenería Cesar Escalante, la Empresa de Fundición no Ferrosa Sergio González, el Establecimiento Mártires de Panamá (Marmolería), la Empresa Semi-Remolque Ramón Peña, el Taller Galvánico Emilio Pérez Olivera y el Establecimiento Botellería Habana (Figura IV.2.). Otras instalaciones con menor incidencia ambiental lo constituyen, la Empresa Productora de Equipos de Aluminio, la Base de Transporte y Accesorios del Calzado Onelio Dampier, la Empresa Metálica de la Habana, el Taller Reynaldo Cruz, la Empresa Plásticos Habana, el Establecimiento Máquinas Tapadoras, el Centro de Pre-Ceba La Faura, la Base Central Almacenes CEATM, los Almacenes CEATM, la Fábrica Rogelio Perea, el Taller de Mantenimiento MINIL, la Terminal CUPET (antigua ICP) y la Recapadora de Gomas.

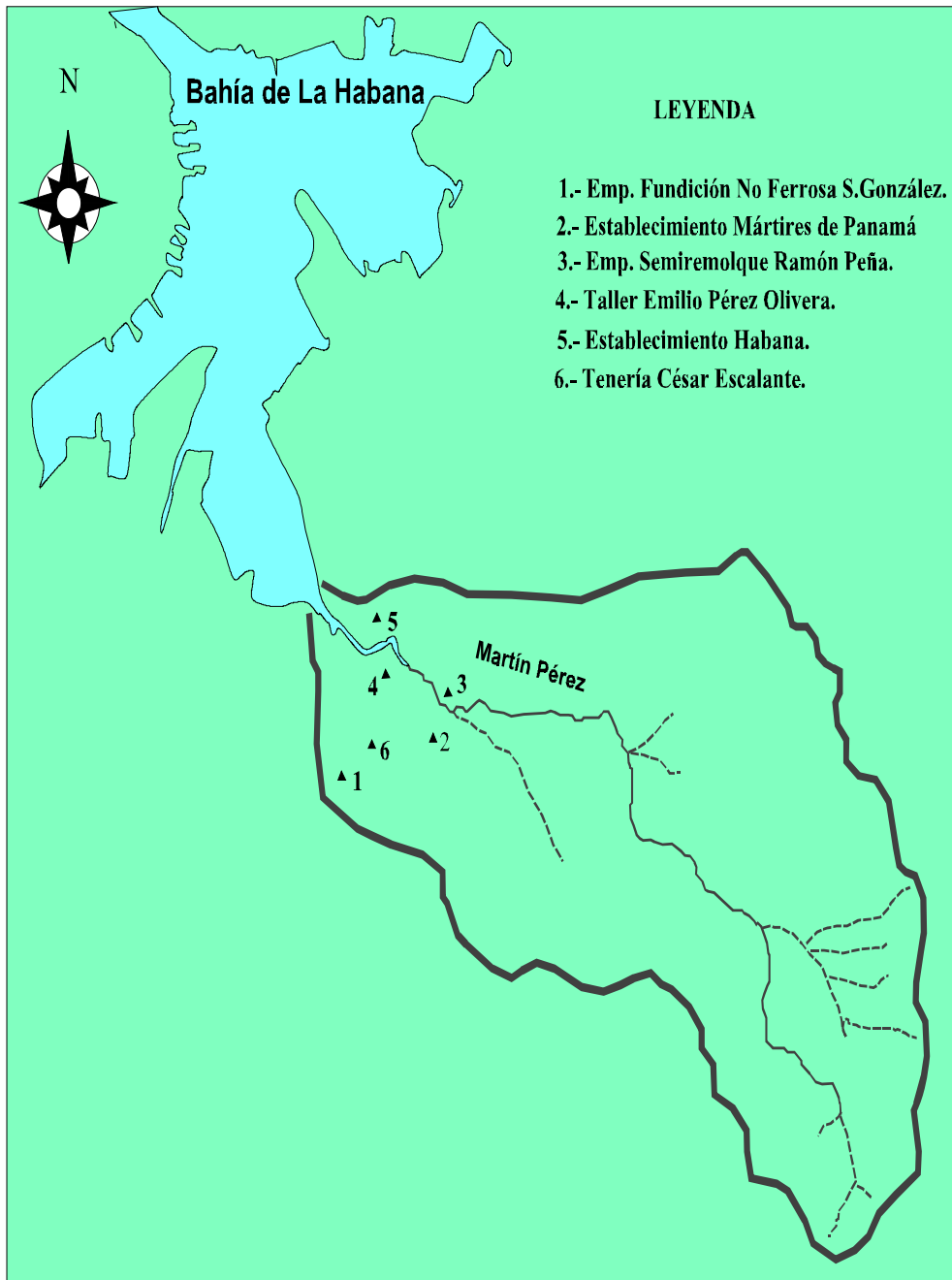


Figura IV.2. Principales focos contaminantes de la cuenca del Río Martín Pérez.

A pesar de la influencia de este río en la carga contaminante que llega a la Bahía de la Habana, no ha sido suficientemente estudiado desde el punto de vista de la caracterización más completa de sus aguas y sedimentos, por lo que este estudio ha sido abordado en esta Tesis Doctoral.

Como en cualquier ecosistema, las características climatológicas de la zona influyen en su geoquímica. Estas condiciones climáticas influyen de modo decisivo, ya que de ellas depende el caudal, la regeneración de sus aguas o la capacidad de transportar los distintos materiales a través de su curso.

Una clasificación actualizada sobre el clima de Cuba la podemos encontrar en la página Web del Instituto de Meteorología de la República de Cuba, “en la mayor parte de Cuba el clima predominante es del tipo cálido tropical, con estación lluviosa en el verano. En general es bastante aceptado expresar que el clima de Cuba es tropical, estacionalmente húmedo, con influencia marítima y rasgos de semicontinentalidad. En el país se reporta también la presencia de otros tipos climáticos como en las zonas más altas de los principales sistemas montañosos o el observado en la franja costera sur de las provincias de Santiago de Cuba y Guantánamo, el cual clasifica como tropical relativamente seco con pocas lluvias” (INSMET, 2006).

Debido a la influencia que ha tenido sobre el clima en general el fenómeno del calentamiento global y la corriente del Niño Oscilación Sur, en Cuba las estaciones de lluvia y seca se han visto afectadas por estos fenómenos climatológicos lo que ha provocado variaciones de las mismas a través del tiempo; no obstante, el consenso general admitido por todos los investigadores es que la estación de seca se extiende entre los meses de Noviembre a Abril y la estación de lluvias entre Mayo y Octubre (González, 2001).

En la Tabla IV.1. se pueden observar las precipitaciones en la provincia Ciudad Habana, en la cual se encuentra la cuenca del río Martín Pérez, desde enero del 2005 hasta junio del 2006, periodo que comprende los muestreos de aguas que se realizarán en este trabajo.

Hay que reseñar que en la cuenca del río Martín Pérez no existe ninguna estación pluviométrica, por lo que los datos de las precipitaciones medias de la provincia son meramente orientativos para el análisis de esta cuenca, objeto de nuestro estudio.

Puede observarse como la estación seca termina en junio de 2005 y en mayo de 2006, con destacadas precipitaciones los meses siguientes. Estos aspectos probablemente influirán en los contenidos metálicos de las aguas de este río durante esas épocas.

Tabla IV.1. Precipitaciones en la provincia de Ciudad Habana

MES/AÑO ^a	2005	2006
Enero	21	10
Febrero	34	62
Marzo	88	0
Abril	26	28
Mayo	54	235
Junio	437	223
Julio	289	
Agosto	204	
Septiembre	367	
Octubre	256	
Noviembre	19	
Diciembre	24	

^a Los datos corresponden a la media ponderada de los milímetros de lluvia caídos en la provincia.

Como resultado de la atención que el estado cubano le confiere a los problemas de preservación del medio ambiente, en la década de los 80 fue elaborado un proyecto de trabajo en coordinación con diferentes

organizaciones internacionales (PNUD, PNUMA, UNESCO) que abarcó las investigaciones y los trabajos científico técnicos necesarios para la caracterización y evaluación cuantitativa y cualitativa de las cargas contaminantes aportadas a las aguas de la Bahía de La Habana por las principales fuentes puntuales y no puntuales.

El objetivo principal de este proyecto fue determinar el impacto ambiental causado al ecosistema de la Bahía de la Habana y a las aguas adyacentes, e implantar a su vez, las medidas técnico organizativas y/o inversiones necesarias para la erradicación paulatina de esta problemática.

Se plantearon entre los objetivos generales a alcanzar en la primera etapa del proyecto (1980), la caracterización física, química, bacteriológica y la determinación de los gastos líquidos de los ríos Luyanó, Martín Pérez y Arroyo Tadeo, así como la evaluación de la carga contaminante que fluye directamente a la bahía aportada por los ríos y arroyos en cuestión.

Como resultado se comprobó la contaminación originada por las aguas residuales de los hogares e industrias, cuya descarga se realiza directamente en la bahía sin un tratamiento adecuado. Parte de la contaminación que llega, se sedimenta y acumula en los fondos. Además, se evaluó el insumo de la carga contaminante en la Bahía de la Habana aportada por estas tres corrientes superficiales que han sido utilizadas históricamente como cuerpos receptores de las aguas residuales originadas por el desarrollo económico y social de la ciudad (García, 1984). Por todo ello, esta bahía fue considerada como una de las más contaminadas del Caribe.

En la actualidad se mantiene el monitoreo de las principales fuentes contaminantes, con el fin evaluar los resultados producidos por la implementación de diferentes medidas tendentes a la disminución del impacto de estas fuentes sobre el ecosistema (Proyecto GEF/RLA/93/G41, 1997).

IV.1.2. Metodología de análisis de metales pesados en muestras de ecosistemas acuáticos

IV.1.2.1. Métodos de análisis de metales en aguas

En el capítulo II, en el apartado II.1., se han descrito resumidamente los métodos más utilizados en Química Analítica Ambiental para el análisis de trazas metálicas en aguas.

De ellas, en este trabajo para el análisis de aguas, se utilizarán las siguientes técnicas: Voltamperometría de Redisolución Anódica (ASV) y Catódica Adsorbtiva (AdCSV) y la Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente.

En el capítulo anterior, y únicamente para el ion metálico níquel se ha empleado también el método de análisis en aguas desarrollado de preconcentración por membrana líquida y determinación por Espectroscopía Atómica.

IV.1.2.2. Métodos de análisis de metales en sedimentos: Especiación metálica

La contaminación de sedimentos por metales pesados ha dado origen a numerosos trabajos, debido a su toxicidad y a los efectos acumulativos en los seres vivos. La mayoría de los trabajos se refieren a la concentración total del metal, pero esto supone que todas las formas de un metal tienen el mismo impacto ambiental, lo que dista mucho de ser verdad. Los iones metálicos pueden encontrarse en una amplia variedad de formas químicas que se diferencian, no sólo por sus propiedades físicas y químicas, sino porque pueden poseer diversas actividades tóxicas sobre los organismos vivos. Cada vez van adquiriendo mayor importancia los estudios de especiación en sedimentos, basados en los distintos mecanismos de acumulación. Por tanto, para poseer un conocimiento adecuado de la toxicidad, biodisponibilidad, transporte y destino de muchos elementos en los sistemas acuáticos, se requiere algo más que conocer sus

concentraciones totales individuales. Para describir esta distribución de los elementos en sus posibles diferentes formas químicas, se ha introducido el término de **especiación**, definiéndose como el proceso de diferenciación de las concentraciones de las distintas formas fisico-químicas individuales en las que se encuentra un determinado elemento en una muestra.

Se puede afirmar que el uso de métodos de especiación, con el fin de determinar las formas químicas o de obtener diferentes fases o fracciones diferenciadas, es una de las claves que puede ayudar a entender la biogeoquímica de un ecosistema (Frimmel, 1994).

La especiación puede definirse de diferentes formas, según se estudie desde el punto de vista químico o en función de la forma de operar. Cuando se define la especiación químicamente nos referimos al proceso de determinación de las concentraciones (actividades) de las distintas formas químicas individuales en que se puede encontrar un determinado elemento en una muestra. Mientras que, la definición operacional del termino especiación, involucra a menudo el uso de etapas secuenciales para recuperar especies asociadas con fases particulares de la muestra. En muestras de agua, se usa el término especiación para describir tanto los estados de oxidación como las formas químicas de un metal dado. También se puede realizar la especiación por métodos algebraicos (cálculo), en este caso, el reparto entre las diferentes formas químicas o fracciones se realiza mediante programas informáticos, basados en las constantes de formación de los diferentes compuestos solubles e insolubles que pueden estar en equilibrio, concentraciones, actividades, etc.

Frecuentemente, se ha empleado en la bibliografía la definición de “especie” referida a formas químicas diferentes para un elemento en particular, como por ejemplo, los iones de Cr(VI) y Cr(III). Sin embargo, este término se ha empleado también de diferentes maneras, incluyendo la transformación de especies, la distribución de especies o la actividad analítica, para determinar la concentración de especies. Este hecho ha provocado el uso indiscriminado y alternativo de los términos “*fraccionamiento*” y “*análisis de especiación*”. En un intento de

acabar con la confusión existente en el uso de ambos términos la IUPAC (Templeton, 2000), en sus recomendaciones del año 2000, ha intentado establecer la diferencia entre *fraccionamiento* y *análisis de especiación*. Para ello, ha recomendado la transformación del término “*especie*”, y ha descrito el “*análisis de especiación*” como la actividad de identificar y medir especies, con lo que se restringe el uso del término “*especiación*”, en Química, para distribución de especies. De estas recomendaciones hay que destacar las siguientes definiciones:

- **Especie química.** *Forma específica de un elemento definida como su composición isotópica, su estado electrónico o de oxidación y/o su estructura compleja o molecular.*
- **Análisis de especiación.** *La actividad analítica de identificación y/o medida de las cantidades de una o más especies químicas individuales en una muestra.*
- **Especiación de un elemento.** *Distribución de un elemento entre especies químicas definidas en un sistema.*

De acuerdo a las restricciones hechas al uso del término especiación para definir especies químicas, la IUPAC (Templeton, 2000) definió el fraccionamiento de la siguiente forma:

- **Fraccionamiento.** *Proceso de clasificación de un analito o un grupo de analitos de una cierta muestra de acuerdo a sus propiedades físicas (por ejemplo: tamaño o solubilidad) o químicas (por ejemplo, reactividad, enlazamiento).*

Una vez determinadas las distintas formas químicas en que se encuentran los elementos, y en concreto los diferentes metales pesados en una muestra acuosa, se podrá:

- Evaluar y cuantificar los posibles efectos nocivos de ese elemento en el medio.
- Predecir posibles efectos futuros debidos a la presencia de metales provenientes de fuentes antropogénicas.

- Diseñar técnicas adecuadas para el control y eliminación de residuos.
- Explicar los procesos básicos de distribución y movilidad de metales en el ecosistema.
- Identificar aquellas especies que puedan ser tóxicas para los organismos vivos.
- Establecer los parámetros (pH, potencial redox, temperatura, etc.) que influyen sobre la biodisponibilidad de las especies tóxicas.

Si se tiene en cuenta que el mero conocimiento de la concentración total de un elemento en muestras medioambientales presenta ya complicaciones debido a la gran variedad de métodos y a las diferentes variables que afectan a su determinación, la medida de todas sus formas químicas es prácticamente imposible, ya que implicaría disponer de procedimientos de análisis específicos de cada especie, a veces, para concentraciones ínfimas. De aquí que hay que llegar a un compromiso que permita medir únicamente las especies de mayor interés o que sean más fáciles de cuantificar, o bien definir categorías operativas de especiación que engloben especies de naturaleza similar (Campanella, 1996).

De manera general y desde un punto de vista químico, la especiación medioambiental presenta las siguientes características (Sánchez-Uria, 1994).

- La muestra es siempre una mezcla más o menos compleja, que incluye, entre otras, formas químicas elementales, tales como formas catiónicas libres y complejos con ligandos inorgánicos.
- El tipo de muestra, su naturaleza y origen, condicionan el proceso de especiación. De ahí que sea necesario el uso de técnicas de análisis diferentes.

- Puesto que parte o toda la muestra puede alterarse durante el proceso de estudio, el tratamiento de ésta debe ser reducido al menor número de etapas posibles. Debe tenderse, por tanto, hacia la mínima manipulación de la muestra, evitando que se puedan producir oxidaciones, reducciones, complejaciones, desplazamiento de los equilibrios establecidos en la unidad ambiental en la población objetivo, etc., que condicionarían el resultado final. El mantenimiento de la integridad de las formas químicas del analito (o analitos) en una muestra debe ser una constante primordial en la actuación de un analista que hace especiación.
- La concentración total del elemento a analizar puede ser muy pequeña, por lo que habrá que cuidar mucho la pureza de los reactivos, la posible contaminación de los recipientes y elegir la adecuada técnica instrumental de análisis en función de la sensibilidad requerida.
- El estudio de la especiación de metales no puede ser un proceso de rutina y no debe tomarse como tal en ninguna circunstancia.

Debido a la gran información que pueden proporcionar, el interés de los estudios de especiación sobre diferentes tipos de muestras, ha ido creciendo desde 1950 y particularmente durante las dos últimas décadas. De la Guardia y colaboradores (De la Guardia, 1999) han comprobado un aumento exponencial desde 1980 a 1998 en el número de publicaciones referentes a especiación química con técnicas espectroscópicas. En este estudio, también, se ha puesto de manifiesto que, dentro de las publicaciones aparecidas en ese periodo, el mayor interés recaía sobre los metales con diferentes estados de oxidación estables, como son As, Se, Cr y Sb, o con formas específicas orgánicas altamente estables, comúnmente usadas en aplicaciones industriales, entre los que se encuentran Hg, Sn y Pb.

IV.1.2.2.1. Procedimientos de análisis para especiación

La especiación de metales en muestras medioambientales es un problema analítico difícil, ya que la determinación de las bajas concentraciones a la que éstos se encuentran en la mayoría de las muestras requiere técnicas con alta sensibilidad y selectividad. Este problema se agrava cuando se determinan especies individuales a nivel de ultratrazas.

Teniendo en cuenta las consideraciones hechas hasta ahora, el procedimiento que se seleccione para este tipo de análisis debería ser capaz de distinguir entre formas químicas diferentes de un mismo metal y entre formas químicas análogas de metales distintos, algunas o todas en concentraciones muy bajas. Habría, por tanto, que disponer de métodos analíticos válidos al nivel de trazas o subtrazas y específicos para cada especie. Sin embargo, no siempre se dispone de técnicas adecuadas y con tan elevada sensibilidad. Por ello, se suelen separar primero en una o varias etapas las distintas especies, para seleccionar luego una técnica lo bastante sensible como para permitir determinar cada una de ellas a distintos tiempos o en las diferentes porciones en las que han sido separadas. Estas separaciones se pueden basar en diferencias en sus propiedades físico-químicas o cinéticas de las especies.

En función de las propiedades físico-químicas de las especies, los métodos se pueden dividir en dos grandes grupos según cómo se empleen (Figura IV.3.):

1. *Técnicas capaces de diferenciar entre distintas formas químicas (especies) de un elemento.*
2. *Técnicas capaces de discriminar entre distintos elementos, pero no entre las distintas especies de cada uno. En este caso será necesario una separación previa de las especies químicas en diferentes fases.*

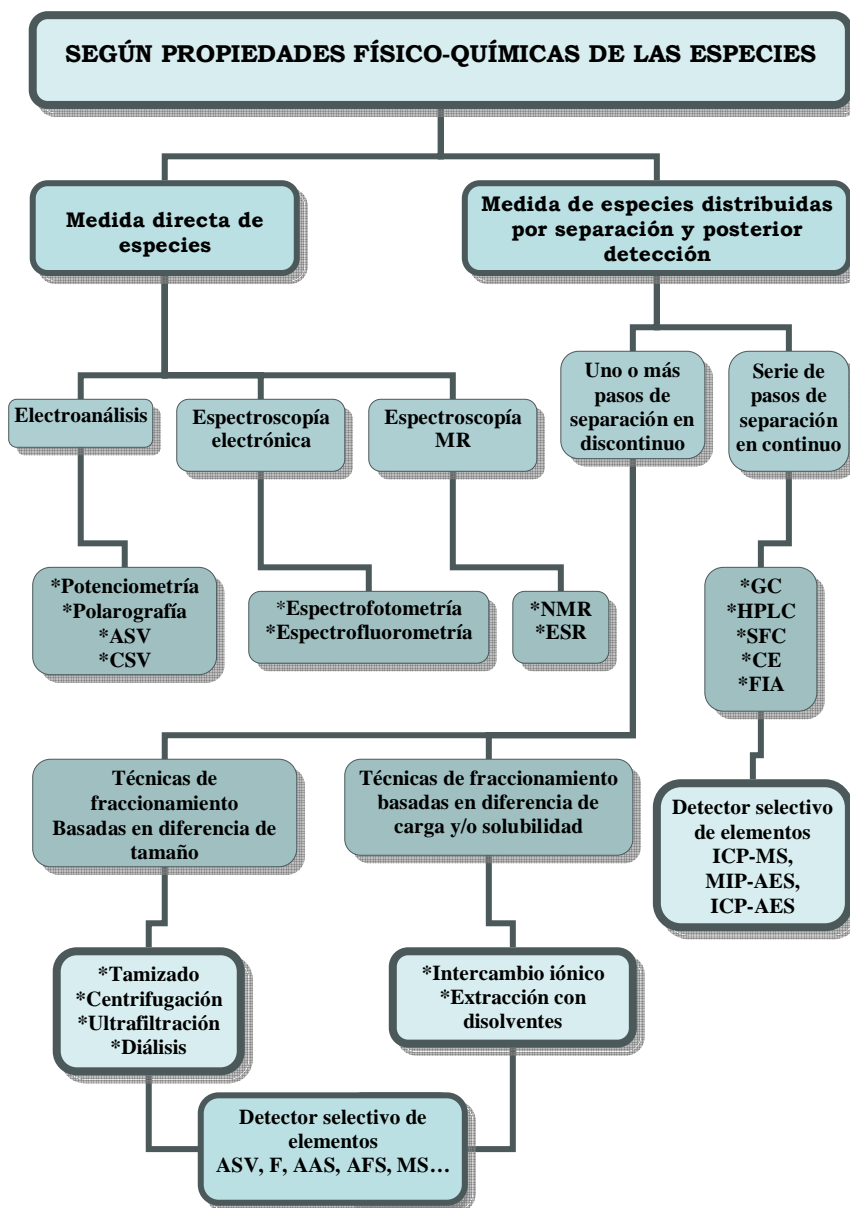


Figura IV.3. Principales métodos usados en especiación metálica de muestras medioambientales basados en las propiedades físico-químicas de las especies (Pérez-Bendito, 1999).

La especiación definida como el estudio de los compuestos reales en que se encuentran los elementos en un material dado, es factible para materiales líquidos, como, por ejemplo, las aguas naturales. En la mayoría de las muestras sólidas, incluso los suelos y sedimentos, la determinación de especies químicas es, con frecuencia, un desafío difícil.

La movilidad de los metales traza, también su biodisponibilidad y ecotoxicidad depende fuertemente de sus formas químicas específicas o asociaciones. Sin embargo, la determinación de especies químicas específicas o las formas de estar asociados, suele ser difícil. Por consiguiente, determinaciones de formas más amplias, como por ejemplo las formas llamadas "móviles" o "carbonato-enlazadas", dependiendo de los procedimientos operacionalmente definidos pueden ser un buen compromiso para dar la información sobre riesgos de contaminación medioambiental (como por ejemplo, una determinación de metales trazas medioambientalmente disponibles en la disposición de sedimentos en un suelo y evaluación de riesgo de contaminación de aguas subterráneas).

Como resultado de esta utilidad, se han diseñado los esquemas de extracción singulares y secuenciales para la determinación de formas asociadas de metales traza en el suelo y el sedimento (Domínguez, 2001, 2002; Calace, 1997; Campanella, 1995; Carminati-Lima, 2001; Davidson, 1994; Förstner, 1993; Gómez, 2000; Hall, 1996; Tokalioglu, 2000; Pueyo, 2001, Quevauviller, 1992, 1994, 1997, 1998) (reviews: Bermond, 2002; Gleyzes, 2002; Sahuquillo, 2002, 2003a; Filgueiras, 2002a, Zhao-Liang, 2004; Kalembkiewicz, 2005; Yaping, 2005; Hall, 2005).

La extracción secuencial consiste en tratar una porción del sedimento o suelo con una serie de disoluciones que disuelven selectivamente determinadas fases minerales y extraen así los metales asociados a ellas.

Los esquemas que se empezaron a utilizar eran diversos, pero la falta de uniformidad de los esquemas existentes en la bibliografía, sin

embargo, no permitía la comparación de los resultados y/o procedimientos (Jouanneau, 1983; Nirel, 1990). Otro problema que dificultaba la correcta comparación de datos era la falta de materiales de referencia convenientes, que no permitían controlar la calidad de las determinaciones. Debido a la probabilidad de las muchas fuentes de errores aleatorios que pueden ocurrir, se esperó durante algún tiempo que el uso de los esquemas de extracción se abandonara progresivamente.

Sin embargo, dada la importancia de estos procedimientos debido a la valiosa información que aportan, el Community Bureau of Reference (BCR), actualmente Measurements and Testing Programme, lanzó un programa para armonizar el esquema de extracción singular y secuencial para la determinación de metales traza extraíbles en suelo y sedimento, respectivamente.

Este programa empezó en 1987 con la comparación de los procedimientos existentes, probados en dos ejercicios interlaboratorios (Ure, 1993a, 1993b). Se discutió el desarrollo de este programa extensivamente en un taller organizado por el BCR en 1992 (Quevauviller, 1993) que fue reconocido para ser un "punto de cambio" en el uso de estos esquemas en Europa (Salomons, 1993). La estrategia desarrollada por el BCR en este programa se ha descrito en detalle por Quevauviller (Quevauviller, 1993, 1994).

Todo ello, condujo a proponer un procedimiento, el **método "BCR"**, que es el más empleado actualmente y recomendado por el Community Bureau of Reference (BCR) (Pueyo, 2001).

Este método emplea tres pasos de extracción sucesivos y el posterior análisis del residuo. Siguiendo los pasos descritos aparecen tres fases líquidas y un residuo sólido que se corresponden con:

- **Fase 1:** fase intercambiable, agua y ácidos solubles (carbonatos).
Extractante: ácido acético.
- **Fase 2:** fase reducible (óxidos de hierro). *Extractante:* cloruro de hidroxilamina.

- **Fase 3:** fase oxidable (materia orgánica y sulfhídrica). *Extractante:* peróxido de hidrógeno/acetato amónico.

El ácido acético libera los metales asociados con carbonato cálcico, caolinita, feldespato potásico y ferrihidrita. El cloruro de hidroxilamina libera los metales procedentes de montmorillonita y dióxido de manganeso así como el Ni del ácido húmico. Los óxidos de hierro deben esperar a ser atacados por este agente reductor, pero la mayoría de los metales ya han sido removidos por el primer extractante (ácido acético). Esto puede reflejar la elevada capacidad de adsorción de la ferrihidrita. La tercera extracción con peróxido de hidrógeno/acetato amónico posee la fuerza necesaria para liberar la materia orgánica y el material sulfhídrico.

En un trabajo más reciente Quevauviller presenta los resultados de la campaña de certificación en la extracción de metales traza en un sedimento candidato a material de referencia, CRM 601 (Quevauviller, 1997), siguiendo el esquema descrito. Entre las recomendaciones más importantes de este trabajo que se han introducido tenemos las siguientes:

- Las disoluciones de calibración deben hacerse con las disoluciones extractantes empleadas en cada paso de extracción.
- Con cada lote de extractos, una muestra blanco (es decir un recipiente sin el sedimento), se llevará a cabo a través del procedimiento completo.
- El sedimento debe estar continuamente en suspensión durante la extracción. Si esto no ocurre, la velocidad de agitación debe adaptarse para asegurar una suspensión continua de la mezcla.

En un estudio sistemático interlaboratorios realizado con el sedimento candidato a material de referencia CRM 601, se hacen una serie de recomendaciones acerca de las distintas variables identificadas como fuentes potenciales de incertidumbre en el uso del esquema de extracción secuencial BCR, las cuales se recogen en diferentes trabajos publicados recientemente (López-Sánchez, 1998; Rauret, 1999;

Sahuquillo, 1999). Una de las recomendaciones que se presenta es la siguiente:

- Como un control interno en el procedimiento, se recomienda que el residuo del paso 3° se digiera en agua regia y la cantidad total de metal extraída (suma de la fase 1 + fase 2 + fase 3 + residuo) se compara con el resultado de la digestión con agua regia de una muestra separada de 1 g del sedimento original. El residuo del paso 3° debe transferirse a un recipiente de digestión adecuado con aproximadamente 3 mL de agua y debe digerirse siguiendo el protocolo ISO-11466 (ISO, 1994). El mismo procedimiento debe usarse para la digestión con agua regia del sedimento original.

A tenor con estos resultados Pueyo describe la preparación del material de referencia de sedimento BCR-701 (Pueyo, 2001). En este trabajo se recogen todas las recomendaciones elaboradas en los trabajos precedentes, tanto para la aplicación del protocolo de extracción secuencial BCR como para la norma ISO-11466 (ISO, 1994), presentándose los respectivos procedimientos.

Como resultado del trabajo sistemático llevado a cabo por los integrantes del “Measurements and Testing Programme” el método de extracción secuencial en tres etapas, conocido como “BCR”, se ha ido estableciendo como método de referencia internacional.

En la Tabla IV.2. se muestran las principales temáticas abordadas en las publicaciones de los últimos seis años relacionadas con esta metodología.

IV.1.2.2.2. Técnicas instrumentales utilizadas en especiación

Diferentes métodos instrumentales han sido empleados para el análisis de muestras sólidas del medio acuático; algunos (fluorescencia de rayos X (Hiraoka, 1998) y activación neutrónica (Rodríguez, 1998) no requieren la destrucción de la muestra, además de permitir el análisis simultáneo de numerosos elementos. No obstante requieren de

Tabla IV.2. Bibliografía relacionada con el método de extracción secuencial "BCR".

Protocolo BCR	Matriz	Elemento	Obtención de los extractos	Referencia
modificación	sedimento	Cd, Cr, Cu, Ni y Zn	con baño ultrasónico y horno de microondas	Ipolyi, 2002
		Pb	con baño ultrasónico	Ping, 2004
		Cd, Cu, Fe, Mn, Pb y Zn ^a	por agitación	Lihareva, 2006
validación	sedimento y suelo	Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn		Pueyo, 2001
		Cd, Cu, Cr, Ni, Pb y Zn		Sahuquillo, 2000
	sedimento y suelo	Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn		Rauret, 2001
		Al, Cu, Fe, Mn, Pb y Zn		Sutherland, 2002
	sedimento	Cd y Pb		Oss-Giacomelli, 2002
comparación	sedimento y suelo	Cu, Fe, Pb, Mn, y Zn		por agitación
	Sedimento y suelo	Ca, Cu, Fe, Mn y Zn	Davidson, 2004	
	residuo minero	Cr, Cu, Fe, K, Ni y Zn	Eichfeld, 2002	
	sedimento	Cd, Cr, Cu, Ni y Pb	Filgueiras, 2002b	
		Cd, Cu, Pb y Zn	Gismera, 2003	
		As	Sahuquillo, 2003b	
		Cd, Cu, Ni, Pb y Zn	Craba, 2004	
		Cu, Ni, Pb y Zn	Joksic, 2005	
		As, Al, Cd, Co, Cu, Cr, Fe, Mn, Ni, Pb, Sb y Zn	Larner, 2006)	
		Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb y Zn	Cook, 2006	
		Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn	Tokalioglu, 2000	

a.- En el protocolo se añade un paso adicional de extracción con agua desionizada.

Cont. Tabla IV.2. Bibliografía relacionada con el método de extracción secuencial "BCR".

Protocolo BCR	Matriz	Elemento	Obtención de los extractos	Referencia
aplicación	suelo	Cd, Pb y Zn	por agitación	Pustisek, 2001
	sedimento			Svete, 2001
		Cr, Fe, Mn y Zn		Brayner, 2001
		Cu, Fe, Mn, Pb y Zn		Tuzen, 2003
		Hg		Sahuquillo, 2003c
		Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Sn, V y Zn		Chun-Gang, 2004
	sedimento y suelo	Cr, Cu, Mn, Ni, Pb y Zn		Elass, 2004
aplicación	sedimento	Cd, Cr, Ni, Pb y Zn	por agitación	Beccaloni, 2004
	sedimento	Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn		Wang, 2004
		Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn		Kartal, 2006
		Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn		Coung, 2006

equipos costosos y personal especializado; otros métodos como la absorción molecular, la espectrometría de masa o las técnicas polarográficas, presentan diferentes inconvenientes y son poco utilizados (Förstner, 1979; Robbe, 1981).

La Espectroscopia Atómica (Cantle, 1982; Pryce, 1979) encontró desde sus inicios amplia aplicación en las investigaciones del medio

ambiente, como muestran los resultados de diferentes ejercicios internacionales de intercalibración (Quevauviller, 1994, 1997; Rauret, 1999; Fiedler, 1994; I.A.E.A., 1985; I.C.E.S., 1987). Las técnicas atómicas son realmente muy sensibles, pero determinan sólo la concentración total de un determinado metal y para que sean útiles para la especiación suelen combinarse adecuadamente con técnicas de separación, como la cromatografía de gases (CG), de líquidos (CLAR ó HPLC) o con procesos fisicoquímicos que permitan separar secuencialmente las especies a determinar sin alterar el estado natural de éstas, ya que en caso contrario se alterarían los equilibrios y simultáneamente la distribución de especies. En general suelen acoplarse, antes de la detección. La falta de especificidad de los detectores cromatográficos habituales es sustituida por la alta especificidad y sensibilidad de los detectores atómicos en este tipo de acoplamientos.

El acoplamiento de las técnicas cromatográficas de gases o de líquidos con las técnicas atómico-espectroscópicas se halla hoy en día en pleno desarrollo en el campo de la especiación metálica. Normalmente, la cromatografía líquida de alta resolución, resulta una técnica más adecuada que la cromatografía de gases para llevar a cabo estudios de especiación habiéndose desarrollado métodos para la separación de muchas especies inorgánicas (catiónicas, aniónicas y complejas), además de los relativos a especies organometálicas. La principal limitación del HPLC es precisamente el sistema de detección, al ser los detectores más comunes (conductimétrico, refractométrico, espectrofotométrico UV-visible) poco específicos.

Por esta razón, el acoplamiento de detectores específicos, como los basados en cualquier método de espectroscopía atómica: absorción atómica con llama (FAAS), absorción atómica con horno de grafito (GF-AAS), espectroscopía de emisión atómica con plasma (ICP-AES, MIP-AES, DCP-AES) o la hibridación plasma de acoplamiento inductivo-espectrometría de masas (ICP-MS), es, actualmente, una potentísima herramienta para llevar a cabo estudios de especiación metálica.

IV.1.2.2.3. Análisis Complementarios

Es práctica habitual analizar una serie de parámetros en los sedimentos y suelos que complementan y ayudan a interpretar los resultados de la determinación de los metales. Entre ellos la materia orgánica y el contenido de carbono orgánico son de los más utilizados pues es sabido que la presencia de ácidos húmicos en sedimentos y suelos, y tiene una relación directa con la movilidad y disponibilidad de muchos metales (Rocha, 1997a, 1997b).

La importancia de la materia orgánica ha sido ampliamente reconocida al formar asociaciones con diferentes metales. Pueden determinarse la materia orgánica total (MO) o materia volátil y el carbono orgánico (CO). Entre estas dos variables ha sido encontrada una alta correlación, lo que quizás haya provocado que diversos autores determinen CO y empleen un factor para hallar MO. Sin embargo, se ha evidenciado que este factor no puede generalizarse, pues depende del área de estudio. También los análisis mineralógico y el contenido en carbonato son útiles, ya que la naturaleza de las partículas minerales explica el poder de retención de los metales (González, 1989).

Como se concluye de la bibliografía revisada, la evaluación de los procedimientos de extracción secuencial de metales y su aplicación a sedimentos y suelos de diferente tipo es, en la actualidad, un tema de gran interés y sobre el que se continúa investigando con bastante intensidad como lo demuestran las publicaciones recientes. Ello se debe a la importancia de la información que brindan y por eso el objetivo del presente trabajo es iniciar el estudio de la contaminación por metales pesados en los sedimentos del río Martín Pérez, utilizando un procedimiento de extracción secuencial que permita evaluar la movilidad de los metales asociados a las diferentes fases mineralógicas de estos sedimentos (Domínguez, 2001, 2002).

IV.2. Parte experimental

IV.2.1. Material y métodos

IV.2.1.1. Equipos

Las determinaciones de los contenidos de los metales pesados en aguas se realizaron por diferentes técnicas:

- Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente: se realizaron en un espectrómetro cuadrupolar Thermo Elemental modelo X-7, Thermo (Reino Unido), situado en una sala blanca de atmósfera controlada.
- Voltamperometría de redisolución anódica (ASV) y catódica adsorbtiva (AdCSV): se llevó a cabo con el Stand Methrom modelo 757 VA Computrace o con el equipo Metrohm compuesto por dos módulos, el procesador modelo 746 VA Trace Analyzer y el dispositivo modelo 747 VA Electrode Stand (Figura IV.4). Ambos equipos están dotados con un módulo automatizado para trabajar con electrodos de gota colgante de mercurio. Los electrodos de referencia y auxiliar usados han sido Ag/AgCl, AgCl saturado, 3M KCl, y alambre de platino, respectivamente. Las disoluciones se han agitado durante las etapas de purga y deposición mediante un rodillo de PTFE. Para la eliminación del oxígeno disuelto de las disoluciones de ensayo, se ha suministrado N₂ como gas inerte, durante 5 minutos, a una presión de 1±0,2 bar (99,99 % de pureza, AIR LIQUIDE). El equipo se mantuvo en el interior de una cabina cerrada para preservarlo y mantenerlo en las mejores condiciones de limpieza, al objeto de minimizar los efectos de la contaminación del ambiente en las medidas.
- La digestión asistida del contenido de la materia suspendida en las aguas se realizó por microondas en la Estación Avanzada de Microondas Milestone, modelo Ethos 1600.



Figura IV.4. Equipo de Voltamperometría utilizado

Para la determinación de los contenidos de metales pesados en sedimentos se utilizaron las siguientes técnicas:

- Espectrometría de Absorción Atómica con Llama, utilizando un espectrómetro de simple rayo Unicam, modelo Solar 919 (Reino Unido), con llama aire/acetileno.
- Para las determinaciones por Difracción de Rayos X se usó un difractómetro de polvos Philips PW 1710 (Reino Unido).
- Para la liofilización de las muestras se utilizó una liofilizadora Edwards, a una temperatura de $-53\text{ }^{\circ}\text{C}$ y una presión de 3×10^{-2} mbar.
- La separación de los extractos en el proceso de extracción secuencial se llevó a cabo en una centrifuga MLW, modelo Janetzki

T-23. Los tubos de centrifuga eran de polipropileno, de fondo cónico, con tapa y con una capacidad de 50 mL.

El resto de los equipos instrumentales de uso generalizado en un laboratorio de análisis, tanto para análisis de aguas como de sedimento, fueron:

- Agitador magnético, Agimat-S, Selecta (España).
- Balanza AA-160, Denver Instrument Company (EE.UU.) y Mettler H10 (0.1 mg) (EE.UU.).
- Campana de flujo laminar con filtro absoluto HEPA, Crumair 9005-FL, Cruma (España).
- Campana de flujo laminar con filtro ULPA, Series CSB (Clase II según EN12469): EuroAire, TDI s.a. (España).
- Estufa Contern Cod. 2000209, Selecta (España).
- Micropipetas de volumen variable, Wheaton, Aldrich (EE.UU.).
- Micropipetas de volumen fijo, Pipetman F, Gilson (Francia).
- Conductímetro-pHmetro 4330, Jenway (Reino Unido).
- Sonda multiparamétrica portátil (pH, T^a, Conductividad, oxígeno disuelto), Sension 156, Hach (EE.UU.).
- Manta de calentamiento Electromantle con regulación de la temperatura.

IV.2.1.2. Reactivos y disoluciones

El análisis de sustancias a nivel de trazas requiere un cuidado especial durante todo el tratamiento de las muestras previo a la determinación. Por ello, y para evitar la contaminación debida a los reactivos utilizados, se emplearon reactivos calidad para análisis y Suprapur. Estos últimos sobre todo para el análisis de metales en aguas, cuyas concentraciones son inferiores a los contenidos en sedimentos. Los productos Suprapur son de una pureza superior,

especialmente indicados para el análisis de trazas a nivel de $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (partes por billón).

A continuación, se destacan los reactivos, sustancias patrones y disoluciones preparadas:

Reactivos

- Acetato amónico ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$): P.A., Merck (Alemania)
- Acetato sódico (CH_3COONa): P.A., Merck (Alemania)
- Ácido acético glacial (CH_3COOH): P.A., Merck (Alemania)
- Ácido clorhídrico 37% (HCl): P.A., Merck (Alemania)
- Ácido clorhídrico 37% (HCl): Suprapure, Merck (Alemania)
- Ácido nítrico 65% (HNO_3): P.A., Merck (Alemania)
- Ácido nítrico 65% (HNO_3): Suprapure, Merck (Alemania)
- Ácido sulfúrico 97% (H_2SO_4): P.A., Merck (Alemania)
- Clorhidrato de hidroxilamina, Merck (Alemania).
- Cloruro amónico (NH_4Cl): P.A., Merck (Alemania)
- Cloruro potásico (KCl); P.A., Merck (Alemania)
- Cloruro sódico (NaCl): P.A., Merck (Alemania)
- Dimetilglioxima, sal sódica octahidratada (DMG), Merck (Alemania).
- Etanol 96% ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) : P.A., Merck (Alemania)
- Hidróxido amónico 30% (NH_4OH) : P.A., Merck (Alemania)
- Hidróxido amónico 30% (NH_4OH) : Suprapure, Merck (Alemania).
- Hidróxido sódico (NaOH): P.A., Merck (Alemania)
- Hidróxido sódico (NaOH); Suprapure, Merck (Alemania).
- Peróxido de Hidrógeno Riedel-de Haën (Extra Puro) al 30% y $d=1.11 \text{ Kg/L}$.

Disoluciones patrón

- Aluminio: $1,000 \pm 0,002 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en 2-3% HNO_3 , ICP-MS Suprapur, Merck (Alemania).
- Cadmio: $1,000 \pm 0,002 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en 0,5 M HNO_3 , AAS Suprapur, Merck (Alemania).
- Cobalto: $1,000 \pm 0,002 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en 2,5% HNO_3 , ICP-MS Suprapur Merck (Alemania).
- Cobre: $1,000 \pm 0,002 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en 2-3% HNO_3 , ICP-MS Suprapur, Merck (Alemania).
- Cromo: $1,000 \pm 0,002 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en 0,5 M HNO_3 , AAS Suprapur, Merck (Alemania).
- Hierro: $1,000 \pm 0,002 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en 0,5 M HNO_3 , AAS Suprapur, Suprapur Merck (Alemania).
- Níquel: $1,000 \pm 0,002 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en 2,5% HNO_3 , ICP-MS Suprapur, Panreac (España).
- Manganeso: $1,000 \pm 0,002 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en 2,5% HNO_3 , ICP-MS Suprapur, Suprapur Merck (Alemania).
- Plomo: $1,000 \pm 0,002 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en 2,5% HNO_3 , ICP-MS Suprapur, Suprapur Merck (Alemania).
- Zinc: $1,000 \pm 0,002 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en 0,5 M HNO_3 , AAS Suprapur, Merck (Alemania).
- Patrón interno multielemental (^6Li , ^{45}Sc , ^{89}Y , ^{115}In , ^{159}Tb , ^{165}Ho , ^{209}Bi , ^{103}Rh): $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en 2% HNO_3 , ICP-MS, AccuStandar Inc. (EE.UU.)

Disoluciones

Todas las disoluciones utilizadas en los análisis de metales en aguas fueron preparadas utilizando agua purificada por ósmosis inversa en un equipo Elix 3 (MILLIPORE) seguido de desionización con un equipo Milli-Q⁵⁰ (MILLIPORE, $R > 18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}^{-1}$) de purificación de

agua de calidad reactivo. Toda la manipulación se realizó en atmósfera limpia mediante el uso de campana de flujo laminar.

En el caso de las determinaciones en sedimentos, se empleó agua bidestilada preparada en un bidestilador Aquatron A4D.

1) *Disoluciones para ASV*

- Disolución electrolito KCl/CH₃COONa: con objeto de facilitar los procesos voltamperométricos, se adicionaron a las muestras electrolito soporte, siendo este una disolución de cloruro de potasio-acetato de sodio de concentración 0,5 mol·L⁻¹ y pH = 4,6 ± 0,2. Los valores de pH se consiguieron añadiendo base hasta obtener el valor adecuado para el análisis.

2) *Disoluciones para AdCSV*

- Disolución electrolito NH₃/NH₄Cl: en este caso el electrolito soporte es una disolución de amoníaco-cloruro de amonio de concentración 2 mol·L⁻¹ en NH₃ y 1 mol·L⁻¹ en NH₄Cl y pH = 9,5 ± 0,2. Los valores de pH se consiguieron añadiendo base hasta obtener el valor deseado.
- Disolución quelatante Na₂DMG: para la determinación de níquel y cobalto por voltametría de redisolución catódica adsorptiva, es necesario la formación de un quelato metálico que se adsorba en la superficie de la gota. Para ello se utilizó una disolución etanólica de la sal disódica de la dimetilglioxima octahidratada de concentración 0,1 mol·L⁻¹, de gran capacidad complejante para estos dos metales. La disolución etanólica fue preparada semanalmente.

3) *Disoluciones patrón secundarias*

Las disoluciones patrones secundarios se prepararon por apropiada dilución de los respectivos patrones primarios de cada elemento a determinar. Estas disoluciones se prepararon en medio ácido, añadiendo HNO₃ *Suprapur* (Merck, Alemania) hasta una concentración final de 0,05 mol·L⁻¹. Además, con objeto de evitar contaminación debida al vidrio se emplearon matraces aforados de plástico TPX. Las

disoluciones de concentración inferior a $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ fueron preparadas diariamente.

Para la aplicación del esquema de extracción secuencial se prepararon las siguientes disoluciones:

- *Ácido Acético, 0,11 mol/L*: se añaden, en una campana, $25\pm 0,2$ mL de ácido acético glacial a aproximadamente 0,5 L de agua bidestilada en un matraz volumétrico de 1 L y se enrasa. Se toman 250 mL de esta disolución (ácido acético, 0,43 mol/L) y se diluye a 1 L con agua bidestilada obteniéndose una solución de ácido acético de 0,11 mol/L.
- *Clorhidrato de Hidroxilamina, 0,1 mol/L*. Se disuelven 34,75 g de clorhidrato de hidroxilamina en 400 mL de agua bidestilada. Se transfiere la disolución a un volumétrico de 0,5 L, y se adiciona, con ayuda de una pipeta volumétrica, 25 mL de HNO_3 de concentración 2 mol/L. Se diluye hasta 0,5 L con ayuda de agua bidestilada. Esta disolución se prepara el mismo día en que se va a llevar a cabo el proceso de extracción.
- *Peróxido de Hidrógeno, 8,8 mol/L*. Se utiliza el peróxido de hidrógeno tal como se oferta por el fabricante, o estabilizado con ácido a pH 2-3.
- *Acetato de Amonio, 1,0 mol/L*. Se disuelven 77,08 g de acetato de amonio en 900 mL de agua bidestilada. Se ajusta el pH a $2,0\pm 0,1$ con HNO_3 concentrado y se diluye hasta 1 L con agua bidestilada.

Todas las disoluciones de los reactivos y los estándares se guardaron en frascos de polietileno.

IV.2.1.3. Condiciones de trabajo: técnicas de ultralimpieza y mantenimiento del material

Un aspecto de gran importancia en los estudios sobre la distribución y comportamiento de elementos traza, y en concreto de los metales

pesados, radica en que, dados los bajos niveles de concentración que pueden llegar a presentar, sobre todo en las muestras acuosas, es necesario tomar singulares precauciones desde el punto de vista analítico para alcanzar resultados seguros, fiables y exactos.

Para ello, se ha de prestar especial atención tanto en evitar la contaminación de la unidad ambiental desde su muestreo hasta su análisis, así como en prever la pérdida de analito por una conservación y tratamiento inadecuado de la misma. Esta situación ha quedado constatada por los sucesivos descensos en los datos publicados a medida que han mejorado las técnicas de análisis limpias, invalidando, en ocasiones, los resultados obtenidos antes de mediados de la década de los 70, cuando estas técnicas empezaron a ser consideradas, a la vez que se han mejorado sustancialmente los límites de detección por el desarrollo de nuevos métodos de análisis.

Por estas razones, durante toda la fase experimental se aplicaron condiciones de ultralimpieza (Allen, 2000). En todo momento se trabajó usando doble guante de plástico para el manejo del material. En el laboratorio la limpieza del material y el tratamiento de las muestras se realizó en atmósfera limpia por medio de campanas de flujo laminar clase 100 (Crumair 9005-FL, con filtro absoluto HEPA, Cruma, España).

Entre las condiciones de extrema limpieza hay que destacar el lavado al que fue sometido todo el material empleado. A continuación se detallan los procedimientos y secuencias de lavado seguidos:

Procedimiento general de limpieza del material de laboratorio

- 1- El material fue lavado en primer lugar con agua y jabón.
- 2- Tras ser adecuadamente enjuagado con agua corriente, el material se enjuagó una vez más con agua destilada. Posteriormente fue lavado con HNO_3 ($2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) tanto por fuera como por dentro; para ello se emplearon pequeñas porciones de ácido que se hicieron pasar por toda la superficie, repitiendo la operación al menos tres veces y descartando el ácido empleado.

- 3- Se enjuagó tres veces con agua destilada para retirar los restos de ácido.
- 4- Posteriormente se procedió a sumergir el material en baño cerrado de HNO_3 ($2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) durante al menos una semana. Este ácido se preparó utilizando agua desionizada MQ como disolvente y se renovó, al menos, una vez al mes en función de su uso.
- 5- Tras sacarlo del baño de ácido, el material se enjuagó cuatro veces con agua desionizada (MQ) y secó en campana de flujo laminar.
- 6- Por último, se almacenó protegido dentro de bolsas de plástico transparente hasta su utilización.

El lavado debió realizarse por al menos dos personas, de forma que la persona que abría y manipulaba el material sólo tocaba éste cubriendo sus manos con doble guante de plástico, mientras que la segunda persona actuaba como auxiliar y su labor era manejar todo el resto del material necesario para la limpieza: tarros de agua desionizada MQ, contenedores de ácido, abrir y cerrar los baños de ácido, manipular la campana de flujo laminar etc., con la premisa de que el auxiliar no debía tocar nunca el material que se estaba limpiando.

El procedimiento de limpieza descrito fue usado tanto para matraces, pipetas, puntas de micropipetas, reactores de teflón, portafiltros, embudos, probetas, etc.

Procedimiento de limpieza de los recipientes de toma de muestras

Para la toma de muestras de agua se emplearon botellas de polietileno de baja densidad de 0,5 L de capacidad (código BNL0500PN, Azlon, U.K.) provistas de tapa roscada. En estos recipientes se transportaron y almacenaron las muestras hasta su análisis. El tratamiento de limpieza aplicado a este material fue diferente a partir del punto 5 del procedimiento general de lavado descrito

anteriormente. Las botellas se llenaron con HCl 3 mol·L⁻¹ sumergiéndose cerradas en un bidón, de plástico opaco y 50 L de capacidad, que contenía HCl 0,1 mol·L⁻¹, el bidón se cerró y precintó manteniéndolas en la oscuridad durante un periodo mínimo de seis semanas. Justo antes de realizar la toma de muestras, las botellas fueron enjuagadas 5 veces con agua desionizada MQ introduciéndolas en doble bolsa de plástico con autocierre para su traslado hasta el punto de muestreo.

En los análisis de sedimento, las medidas de limpieza fueron menos drásticas. Así, el material de laboratorio y los recipientes para la toma de muestra se lavaron con detergente y se enjuagaron con suficiente agua corriente y agua bidestilada. Posteriormente se dejó en contacto con una disolución de HNO₃ 4 mol/L durante al menos 24 horas. Finalmente se enjuagó con agua bidestilada.

IV.2.2. Toma de muestra

La toma de las muestras se llevó a cabo de acuerdo con la Norma Cubana [NC, 1987]. Se seleccionaron 4 puntos de muestreo los cuales fueron situados a más de 100 metros de la carretera más cercana. La ubicación de estos puntos se muestra en la Figura IV.5. y fue la siguiente: uno en la Ensenada de Guasabacoa (Punto RMP-0) y los otros tres aguas arriba, correspondiendo los mismos a una zona cercana a la desembocadura (Punto RMP-1), uno cercano al nacimiento del río (Punto RMP-3) y un punto intermedio (Punto RMP-2). De igual forma se ilustran estos puntos de muestreo en las figuras IV.6., IV.7., IV.8. y IV.9.

Los muestreos se realizaron en dos etapas, en primer lugar se procedió al estudio de la composición y especiación metálica de los sedimentos (enero de 1999) y posteriormente, se procedió al estudio de la contaminación de metales en aguas (2005-2006).

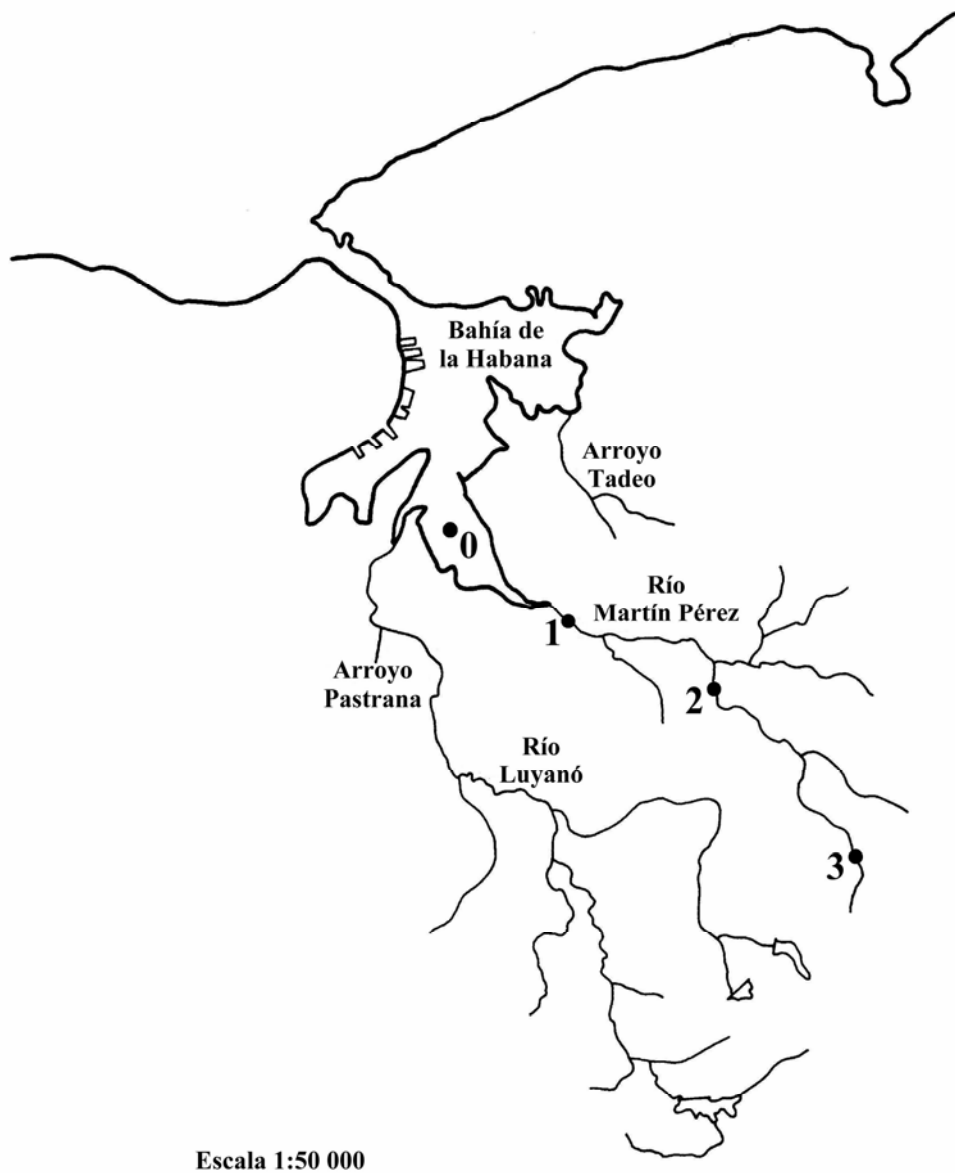


Figura IV.5. Situación de los puntos de muestreo.



Figura IV.6. Punto de muestreo RMP-3



Figura IV.7. Punto de muestreo RMP-2



Figura IV.8. Punto de muestreo RMP-1



Figura IV.9. Punto de muestreo RMP-0

Teniendo en cuenta las variaciones estacionales se procuró hacer la toma de las muestras de agua en ambas épocas del año, para tener una idea aproximada de cómo podía influir el régimen de lluvias, sobretodo en el contenido de metales pesados en las aguas del río Martín Pérez y de la ensenada de Guasabacoa, pues los sedimentos presentan una composición más estable en el tiempo.

Así, las fechas de realización de los muestreos de aguas fueron:

1^a Toma de muestras: marzo de 2005.

2^a Toma de muestras: octubre de 2005.

3^a Toma de muestras: enero de 2006.

En la primera toma de muestras realizada en marzo de 2005 no se pudo realizar la toma de muestras en la ensenada de Guasabacoa por dificultades con la embarcación.

Estas tomas de muestras permitieron establecer una variación espacio-temporal de los niveles de metales pesados encontrados en las

aguas muestreadas tanto en el río como en la ensenada de Guasabacoa.

Para la toma de muestras de agua superficiales se emplearon botellas de polietileno de baja densidad de 0,5 L de capacidad (código BNL0500PN, Azlon, U.K.), las cuales fueron sumergidas unos 20 cm por debajo de la superficie. Una vez realizada la toma de las muestras las mismas fueron preservadas con 1 mL de ácido nítrico Merck Suprapur, y las botellas fueron guardadas en bolsas plásticas hasta su análisis. No fue necesario filtrar las muestras, pues se iban a determinar los contenidos metálicos totales en las aguas.

En los puntos de toma de las muestras se midieron *in situ* algunos parámetros fisico-químicos de las aguas.

La toma de muestra de sedimentos se puede realizar con diferentes tipos de muestreadores. Para sedimentos superficiales éstos pueden ser de caja y jaiba o dragas. Estas últimas, en general, son más sencillas de operar y de ellas, la Van Veen ha demostrado su versatilidad y utilidad para los 10-20 cm superiores en diferentes tipos de sedimentos. Por ello, en este trabajo se tomaron muestras de sedimento superficial, que se colectaron a más de 1 metro de la orilla, con este tipo de draga (Figura IV.10.).



Figura IV.10. Draga tipo Van Veen.

Las muestras recogidas se almacenaron en recipientes plásticos y se trasladaron inmediatamente al laboratorio, donde se mantuvieron congeladas hasta su liofilización para evitar la actividad biológica y prevenir cualquier transformación química o alteración de la materia orgánica. Posteriormente se tamizaron con tamices de nylon y un equipo de tamizado de la MLW y se utilizó para las determinaciones la fracción menor de 63 μm .

IV.2.3. Análisis de las muestras de sedimento

IV.2.3.1. Tratamiento previo

Para el tratamiento previo de las muestras, antes de ser analizadas, deben considerarse dos aspectos relacionados entre sí:

a) *Tamizado*

Los sedimentos se encuentran formados por partículas de diferente tamaño, criterio mediante el cuál son clasificados desde el punto de vista granulométrico (Tabla IV.3.). Aunque existen excepciones, ha sido ampliamente demostrado que los metales pesados tienden a acumularse en la fracción pelítica, constituida por cieno y arcilla (Förstner, 1979; Salomons, 1984; Araújo, 1988; Páez-Osuna, 1987; Sakai, 1986).

Por ello, se ha convertido en una práctica habitual el emplear esta fracción para disminuir las variaciones que en el contenido de metales pudieran estar dadas por las diferencias en la composición textural de las muestras. Inclusive, autores que analizan el contenido metálico total del sedimento (con la lógica exclusión de la grava y de los desechos orgánicos), emplean una corrección o normalización sobre la base de variables relacionadas con la anterior fracción (González, 1989).

Tabla IV.3. Clasificación granulométrica de los sedimentos (en μm).

ARCILLA	CIENO-LIMO	ARENA	GRAVA	REFERENCIA
<2	2-50 2-63	50-2000 63-2000	>2000	Bellair, 1977
<4	4-62	62-125 (muy fina) 125-250 (fina) 250-2000 (media/gruesa)	>2000	Buchanan, 1971
<2	2-60	>60		Helios, 1983
<2.8	2,8-44	44-1400	>1400	Amore, 1983
<2	2-63	>63		Muller, 1980

Otras fracciones más finas han sido empleadas, pero esto presenta diversos inconvenientes por lo que Loring (Loring, 1988) propuso utilizar la fracción $<63\mu\text{m}$ y así reafirma lo planteado por Salomons (Salomons, 1984) sobre las ventajas de emplear esta fracción, entre las que se encuentran:

- Los metales traza se encuentran presentes fundamentalmente en las partículas de arcilla y limo o cieno.
- Esta fracción es casi equivalente al material en suspensión (que es el más importante modo de transporte de sedimentos).
- El tamizado no altera las concentraciones de metales, especialmente si se hace por vía húmeda con agua del área.
- Numerosos estudios han sido realizados con esta fracción lo que facilita la comparación de los resultados.

El tamizado puede realizarse de dos formas: se hace con la muestra húmeda o después de secada, y ambas alternativas tienen ventajas e inconvenientes. En el primer caso no hay alteración granulométrica de la muestra (Charlou, 1983) y resulta adecuado realizarlo con agua del sitio de colecta. No obstante inconvenientes de orden práctico, han hecho emplear agua corriente o destilada con ajuste de pH, lo que ha

sido criticado como fuente de contaminación o pérdidas. El tamizado seco pudiera alterar la granulometría inicial en función de las características de la muestra y de la intensidad de la trituración a que ésta se someta (Charlou, 1983), pero por las facilidades de manipulación es ampliamente utilizado.

El material de los tamices no parece ser fundamental en el tamizado seco pues las probabilidades de interacción sólido-sólido son difíciles (Talbot, 1983), pero al realizarse por vía húmeda, a pesar de que Huggett y colaboradores (Huggett, 1975) no encontraron inconvenientes con el acero inoxidable, se demostró posteriormente los problemas de contaminación ocasionados por tamices metálicos (Robbe, 1983) y hoy en día puede señalarse que es mayor el empleo de materiales plásticos.

b) Secado

Su objetivo es la conservación prolongada del sedimento sin que ocurran alteraciones ni sea necesaria la congelación. Las condiciones de temperatura y tiempo, especialmente la primera, parecen ser arbitrarias, y se usan desde la temperatura ambiente hasta 110 °C. No parece que existan pérdidas para elementos no volátiles, pero se hace necesario controlar la temperatura si se desean analizar elementos como el mercurio, dada su volatilidad y la de sus compuestos, por lo que muchos emplean temperaturas más bajas cuyo límite máximo no sobrepasa los 60 °C. No obstante, han sido utilizadas temperaturas hasta de 110 °C con resultados contradictorios sobre posibles pérdidas (González, 1989).

La preservación de suelos y sedimentos secados al aire facilita el manejo de las muestras, su homogeneización y la toma de submuestras representativas. Se ha demostrado que la estabilidad temporal de muchos metales pesados y otros elementos traza (medidos por extracción química de suelos con EDTA y ácido acético y por extracción secuencial de sedimentos) se preserva invariable durante meses e incluso durante años (Ure, 1994).

La liofilización, donde las modificaciones estructurales son mínimas, por lo que no influyen notablemente en los resultados (Charlou, 1983), elimina los inconvenientes antes mencionados y ha sido recomendada desde décadas anteriores (Olausson, 1975), incluso en la determinación de mercurio.

Por todo ello, en los análisis realizados en esta Tesis Doctoral, las muestras de sedimento fueron liofilizadas y tamizadas con tamiz de nylon de paso de luz de 63 μm .

IV.2.3.2. Contenido en materia orgánica, humedad y carbonatos en los sedimentos

En las muestras se analizó el contenido total de materia orgánica (MO) mediante el método gravimétrico de pérdida de peso por volatilización a 550 °C (González, 1989), (Bagrat, 1965). Se llevó a cabo la determinación del contenido total de carbonatos (CaCO_3) mediante el método de valoración ácido-base con detección potenciométrica del punto final (Bagrat, 1965). Por último, se determinó la humedad mediante el método gravimétrico de pérdida de peso a 105 °C (ISO, 1993).

En la Tabla IV.4. se muestran los resultados obtenidos. Con el valor de la humedad del sedimento se expresan los resultados de MO y carbonato respecto del contenido de masa seca. Como se puede apreciar hay un aumento del contenido de MO de las muestras desde el nacimiento del río hasta la desembocadura en la Ensenada de Guasabacoa. Igual comportamiento se observa en el contenido de carbonatos del punto RMP-3 al RMP-1, aunque en el punto RMP-0 es más bajos que en el punto RMP-1.

La tendencia observada en los contenidos de MO es lógica debido al incremento de la densidad poblacional y al aumento del número de industrias en las zonas cercanas a la desembocadura del río, por lo que la carga contaminante, fundamentalmente orgánica, que recibe este cuerpo receptor es mayor en este sector.

Tabla IV.4. Características de los sedimentos

Punto de Muestreo	Humedad ^a (%)	Materia Orgánica ^a (%)	Ca CO ₃ ^a (%)
RMP-0	9,16	16,31	28,74
RMP-1	5,89	13,89	43,04
RMP-2	9,10	6,48	23,81
RMP-3	9,04	6,19	20,53

^a n (número de réplicas) = 2

IV.2.3.3. Análisis por difracción de Rayos X

Se realizó el análisis por Rayos X de las cuatro muestras antes de ser sometidas al procedimiento de extracción secuencial, así como a los residuos de cada una de ellas una vez finalizada cada etapa de extracción.

Todas las muestras fueron pulverizadas en mortero de ágata hasta conseguir un tamaño de partícula adecuado para este tipo de análisis.

Se utilizó radiación de CuK α ($\lambda = 1,54183\text{\AA}$) filtrada con Ni y se registró un intervalo angular de 4 a 60° en 2 θ ; para estos registros se usó el sistema de "paso a paso" con un tamaño de paso angular de 0,05° en 2 θ y 3 segundos de tiempo de conteo en cada paso. En el caso de las muestras después del tercer paso de extracción, se utilizó radiación FeK α ($\lambda = 1,9306\text{\AA}$) filtrada con Mn y se registró un intervalo angular de 6 a 70° en 2 θ , con un tamaño de paso angular de 0,05° en 2 θ y 3 segundos de tiempo de conteo. Este régimen de análisis fue el resultado de un diseño de experimento que permitió obtener los máximos de difracción de todas las fases presentes hasta un porcentaje en peso menor al 3%. Se introdujeron correcciones a las posiciones de todos los máximos de difracción mediante el uso del método del patrón externo; para ello se usó un patrón certificado de Si. La alineación del difractómetro fue chequeada usando un patrón estándar externo de silicio del Instituto Nacional de Estándar y

Tecnología NIST-SRM-640b con parámetro de celda $a=5,430940$ (35) Å (6) a 25 °C, siguiendo el procedimiento descrito por Pomés (Pomé, 1997).

En las Figuras IV.11., IV.12., IV.13. y IV.14 se muestran los diagramas de difracción de Rayos X para las muestras de cada uno de los puntos antes de aplicárseles el tratamiento de extracción secuencial, y para los residuos de cada una de las tres etapas de este procedimiento. Cada uno de los difractogramas se identifica por dos números, el primero corresponde al tratamiento y el segundo al punto de muestreo. Para el análisis de fase de las muestras los difractogramas fueron procesados usando el programa XPAS (Singh, 1992) y la identificación de las mismas se realizó con la ayuda de una base de datos (JCPDS, 1997).

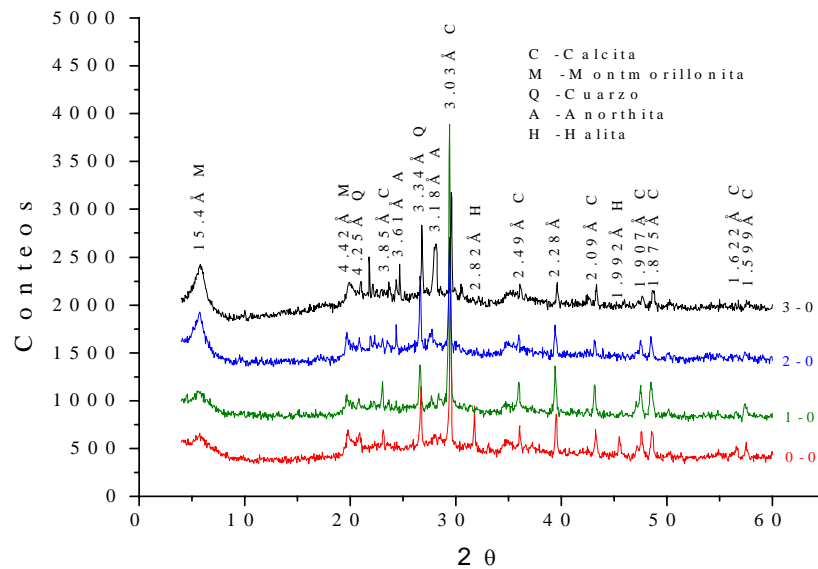


Figura IV.11. Difractograma de la muestra del Punto RMP-0.

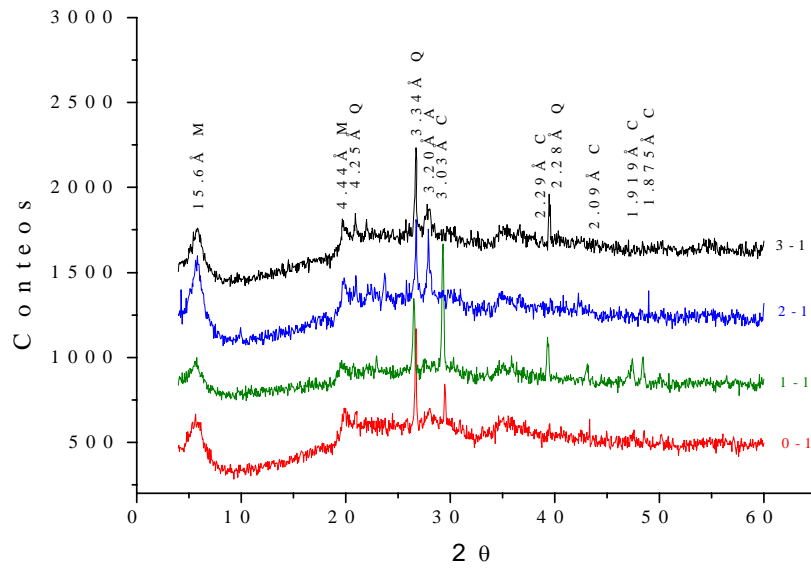


Figura IV.12. Difractograma de la muestra del Punto RMP-1.

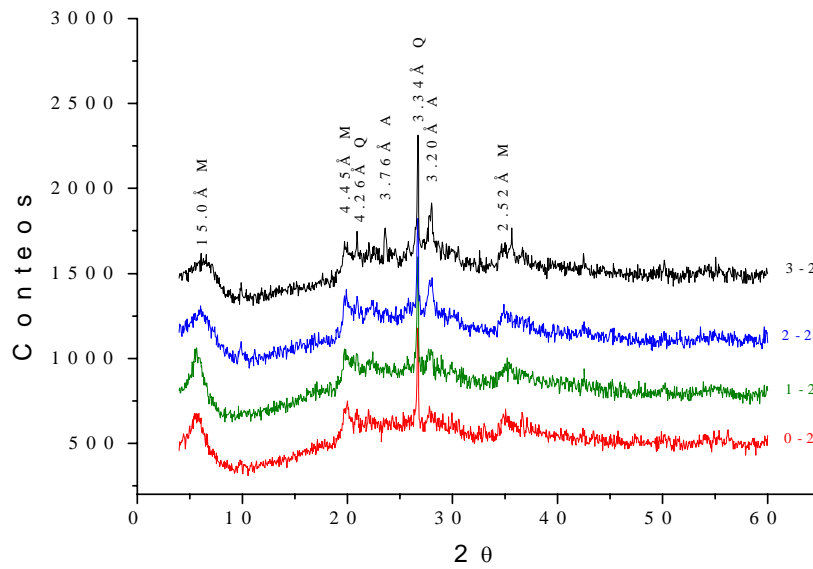


Figura IV.13. Difractograma de la muestra del Punto RMP-2.

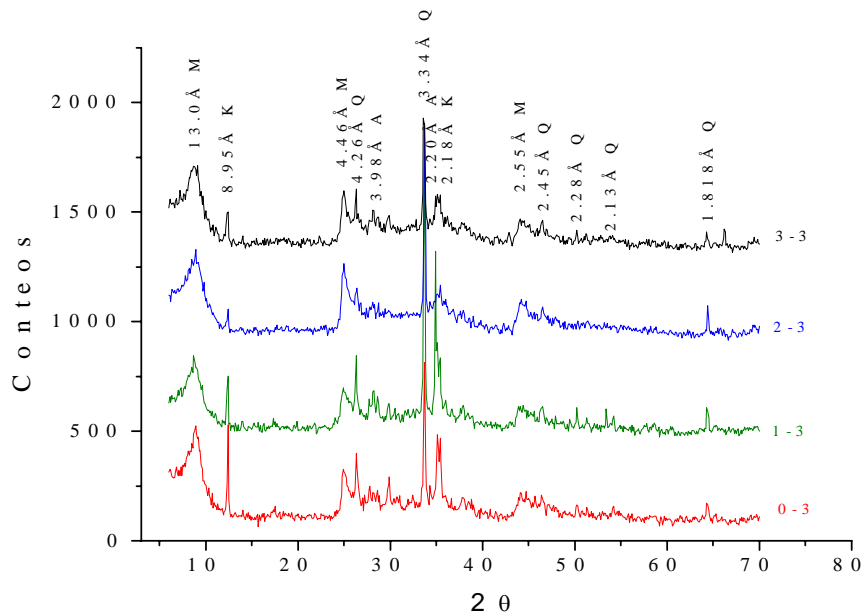


Figura IV.14. Difractograma de la muestra del Punto RMP-3.

De estos análisis por difracción de Rayos-X se obtuvieron los siguientes resultados:

Difracción del sedimento de la estación de muestreo RMP-0

La muestra antes de ser sometida al tratamiento de extracción secuencial está compuesta por las siguientes fases: calcita (CaCO_3), halita (NaCl), cuarzo (SiO_2), montmorillonita ($\text{Na}_{0.3}(\text{Al}, \text{Mg})_2\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) y klyuchevskita $\text{K}_3\text{Cu}_3\text{FeO}_2(\text{SO}_4)_4$. No existen evidencias de la presencia de otras fases.

Después de aplicarse el primer paso de extracción el análisis por Rayos X del residuo evidenció la presencia de cuarzo, montmorillonita y calcita, pero la presencia de calcita disminuye en un 61% en

comparación con la muestra antes del tratamiento, y no se observa la presencia de halita.

Al realizarse el segundo paso extractivo se observa la presencia de cuarzo y montmorillonita. No se aprecia la presencia de calcita.

Al llevarse a cabo el tercer paso de la extracción se observa mejor la presencia de los máximos de la klyuchevskita. La intensidad de la klyuchevskita es mayor en esta muestra que en las demás. El resto de las fases se mantienen sin alteración.

Difracción del sedimento de la estación de muestreo RMP-1

La muestra está compuesta por calcita, cuarzo, montmorillonita y klyuchevskita. La calcita está en mayor proporción que en la muestra RMP-0, lo cuál concuerda con los resultados del análisis de CaCO_3 descritos anteriormente (Tabla IV.4.)

Al aplicarse la primera extracción secuencial, se observan las mismas fases que en la muestra RMP-0 después de este paso.

Después de realizarse la segunda extracción, la muestra es casi idéntica en composición a la muestra RMP-2 en esta fase.

El tercer paso del procedimiento no arrojó diferencias estructurales con respecto al paso anterior, excepto el aumento de la intensidad relativa de la klyuchevskita.

Difracción del sedimento de la estación de muestreo RMP-2

La muestra está formada por cuarzo, calcita, montmorillonita, klyuchevskita y anortita ($(\text{Ca}, \text{Na})(\text{Al}, \text{Si})_2 \text{Si}_2\text{O}_8$).

Después del primer paso de extracción se observan solamente las siguientes fases; cuarzo, montmorillonita y anortita.

Al aplicarse el segundo no se observan alteraciones en la composición de las fases, ni en el grado de cristalinidad.

Después del tercer paso de extracción no se aprecian variaciones estructurales respecto a los anteriores tratamientos, excepto el aumento de la intensidad relativa de la klyuchevskita.

Difracción del sedimento de la estación de muestreo RMP-3

La muestra tiene la misma composición inicial y después de la primera y segunda extracción que la muestra RMP-2.

Después de aplicarse el tercer paso extractivo no se aprecian variaciones estructurales respecto a los anteriores tratamientos, excepto el aumento de la intensidad relativa de la klyuchevskita.

Como era de esperar la halita sólo se encuentra en el punto RMP-0, que corresponde a la Ensenada de Guasabacoa, con una mayor salinidad de sus aguas. La presencia de halita favorece la cristalinidad de la mezcla de fases que componen el sedimento, por eso el grado de cristalinidad es mayor en esta muestra que en el resto (Chernov, 1980), a pesar de que el mayor contenido de MO también se encontró en este punto. En los restantes puntos que corresponden al lecho del río no se evidencia presencia de halita y si de materia orgánica (ver Tabla IV.4.), lo que provoca una tendencia a la disminución del grado de cristalinidad de los sedimentos.

Los tratamientos realizados a las muestras tienden a disminuir el grado de cristalinidad como se aprecia en las Figuras IV.11. a IV.14.

El primer paso extractivo elimina completamente la fase calcita en las muestras de los puntos RMP-2 y RMP-3, no siendo así en los puntos RMP-0 y RMP-1, pues son los que mayor contenido de CaCO_3 presentan (Tabla IV.4.).

IV.2.3.4. Especiación metálica de los sedimentos

Las muestras se sometieron a dos procesos de extracción:

a) Procedimiento de extracción secuencial BCR

Es un proceso de extracción secuencial en tres etapas, recomendado por el Bureau Community of Reference (BCR) (Ure, 1993a), que emplea ácido acético, clorhidrato de hidroxilamina y acetato de amonio como agentes extractantes. Este protocolo fue

modificado posteriormente por la Comunidad Europea con la finalidad de eliminar posibles fuentes de falta de reproducibilidad (López-Sánchez, 1998; Quevauviller, 1997; Rauret, 1999; Sahuquillo, 1999; Ure, 1997), por lo que se tuvieron en cuenta en la realización de nuestro trabajo todas estas sugerencias de modificación del protocolo original.

En la Tabla IV.5. se muestra de forma resumida el esquema de extracción secuencial, los extractantes y las fases (nominalmente) extraídas.

Tabla IV.5. Esquema de extracción secuencial "BCR"

EXTRACCIÓN	EXTRACTANTE	FASE EXTRAÍDA
Fase 1	Acido Acético 0,11 mol.L ⁻¹	Intercambiable
Fase 2	NH ₂ OH.HCl 0,1 mol.L ⁻¹ pH=2	Óxidos de Fe y Mn Reducibles
Fase 3	a) Peróxido de Hidrógeno 8,8 mol.L ⁻¹ b) CH ₃ COONH ₄ 1 mol.L ⁻¹ pH=2	Materia Orgánica Oxidable y Sulfuros

A continuación se describen cada uno de los pasos del protocolo de extracción secuencial BCR modificado:

- **Fase 1:** Agregue 40 mL de disolución de ácido acético 0,11 mol/L, a 1 g de sedimento en un tubo de centrifuga de 100 mL, tápelo y extraiga agitando durante 16 horas a 22±5 °C en un agitador del tipo "end-over-end" a una velocidad de 30±10 rpm. Separe el extracto del residuo sólido por centrifugación a 3000 rpm durante 20 minutos y decante el líquido sobrenadante hacia un recipiente de polietileno. Tape el recipiente y analice el

extracto inmediatamente o guárdelo en refrigeración a una temperatura alrededor de 4 °C hasta su posterior análisis. Lave el residuo añadiendo 20 mL de agua bidestilada y agitando durante 15 minutos y centrifugue a la misma velocidad y durante el mismo tiempo inicial. Decante y deseche el sobrenadante, teniendo cuidado de no desechar ninguna porción del residuo sólido.

En nuestro caso, debido a que no contamos con el agitador que se describe en el protocolo, se utilizó para este propósito un agitador horizontal controlando la velocidad de agitación para que fuera reproducible y lo más cercana posible a la descrita en el procedimiento. Para esto se tomaron en cuenta los resultados de los estudios interlaboratorios para la estandarización del procedimiento de extracción secuencial (BCR) (López-Sánchez, 1998; Quevauviller, 1994, 1997; Rauret, 1999; Sahuquillo, 1999).

- **Fase 2:** Agregue 40 mL de disolución 0,1 mol/L de cloruro de hidroxilamina recientemente preparada al residuo de la fase 1 en el tubo de centrifuga. Tápelo y resuspenda el residuo mediante agitación manual. A continuación se sigue el mismo procedimiento de extracción descrito en la fase anterior.
- **Fase 3:** Adicione, en pequeñas alícuotas para evitar pérdidas debidas a la reacción violenta, 10 mL de disolución de peróxido de hidrógeno 8,8 mol/L, al residuo de la extracción 2^a en el tubo de centrifuga. Tape ligeramente el recipiente con su tapa y digiera a temperatura ambiente durante una hora, con agitación manual ocasional. Continúe la digestión durante una hora a 85±2 °C en un baño de agua. Reduzca el volumen a menos de 3 mL por calentamiento adicional del tubo destapado. Adicione una nueva alícuota de 10 mL de peróxido de hidrógeno. Caliente nuevamente el recipiente tapado a 85±2 °C y digiera durante una hora. Quite la tapa y reduzca el volumen de líquido hasta cerca de 1 mL. Adicione 50 mL de disolución de acetato de amonio 1,0 mol/L, al residuo frío. Tápelo y resuspenda el

residuo mediante agitación manual. A continuación se sigue el mismo procedimiento descrito en la fase 1.

b) Extracción de metales traza solubles en agua regia

Este procedimiento fue propuesto por la Comisión Europea tanto para la determinación del contenido pseudototal de los sedimentos, así como para el residuo de la fase 3 del protocolo de extracción secuencial (Rauret, 1999; ISO, 1994; Ure, 1998).

Según el mismo, se pesan exactamente alrededor de 3 g de muestra seca y se introducen en el recipiente de reacción, que consistía en un matraz de fondo redondo de 250 mL con boca esmerilada y un condensador recto ajustado al matraz, con una longitud de enfriamiento efectiva de al menos 200 mm. Igualmente se empleó una manta de calentamiento Electromantle para la regulación de temperatura. Se adiciona de 0,5 a 1,0 mL de agua bidestilada para obtener una suspensión y después se añaden con agitación, gota a gota si es necesario para reducir la formación de espuma, 21 mL de HCl 12 mol/L seguido de 7 mL de HNO₃ 15,8 mol/L. Se conecta el condensador de reflujo y se deja estar durante 16 horas a temperatura ambiente, para permitir la oxidación de la materia orgánica del sedimento. Se aumenta lentamente la temperatura de la mezcla reaccionante hasta alcanzar las condiciones de reflujo y se mantiene la misma durante dos horas, asegurándose de que la zona de condensación sea menor a un tercio de la longitud del condensador. Se deja enfriar lentamente a temperatura ambiente. Posteriormente se lava el interior del condensador con HNO₃ 0,5 mol/L y se colecta el HNO₃ en el recipiente de reacción. Se trasvasa cuantitativamente el contenido del frasco de reacción a un volumétrico graduado de 100 mL. Se lava el frasco de reacción con HNO₃ 0.5 mol/L y se transfiere el contenido al volumétrico. Se enrasa el volumétrico con agua bidestilada, se tapa y se agita. Después que la materia insoluble ha sedimentado, la disolución sobrenadante se podrá usar para la determinación final de los elementos.

Este mismo procedimiento se aplicó al residuo de la fase 3 del proceso de extracción secuencial del BCR. En este caso, deben reducirse las cantidades de ácido para tratar la muestra para mantener la misma proporción volumen/masa que en el protocolo anterior.

El contenido de metales en cada extracto del protocolo BCR se determinó por Espectrometría de Absorción Atómica con llama utilizándose en cada caso las condiciones instrumentales de mayor sensibilidad. Las determinaciones se llevaron a cabo de acuerdo con el protocolo del BCR y los resultados de los ejercicios de intercalibración.

Para conocer el contenido pseudototal de los elementos estudiados en los sedimentos y los residuos se aplicó el procedimiento descrito en la norma de la International Organization for Standardization (ISO) (ISO, 1998), para su determinación por Espectrometría de Absorción Atómica con llama.

En las Tablas IV.6. a IV.13. se muestran los resultados de los análisis de los contenidos de metales en los extractos. En las Figuras IV.15. a IV.22. se han representado los porcentajes correspondientes a cada fracción para Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn en los distintos puntos de muestreo.

De los contenidos totales obtenidos como valor suma de las extracciones secuenciales, se deduce que los sedimentos muestreados tienen un considerable nivel de contaminación.

Así, y comparando los datos de los metales analizados con los referenciados en la Tabla I.6.b. del capítulo I, se observa que el Cd supera los niveles guía de calidad del sedimento ISQG en todos los puntos muestreados y supera los niveles con efectos biológicos bajos ERL en todos los puntos menos en RMP-3, que está situado en el nacimiento del río, por lo que es lógico esperar que sea el punto menos contaminado. Estas mismas circunstancias se dan para el Cu.

Para Fe y Mn, solo se disponen de niveles de fondo, y éstos son superados para ambos metales en comparación con sedimentos carbonatados, no así si se comparan con los esquistos.

Tabla IV.6. Resultados del proceso de extracción secuencial y pseudototal para Cd ($\mu\text{g/g}$)

Muestra	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Residuo	Suma	Stotal	%
RMP-0	1,28 \pm 0,000	0,58 \pm 0,0	ND	ND	1,86 \pm 0,000	2,12 \pm 0,094	87,96 \pm 3,918
RMP-1	0,99 \pm 0,127	0,78 \pm 0,0	ND	ND	1,77 \pm 0,127	1,85 \pm 0,094	95,62 \pm 2,007
RMP-2	0,99 \pm 0,127	0,40 \pm 0,0	ND	ND	1,39 \pm 0,127	1,50 \pm 0,000	92,67 \pm 8,485
RMP-3	0,99 \pm 0,127	ND	ND	ND	0,99 \pm 0,127	1,16 \pm 0,106	85,32 \pm 3,175

Cada resultado es el valor medio de dos determinaciones.

ND = no detectable; Suma = Suma de todas las fracciones; Stotal = Pseudototal; % = % de recuperación.

228

Tabla IV.7. Resultados del proceso de extracción secuencial y pseudototal para Co ($\mu\text{g/g}$)

Muestra	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Residuo	Suma	Stotal	%
RMP-0	5,67 \pm 1,23	5,37 \pm 1,089	10,95 \pm 1,146	ND	21,99 \pm 1,004	23,16 \pm 0,813	97,94 \pm 1,002
RMP-1	5,67 \pm 1,23	9,22 \pm 0,0	7,69 \pm 1,146	ND	22,58 \pm 0,085	23,16 \pm 0,813	97,56 \pm 3,059
RMP-2	14,31 \pm 1,23	5,37 \pm 1,089	6,88 \pm 0,00	ND	26,56 \pm 2,319	25,62 \pm 0,849	103,59 \pm 5,623
RMP-3	17,17 \pm 1,216	8,45 \pm 1,089	6,88 \pm 0,00	ND	33,09 \pm 0,127	33,47 \pm 0,00	98,87 \pm 0,380

Cada resultado es el valor medio de dos determinaciones.

ND = no detectable; Suma = Suma de todas las fracciones; Stotal = Pseudototal; % = % de recuperación.

Tabla IV.8. Resultados del proceso de extracción secuencial y pseudototal para Cu ($\mu\text{g/g}$)

Muestra	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Residuo	Suma	Stotal	%
RMP-0	2,11 \pm 0,240	13,16 \pm 0,255	16,68 \pm 0,481	27,30 \pm 1,131	59,25 \pm 1,626	68,50 \pm 0,943	86,49 \pm 1,184
RMP-1	2,28 \pm 0,000	12,81 \pm 0,240	23,18 \pm 0,481	39,75 \pm 2,333	78,02 \pm 2,093	82,38 \pm 1,002	94,70 \pm 1,389
RMP-2	1,41 \pm 0,240	12,11 \pm 0,240	3,36 \pm 0,000	19,80 \pm 2,404	36,68 \pm 2,404	41,46 \pm 1,945	88,71 \pm 9,960
RMP-3	1,24 \pm 0,000	8,78 \pm 0,990	3,70 \pm 0,000	18,95 \pm 1,202	32,67 \pm 0,212	35,92 \pm 0,000	90,96 \pm 0,591

Cada resultado es el valor medio de dos determinaciones.

ND = no detectable; Suma = Suma de todas las fracciones; Stotal = Pseudototal; % = % de recuperación.

229

Tabla IV.9. Resultados del proceso de extracción secuencial y pseudototal para Fe ($\mu\text{g/g}$)

Muestra	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Residuo	Suma	Stotal	%
RMP-0	ND	2678,16 \pm 3,026	2730,83 \pm 1,570	11576,25 \pm 8,839	16985,24 \pm 13,435	16995,83 \pm 5,893	99,94 \pm 0,044
RMP-1	ND	1325,87 \pm 0,382	1337,72 \pm 0,481	10653,75 \pm 1,768	13317,34 \pm 0,905	13329,17 \pm 5,893	99,91 \pm 0,037
RMP-2	ND	5803,31 \pm 4,992	737,95 \pm 1,881	11291,25 \pm 19,445	17832,51 \pm 22,557	17829,17 \pm 17,678	100,02 \pm 0,027
RMP-3	ND	8345,86 \pm 8,683	1560,91 \pm 1,909	12273,75 \pm 15,910	22180,52 \pm 5,317	22191,67 \pm 11,785	99,95 \pm 0,029

Cada resultado es el valor medio de dos determinaciones.

ND = no detectable; Suma = Suma de todas las fracciones; Stotal = Pseudototal; % = % de recuperación.

Tabla IV.10. Resultados del proceso de extracción secuencial y pseudototal para Mn ($\mu\text{g/g}$)

Muestra	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Residuo	Suma	Stotal	%
RMP-0	1,48 \pm 0,000	62,17 \pm 1,032	31,03 \pm 0,156	145,80 \pm 0,849	240,48 \pm 0,339	246,25 \pm 3,536	97,67 \pm 1,264
RMP-1	1,29 \pm 0,099	76,79 \pm 1,032	13,11 \pm 0,438	171,95 \pm 0,919	263,14 \pm 0,424	266,67 \pm 3,536	98,69 \pm 1,468
RMP-2	4,44 \pm 0,085	107,45 \pm 1,032	13,11 \pm 0,438	199,45 \pm 0,778	324,45 \pm 0,778	322,92 \pm 3,536	100,48 \pm 0,859
RMP-3	167,69 \pm 0,438	177,93 \pm 0,099	23,11 \pm 0,438	509,85 \pm 0,212	878,58 \pm 0,990	879,17 \pm 3,536	99,93 \pm 0,514

Cada resultado es el valor medio de dos determinaciones.

ND = no detectable; Suma = Suma de todas las fracciones; Stotal = Pseudototal; % = % de recuperación.

230

Tabla IV.11. Resultados del proceso de extracción secuencial y pseudototal para Ni ($\mu\text{g/g}$)

Muestra	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Residuo	Suma	Stotal	%
RMP-0	8,97 \pm 0,297	11,26 \pm 0,000	13,3 \pm 0,085	ND	33,53 \pm 0,212	41,35 \pm 0,000	81,09 \pm 0,513
RMP-1	9,18 \pm 0,000	6,86 \pm 0,113	7,58 \pm 0,000	5,30 \pm 0,000	28,92 \pm 0,113	32,86 \pm 0,082	88,01 \pm 0,565
RMP-2	6,12 \pm 0,000	6,94 \pm 0,000	7,47 \pm 0,156	5,30 \pm 0,000	25,83 \pm 0,156	21,12 \pm 0,000	122,32 \pm 0,737
RMP-3	6,04 \pm 0,113	6,86 \pm 0,113	7,47 \pm 0,156	ND	20,37 \pm 0,156	14,37 \pm 0,000	141,79 \pm 1,083

Cada resultado es el valor medio de dos determinaciones.

ND = no detectable; Suma = Suma de todas las fracciones; Stotal = Pseudototal; % = % de recuperación.

Tabla IV.12. Resultados del proceso de extracción secuencial y pseudototal para Pb ($\mu\text{g/g}$)

Muestra	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Residuo	Suma	Stotal	%
RMP-0	$3,90 \pm 0,170$	$39,54 \pm 0,283$	ND	$16,40 \pm 0,707$	$59,84 \pm 0,255$	$59,81 \pm 0,247$	$100,05 \pm 0,012$
RMP-1	$3,78 \pm 0,000$	$26,05 \pm 0,184$	$49,20 \pm 0,566$	$153,20 \pm 0,424$	$232,23 \pm 0,325$	$233,71 \pm 1,827$	$99,37 \pm 0,916$
RMP-2	$3,90 \pm 0,170$	$22,00 \pm 0,000$	ND	$13,50 \pm 0,000$	$39,40 \pm 0,170$	$39,36 \pm 0,106$	$100,11 \pm 0,161$
RMP-3	$3,78 \pm 0,000$	$6,06 \pm 0,424$	ND	$10,70 \pm 0,707$	$20,54 \pm 0,283$	$20,89 \pm 0,082$	$98,32 \pm 1,742$

Cada resultado es el valor medio de dos determinaciones.

ND = no detectable; Suma = Suma de todas las fracciones; Stotal = Pseudototal; % = % de recuperación.

231

Tabla IV.13. Resultados del proceso de extracción secuencial y pseudototal para Zn ($\mu\text{g/g}$)

Muestra	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Residuo	Suma	Stotal	%
RMP-0	$0,90 \pm 0,000$	$0,38 \pm 0,000$	$0,18 \pm 0,000$	$190,75 \pm 1,061$	$192,21 \pm 1,061$	$194,17 \pm 3,536$	$99,00 \pm 1,256$
RMP-1	$0,75 \pm 0,071$	$0,87 \pm 0,099$	$0,18 \pm 0,000$	$265,00 \pm 7,071$	$266,80 \pm 7,043$	$269,17 \pm 5,893$	$99,12 \pm 0,447$
RMP-2	$0,85 \pm 0,071$	$0,18 \pm 0,000$	ND	$142,40 \pm 0,424$	$143,43 \pm 0,495$	$145,83 \pm 3,536$	$98,38 \pm 2,046$
RMP-3	$0,70 \pm 0,000$	ND	ND	$61,30 \pm 2,828$	$62,00 \pm 2,828$	$65,83 \pm 3,536$	$94,20 \pm 0,762$

Cada resultado es el valor medio de dos determinaciones.

ND = no detectable; Suma = Suma de todas las fracciones; Stotal = Pseudototal; % = % de recuperación.

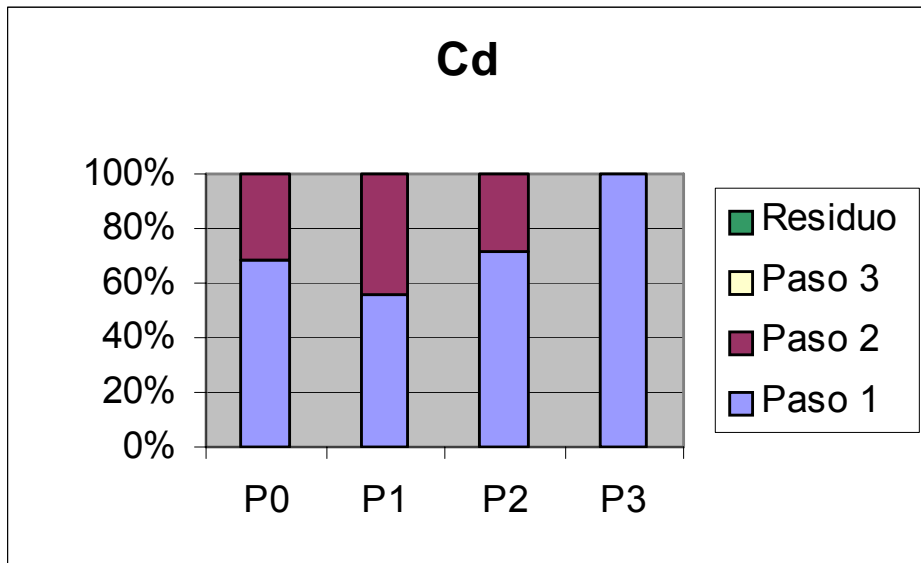


Figura IV.15. Especiación de Cd. Porcentajes obtenidos en cada fracción de la extracción secuencial

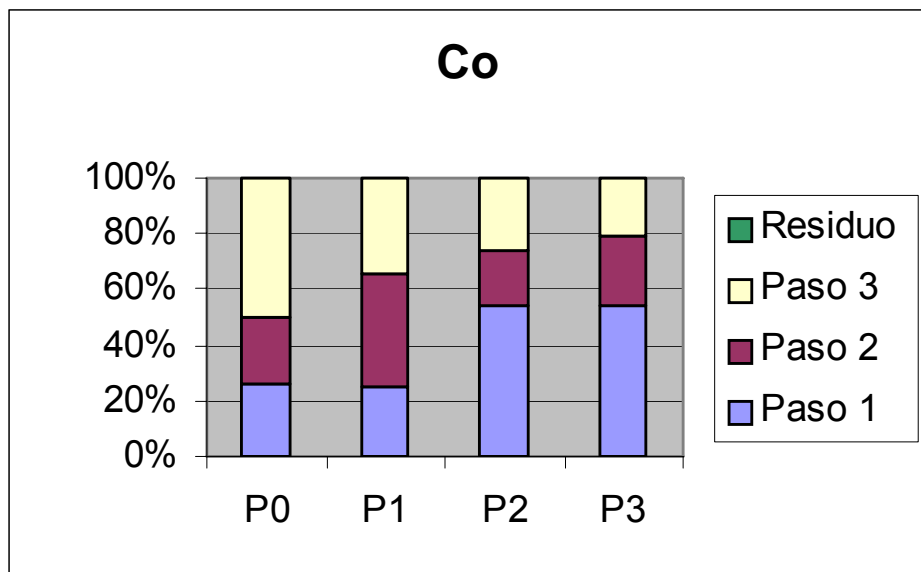


Figura IV.16. Especiación de Co. Porcentajes obtenidos en cada fracción de la extracción secuencial

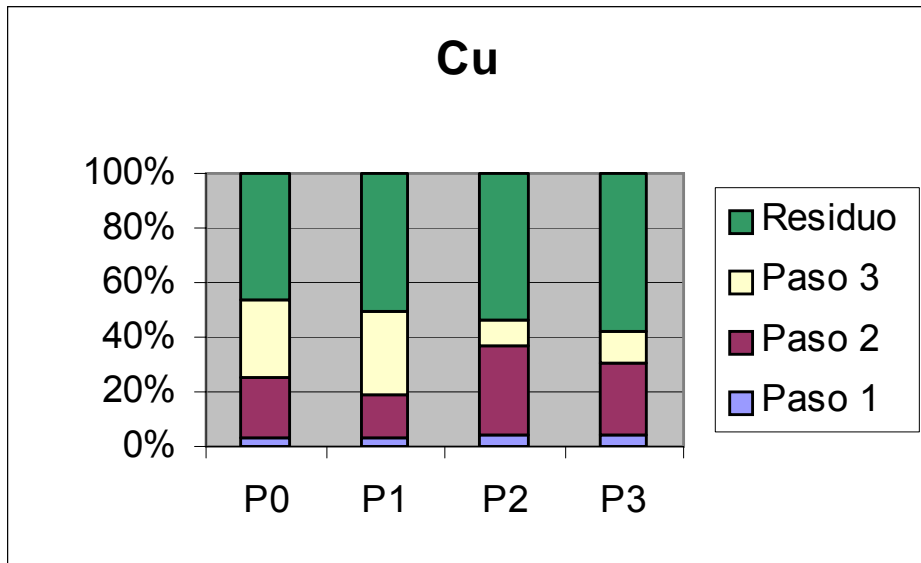


Figura IV.17. Especiación de Cu. Porcentajes obtenidos en cada fracción de la extracción secuencial

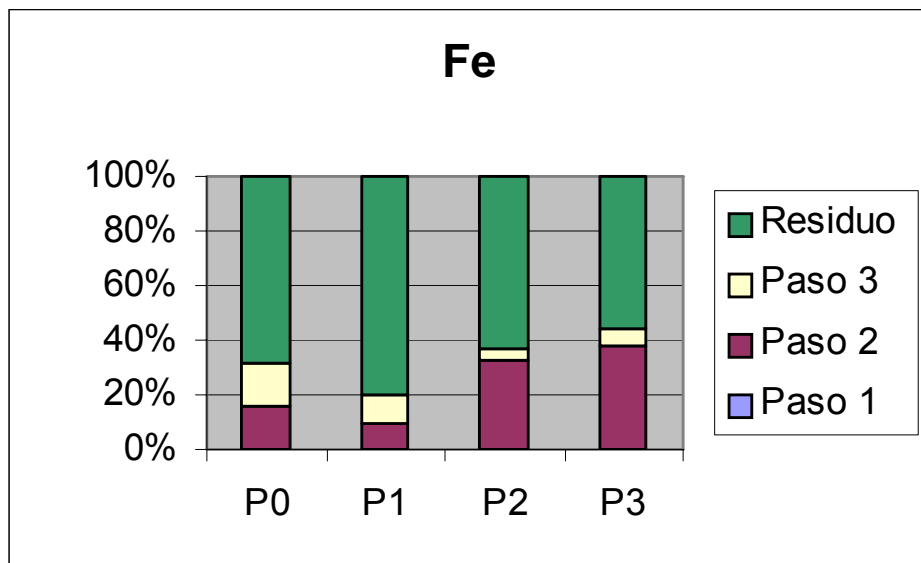


Figura IV.18. Especiación de Fe. Porcentajes obtenidos en cada fracción de la extracción secuencial

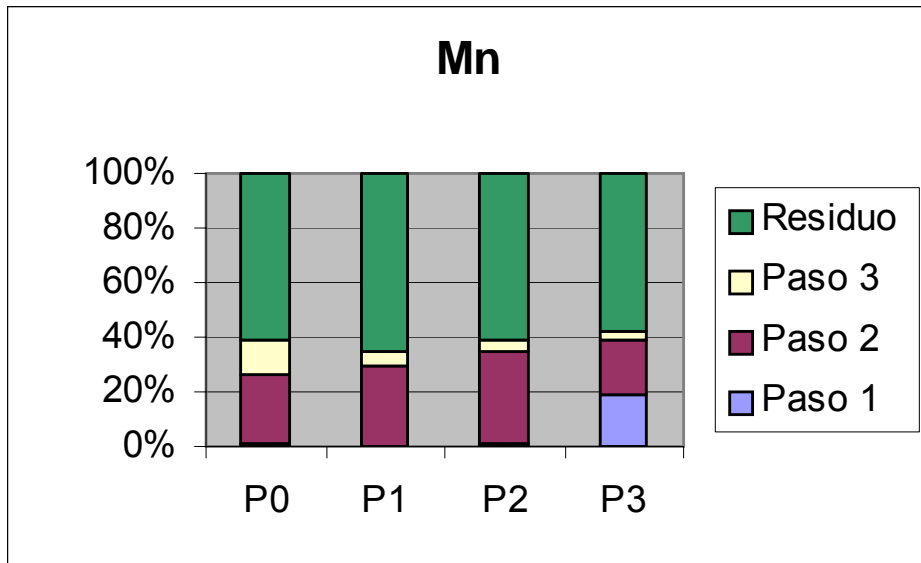


Figura IV.19. Especiación de Mn. Porcentajes obtenidos en cada fracción de la extracción secuencial

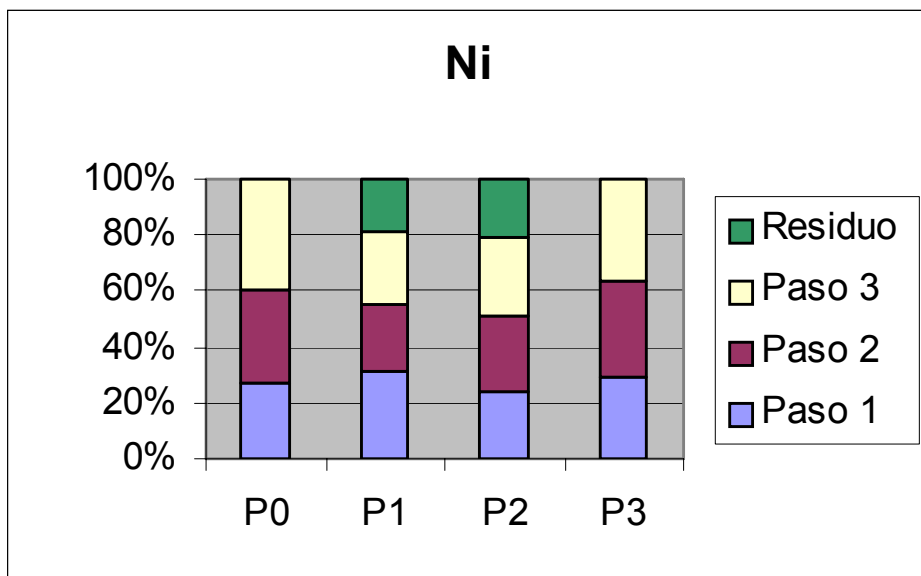


Figura IV.20. Especiación de Ni. Porcentajes obtenidos en cada fracción de la extracción secuencial

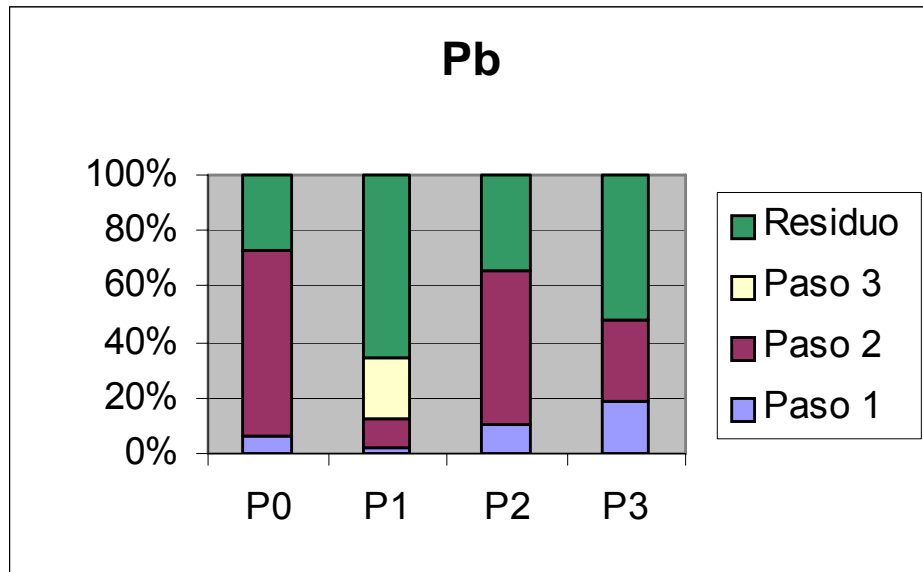


Figura IV.21. Especiación de Pb. Porcentajes obtenidos en cada fracción de la extracción secuencial

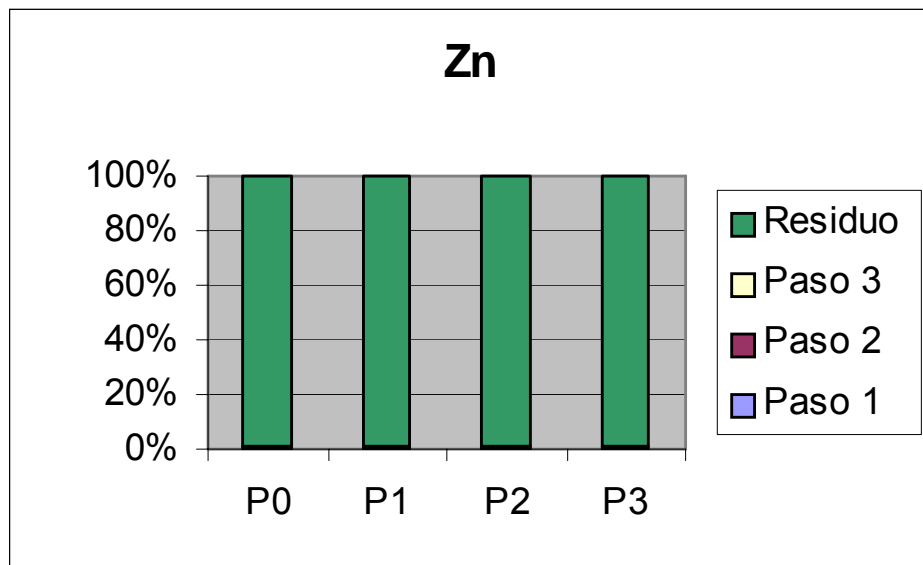


Figura IV.22. Especiación de Zn. Porcentajes obtenidos en cada fracción de la extracción secuencial

La contaminación por Pb es más destacada, superando los niveles guía ISQG excepto en RMP-3. Además, supera los niveles ERL en los puntos RMP-0 y RMP-1 y los niveles ERM (concentración con efectos biológicos considerables) y PEL (concentración con efectos probables sobre la vida acuática) en RMP-1, lo que es muy importante. De igual forma para Ni se superan los niveles ERL en todos los puntos excepto en RMP-3.

Para Zn sólo se superan los niveles guía de calidad de los sedimentos ISQG, y esto ocurre en todos los muestreos a excepción de RMP-3.

Del estudio de especiación metálica, se puede concluir que los elementos estudiados se pueden agrupar según su comportamiento en cinco grupos:

1. El metal Cd está mayoritariamente unido a la fracción intercambiable, esta información hace pensar de que el mismo debe estar fácilmente disponible ante cualquier alteración del medio acuático en contacto con el sedimento. Este efecto es más significativo para la muestra del punto RMP-3, la cual se diferencia de las restantes debido a que todo el Cd se extrae en la fase primera, por lo que el contenido de Cd en este punto está en su totalidad biodisponible. Este aspecto es muy importante ya que superaba los niveles guía para la protección de la vida acuática, por lo que el contenido en este metal es elevado y además muy biodisponible.
2. Co y Ni tienen un comportamiento similar y se encuentran distribuidos entre las tres fracciones, o sea, en la intercambiable, en los óxidos de Fe y Mn, así como en la materia orgánica y los sulfuros. En el caso de las muestras de los puntos RMP-2 y RMP-3, el mayor contenido de Co se extrae en la fase 1, lo que indica que en las muestras de estos dos puntos hay una mayor biodisponibilidad del Co presente en las mismas, con respecto a los restantes puntos. Con respecto al Ni las muestras de los puntos RMP-0 y RMP-3 tienen un comportamiento similar

observándose que una fracción importante del contenido de Ni se encuentra asociado a la materia orgánica y los sulfuros. Por el contrario las muestras de los puntos RMP-1 y RMP-2, las cuales tienen un comportamiento similar entre sí, presentan un comportamiento diferente con respecto a las dos anteriores, estando el contenido de Ni en las mismas repartido entre las cuatro fracciones, incluido la fase residual. Hay por tanto que destacar que dado que superaba los niveles ERL de Ni y que tiene cierta fracción disponible, su contaminación puede producir ciertos efectos adversos sobre la biota.

3. El contenido de Cu está fundamentalmente unido a las fracciones correspondientes a los óxidos de Fe y Mn y a la materia orgánica y los sulfuros. Con respecto a las muestras de los puntos RMP-0 y RMP-1 se observa que una fracción importante del contenido de Cu se encuentra asociado a la materia orgánica y los sulfuros. Sin embargo, en el caso de las muestras de los puntos RMP-2 y RMP-3 vemos como una fracción importante del contenido de Cu está asociado a los óxidos de hierro y manganeso. En todos los puntos de muestreo se observa la escasa biodisponibilidad que presenta este elemento. Por tanto, la contaminación que existe de este metal en la desembocadura y en el punto más próximo a ella del río (supera los niveles guía en todos los puntos) se inmoviliza gracias a su asociación con la materia orgánica del sistema.
4. Fe, Mn y Pb se encuentran, como era de esperar, fundamentalmente asociados a los óxidos de Fe y Mn y en el residuo. Con respecto al Fe en el caso de las muestras de los puntos RMP-0 y RMP-1, una parte del mismo se encuentra proporcionalmente repartido entre las fases correspondientes a los óxidos de Fe y Mn y a la materia orgánica y los sulfuros. Mientras, en las muestras RMP-2 y RMP-3 esta parte del contenido total sólo está asociado a los óxidos de Fe y Mn. En las muestras de todos los puntos, la proporción más importante del elemento se extrae fundamentalmente en el residuo que

queda después de llevarse a cabo la tercera extracción secuencial, lo cuál indica una muy baja biodisponibilidad del mismo. Con respecto al Mn aquí de forma análoga el mayor porcentaje de extracción se logra en el residuo que queda después de efectuado el paso 3. Todas las muestras presentan un comportamiento análogo, con la sola excepción de la muestra del punto RMP-0 con una proporción apreciable de Fe asociado a la materia orgánica, dado los niveles de estas sustancias en dicho punto y la muestra RMP-3 donde una fracción importante del mismo se extrae en el primer paso, lo que indica su biodisponibilidad. Por último, en el caso del Pb se observa un comportamiento anómalo en la muestra RMP-1, con una fracción importante de Pb asociado a la materia orgánica. Esta zona de muestreo, como se puede observar en la Figura IV.2., se encuentra cerca de la desembocadura del Río y recibe la descarga de los principales focos contaminantes de este Río, como por ejemplo el Taller Emilio Pérez Olivera, cuya actividad fundamental es el cromado y niquelado de piezas y el Pb se encuentra entre las principales materias primas. La disposición final de sus aguas residuales son vertidas al alcantarillado, después de reducir el Cr^{6+} a Cr^{3+} lo cuál puede explicar este comportamiento. De igual forma la Empresa de Fundición no Ferrosa Sergio González utiliza el Pb entre sus principales materias primas y sus aguas residuales procedentes del proceso de niquelado son dispuestas directamente en el alcantarillado sin tratamiento previo. En el caso de la muestra del punto RMP-3, una fracción importante de Pb se extrae en la fase 1, lo cual indica una relativamente alta biodisponibilidad, aunque habría que recordar que en este punto los niveles totales no eran muy destacados. En el caso de las muestras RMP-0 y RMP-2, el Pb se encuentra fundamentalmente asociado a los óxidos de Fe y Mn.

5. Por último, el Zn presenta un comportamiento totalmente diferente al resto de los elementos estudiados, encontrándose fundamentalmente en el residuo, por lo que el mismo no puede

ser transferido con facilidad al medio acuático, al variar las condiciones de este.

En general, se observa que el mayor porcentaje de extracción de los diferentes elementos se logra en la fase 2 del proceso de extracción secuencial y teniendo en cuenta los resultados del análisis por Rayos X esto nos permite sugerir que los metales pesados deben estar fundamentalmente asociados a las arcillas, coincidiendo estos resultados con los reportados por otros autores (González, 1989; Horowitz, 1991; Luoma, 1990).

IV.2.4. Análisis de las muestras de agua

IV.2.4.1. Análisis in situ

En los puntos de muestreo se realizaron análisis *in situ* de algunos parámetros característicos de las aguas.

En la Tabla IV.14. se observan los valores medios medidos de temperatura, pH y conductividad eléctrica.

Tabla IV.14. Características físico-químicas de las aguas en cada uno de los puntos de muestreo (n=2).

PUNTOS DE MUESTREO	TEMPERATURA (°C)	PH	CONDUCTIVIDAD (MS)
RMP-3	22,5	7,77	0,8030
RMP-2	23,5	7,74	0,6424
RMP-1	23,7	7,69	0,7300
RMP-0	23,5	7,57	39,785

En la tabla se observa que los valores de temperatura y pH de estas aguas están dentro de los parámetros normales. Con relación a la conductividad eléctrica cabe destacar el hecho de que la misma corrobora los estudios de Rayos-X realizados en los sedimentos donde se constataba que sólo en la muestra de sedimento perteneciente al punto de muestreo RMP-0 se detectaba la presencia de halita, signo inequívoco de la presencia de agua de mar. Estos datos confirman que el punto de muestreo RMP-1 que es el punto más cercano a la desembocadura del río no tiene ninguna influencia de intrusión marina.

IV.2.4.2. Tratamiento previo de las muestras de agua

Las muestras de agua del río Martín Pérez y de la ensenada de Guasabacoa fueron tomadas y acidificadas para su preservación hasta su análisis con ácido nítrico Suprapur (Merck, Alemania) y las botellas fueron guardadas en bolsas de plástico. Posteriormente, en el laboratorio fueron digeridas previamente a su análisis por Espectrometría de Masas (ICP-MS) y/o Voltámperometría de Redisolución (AdCSV y ASV).

Las muestras fueron digeridas durante 20 minutos a 170 °C en un horno de microondas. Para la digestión ácida asistida por microondas de las muestras de agua se empleó el método EPA 3015, (EPA, 1994a) que permite posteriormente el análisis del contenido metálico total de las muestras de agua.

El método consiste en tomar una alícuota representativa de la muestra de 45 mL la cual se adiciona a un vaso de digestión de teflón de 100 mL de capacidad. A continuación se añaden 5 mL de ácido nítrico concentrado de calidad Merck Suprapur. En el vaso de control, donde se encuentra la sonda de temperatura, se coloca siempre una muestra para poder tener un control más estricto de la temperatura que se alcanza durante el proceso de digestión. En otro de los vasos se coloca un blanco constituido por 45 mL de agua MQ más 5 mL de ácido nítrico concentrado, para controlar si se produce alguna

contaminación durante el proceso de digestión, por lo que es recomendable que en cada réplica de la digestión se rote el vaso donde se coloca el blanco, de modo que se pueda chequear la señal del blanco en diferentes vasos. Se colocan los vasos de teflón en las fundas protectoras o “camisas” que se cierran a presión y se colocan en el carrusel del microondas. Se programa el aparato de microondas de acuerdo a las especificaciones del fabricante e instrucciones de uso del mismo. Se selecciona una potencia tal, en el equipo de microondas, que logre una secuencia de calentamiento que le permita alcanzar a la muestra una temperatura de $160\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante los primeros 10 minutos, y que posteriormente permita alcanzar lentamente $165\text{-}170\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante los siguientes 10 minutos. Este programa se logra aplicando en la primera fase una potencia de 650 W y 400 W en la segunda fase. Después del proceso de digestión, la muestra es enfriada durante una hora con el ventilador del equipo y se deja que alcance una temperatura inferior a los $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ antes de abrir la funda protectora a presión. Cuando los vasos de digestión alcanzan la temperatura ambiente se pesan, si la masa registrada después de la digestión difiere en más de un 10% de la inicial, entonces se desecha el contenido de ese vaso. Si después de haberse enfriado la muestra se observa materia en suspensión entonces se procede a filtrar, centrifugar, o dejarla sedimentar en un recipiente limpio previo al análisis.

En la Figura IV.23. se muestra el programa utilizado en el horno de microondas para la digestión ácida de las muestras de agua. En la misma se observa como la temperatura asciende rápidamente hasta alcanzar un valor cercano a $160\text{ }^{\circ}\text{C}$ y cómo posteriormente aumenta más lentamente hasta llegar a la temperatura de $170\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Se realizaron tres digestiones independientes de cada una de las muestras de agua natural objeto de estudio, en días diferentes, con objeto de obtener tres replicados para cada una de las muestras analizadas. Para cada día en que las muestras eran sometidas al proceso de digestión se obtuvo el respectivo blanco de digestión. Los resultados obtenidos en cada caso fueron restados de las determinaciones realizadas en las muestras reales analizadas.

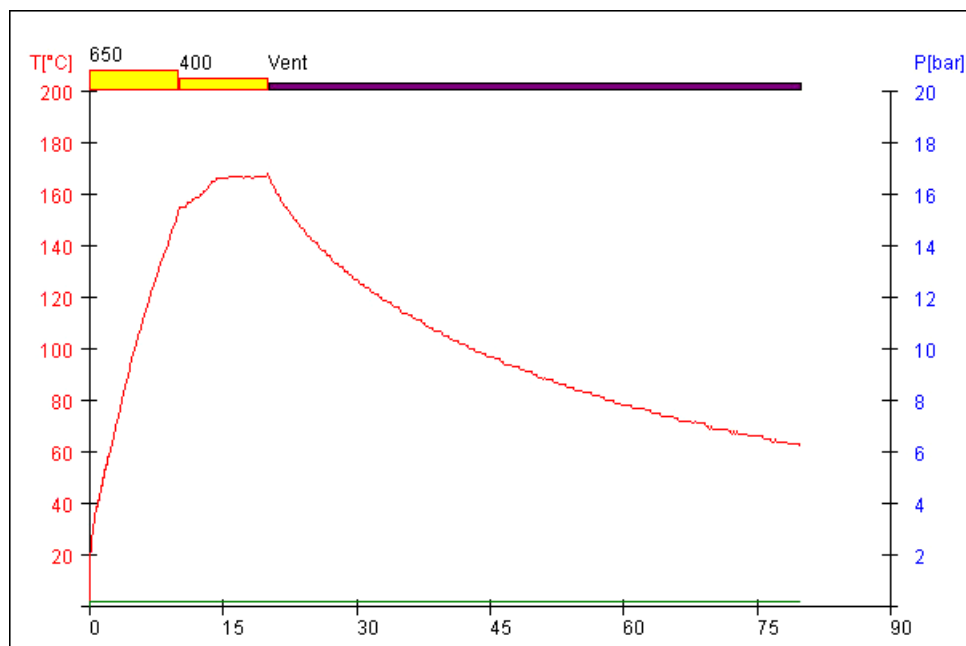


Figura IV.23. Programa de calentamiento utilizado en la digestión ácida asistida por microondas.

IV.2.4.3. Contenido metálico de las muestras de agua

El contenido de metales pesados en las aguas del río Martín Pérez no ha sido suficientemente estudiado, por lo que la caracterización ambiental de este ecosistema es de gran interés, sobre todo después de haber detectado la influencia de la actividad antropogénica de la zona en los sedimentos analizados, con destacados niveles de contaminación, sobre todo de plomo.

Por otro lado, y dado que la naturaleza de las muestras presentaba diferente salinidad, se optó por emplear la Voltamperometría de Redisolución Anódica (ASV) o Catódica Adsorbtiva (AdCSV) (según el metal) frente a la Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS) para la muestra RMP-0 de elevada salinidad. Como es sabido, la Voltametría es muy útil para muestras salinas, ya que en ICP-MS se produce la obturación de los sistemas de entrada de

la muestra y ciertas interferencias debido a la elevada salinidad. No obstante, la segunda técnica es más rápida, precisa y permite el análisis simultáneo de más especies, aunque es de elevado coste.

IV.2.4.3.1. Análisis por ICP-MS

Las muestras de agua natural procedentes del río Martín Pérez, una vez digeridas por microondas, se analizaron por ICP-MS. Se prepararon tres digestiones independientes de cada una de las muestras y cada digestión se midió por triplicado en el equipo. Para la medición de los metales pesados se empleó el método EPA 6020 (EPA, 1994b), utilizándose en la determinación ^6Li , ^{45}Sc , ^{89}Y , ^{103}Rh , ^{115}In , ^{159}Tb , ^{165}Ho , y ^{209}Bi como estándares internos. No se pudo analizar la muestra RMP-0 por este método por su elevada salinidad lo que producía fenómenos de obturación de los sistemas de entrada hacia el plasma.

Los resultados obtenidos para las muestras de agua de río (RMP-1, RMP-2 y RMP-3) de marzo y octubre de 2005 y enero de 2006 se detallan en la Tabla IV.15. De igual forma se han representado en las Figuras IV.24. a IV.26. Puede observarse como los aportes antropogénicos en los puntos RMP-1 y RMP-2 suben los niveles metálicos para todos los análisis realizados excepto para Co y Cd, donde no se detecta este hecho.

La influencia de las lluvias, significativamente mayores en el segundo muestreo (ver Tabla IV.1.) no parece ser un dato relevante, siendo más importante las variaciones entre puntos de muestreo que las temporales.

Comparando RMP-1 y RMP-2, es el primer punto el que presenta mayores niveles metálicos para todos los elementos analizados, con la excepción de Cr y Pb para los cuales, parece que los insumos se encuentran en esta segunda zona de muestreo. No obstante, para Cd el descenso de concentración en el punto RMP-2 es más significativo que en el inicio del río, aunque son tan pequeñas las concentraciones de este metal que estas variaciones pueden deberse a la propia precisión del método de medida.

Tabla IV.15. Resultados del análisis de las aguas del río Martín Pérez por ICP-MS (n=3)

MUESTRA	PARÁMETRO	CR ($\mu\text{G/L}$)	CO ($\mu\text{G/L}$)	NI ($\mu\text{G/L}$)	CU ($\mu\text{G/L}$)	ZN ($\mu\text{G/L}$)	CD ($\mu\text{G/L}$)	PB ($\mu\text{G/L}$)
RMP-3 Marzo 2005	Media	0,045	0,883	2,371	1,739	1,654	0,071	0,600
	s	0,009	0,026	0,027	0,007	0,160	0,003	0,094
	Int. Conf.	0,000 3	0,001	0,001	0,000 3	0,006	0,0001	0,003
RMP-2 Marzo 2005	Media)	1,028	0,804	3,106	3,899	7,592	0,033	2,215
	S	0,067	0,013	0,082	0,083	0,075	0,002	0,114
	Int. Conf.	0,002	0,000 5	0,003	0,003	0,003	0,0001	0,004
RMP-1 Marzo 2005	Media	0,913	0,806	3,316	5,473	10,65 8	0,154	2,020
	s	0,036	0,045	0,250	0,541	1,337	0,025	0,241
	Int. Conf.	0,001	0,002	0,009	0,020	0,048	0,0009	0,009
RMP-3 Octubre 2005	Media	0,224	0,676	2,725	3,797	4,798	0,094	1,019
	s	0,097	0,069	0,452	0,523	0,754	0,007	0,812
	Int. Conf.	0,004	0,002	0,016	0,019	0,027	0,0002	0,029
RMP-2 Octubre 2005	Media	0,842	0,736	3,346	4,215	10,02 5	0,032	1,956
	s	0,242	0,072	0,614	0,751	1,947	0,001	0,127
	Int. Conf.	0,009	0,003	0,022	0,027	0,070	0,0000 4	0,005
RMP-1 Octubre 2005	Media	0,728	0,738	3,557	5,789	13,09 1	0,153	1,762
	s	0,268	0,110	0,815	1,309	3,298	0,051	0,011
	Int. Conf.	0,010	0,004	0,029	0,047	0,119	0,001	0,000 4
RMP-3 Enero 2006	Media	0,232	0,639	2,540	2,411	4,560	0,072	0,527
	s	0,133	0,090	0,438	0,435	1,030	0,020	0,352
	Int. Conf.	0,005	0,003	0,016	0,016	0,037	0,001	0,013
RMP-2 Enero 2006	Media	0,702	0,658	3,034	4,619	10,06 1	0,046	1,377
	s	0,139	0,073	0,552	1,324	2,362	0,026	0,103
	Int. Conf.	0,005	0,003	0,020	0,048	0,086	0,001	0,004
RMP-1 Enero 2006	Media	0,701	0,712	3,404	4,307	11,62 8	0,112	1,220
	s	0,237	0,110	0,711	0,852	2,539	0,026	0,121
	Int. Conf.	0,009	0,004	0,026	0,031	0,092	0,001	0,004

s = Desviación Estándar.

Int. Conf. = Intervalo de Confianza.

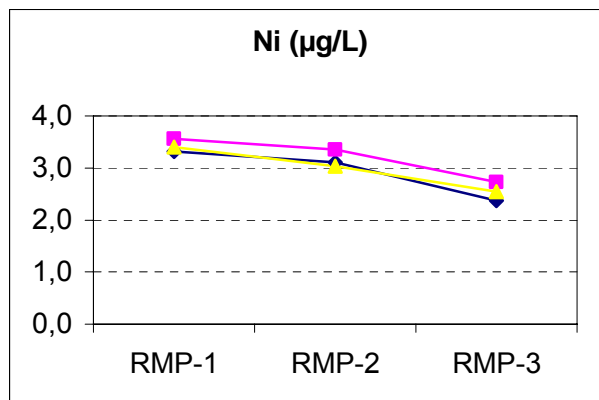
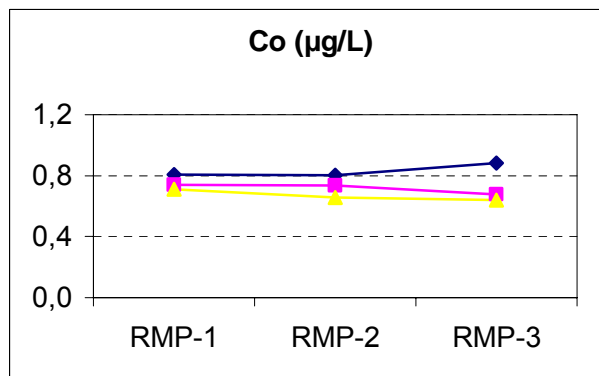
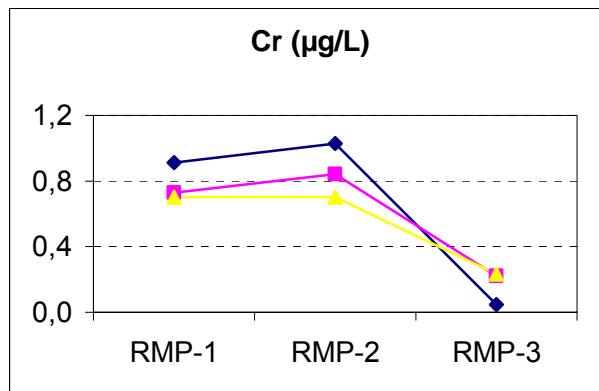


Figura IV.24. Análisis de Cr, Co y Ni en las aguas del río Martín Pérez por ICP-MS

◆ Marzo 2005; ■ Octubre 2005; ▲ Enero 2006

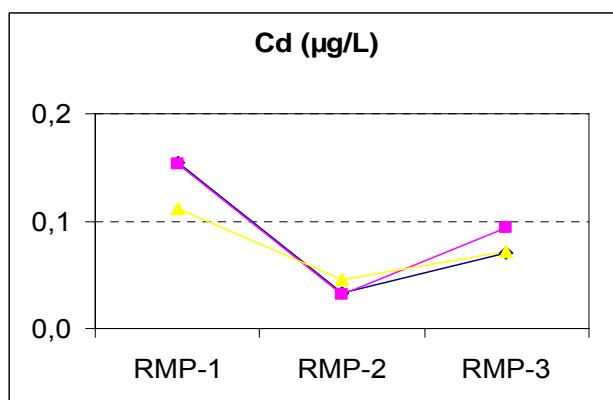
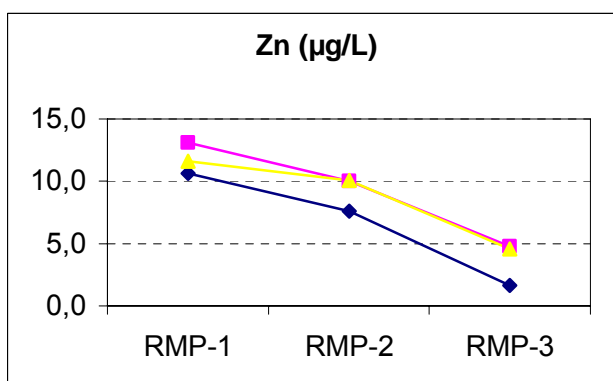
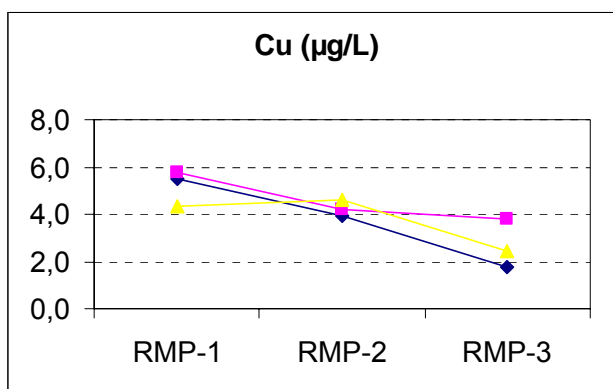


Figura IV.25. Análisis de Cu, Zn y Cd en las aguas del río Martín Pérez por ICP-MS

◆ Marzo 2005; ■ Octubre 2005; ▲ Enero 2006

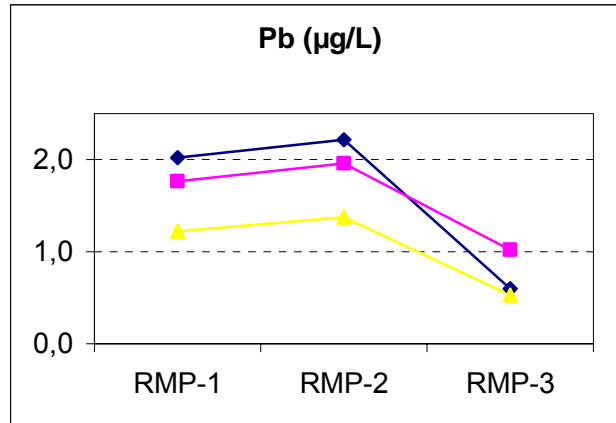


Figura IV.26. Análisis de Pb en las aguas del río Martín Pérez por ICP-MS

◆ Marzo 2005; ■ Octubre 2005; ▲ Enero 2006

Si se comparan estos resultados con los niveles guía de calidad de aguas definidos en el capítulo I, en la Tabla I.6.a. se observan los siguientes aspectos:

- Para Cr, los niveles encontrados superan los niveles fondo en RMP-1 y RMP-2, aunque son valores comparables a las concentraciones naturales en aguas continentales al igual que ocurre con el Ni.
- Para Cu se superan prácticamente en todos los puntos los niveles de fondo, y para RMP-1 y RMP-2 las concentraciones naturales, no llegando a superar los niveles de calidad de aguas NOAA-EPA para aguas dulces.

- Los niveles de Zn superan los niveles de fondo y las concentraciones naturales en el punto RMP-1, sobre todo en el segundo y tercer muestreo, después de las lluvias.
- El Cd, al igual que el Zn, supera los niveles de fondo y las concentraciones naturales en el punto RMP-1, aunque en este caso, ocurre principalmente en los muestreos primero y segundo. Esto confirma que los niveles metálicos en aguas no se ven claramente afectados por la climatología en comparación con la influencia de la zona analizada.
- Por último, para Pb sólo se superan los niveles de fondo. Hay que recordar que este metal estaba presente en los sedimentos de forma destacada, pero es claro que cuando llega al ecosistema se inmoviliza en la fase sólida, no quedando en disolución.

IV.2.4.3.2. Análisis por Voltametría de redisolución

El análisis de Ni y Co se llevó a cabo mediante Voltamperometría de Redisolución Catódica Adsorptiva (Metrohm, 2001, 2004), por adición de dimetilglioxima, después de haber sido digeridas las mismas por microondas. Los parámetros instrumentales utilizados en la medición se muestran en la Tabla IV.16.

Dado que todas las muestras de agua fueron utilizadas en la validación del método de análisis de Ni desarrollado en el Capítulo III, únicamente para este metal se analizaron de nuevo todas las muestras por Voltamperometría (RMP-0, RMP-1, RMP-2 y RMP-3). Para los restantes metales sólo se realizó el análisis de aquellas muestras de la Ensenada de Guasabacoa, de elevada conductividad y no analizadas por ICP-MS (RMP-0).

Debido a la elevada acidez de las muestras digeridas fue necesario diluir las mismas antes de ajustar el pH y así evitar la adición de grandes cantidades de base, ya que esto interfería en la obtención del voltamperograma. Por esta razón no se pudo detectar el Co ya que el mismo se encuentra presente en muy bajas concentraciones.

En la Figura IV.27. se puede observar un ejemplo de voltamperograma obtenido en este estudio. Los picos representan las dos mediciones realizadas a la muestra y dos adiciones del patrón.

Tabla IV.16. Parámetros instrumentales de la medición por AdCSV.

ELECTRODO DE TRABAJO	HMDE
Tamaño de gota	4
Velocidad de agitación	2000 rpm
Modo de medición	DP
Tiempo de purga	300 s
Amplitud de pulso	0,05 V
Potencial de deposición	-0,7 V
Tiempo de deposición	90 s
Tiempo de reposo	10 s
Potencial inicial	-0,8 V
Potencial final	-1,25 V
Incremento de voltaje	0,004 V
Tiempo de incremento de voltaje	0,3 s
Velocidad de barrido	0,013 V/s
Potencial de pico (Ni)	-0,97 V
Potencial de pico (Co)	-1,13 V

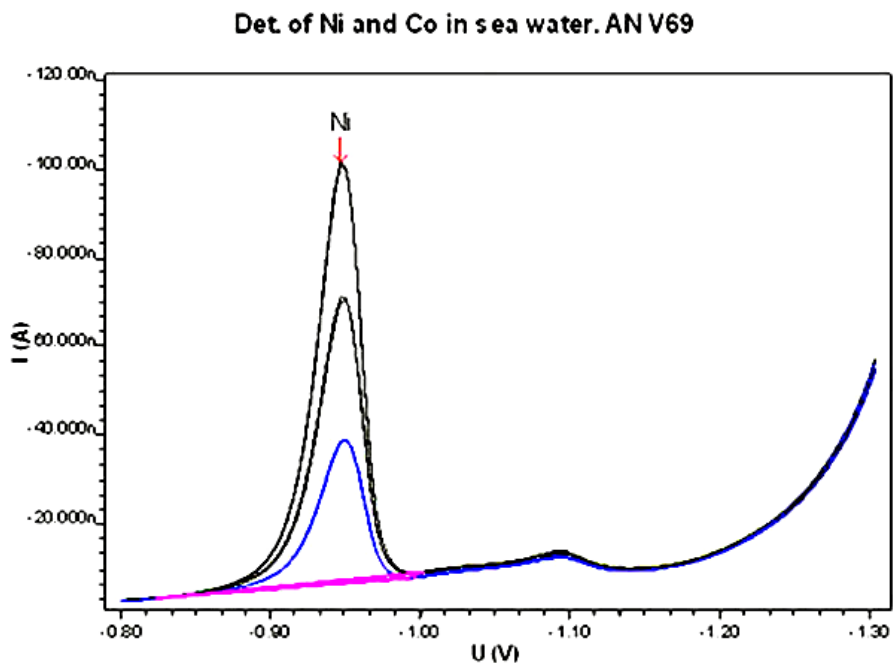


Figura IV.27. Voltamperograma de la muestra RMP-1 (Oct-05).

El análisis de Zn, Cd, Cu y Pb en las muestras de agua de mar natural (RMP-0) se llevó a cabo mediante Voltamperometría de Redisolución Anódica (Metrohm, 1990a), después de haber sido digeridas las mismas por microondas. Los parámetros instrumentales utilizados en la medición se muestran en la Tabla IV.17.

Tabla IV.17. Parámetros instrumentales de la medición por ASV.

ELECTRODO DE TRABAJO	HMDE
Tamaño de gota	4
Velocidad de agitación	2000 rpm
Modo de medición	DP
Tiempo de purga	300 s
Amplitud de pulso	0,05 V
Potencial de deposición	-1,15 V
Tiempo de deposición	90 s
Tiempo de reposo	10 s
Potencial inicial	-1,15 V
Potencial final	0,05 V
Incremento de voltaje	0,006 V
Tiempo de incremento de voltaje	0,1 s
Velocidad de barrido	0,06 V/s
Potencial de pico (Zn)	-0,98 V
Potencial de pico (Cd)	-0,56 V
Potencial de pico (Pb)	-0,38 V
Potencial de pico (Cu)	-0,10 V

En la Figura IV.28. se puede observar un ejemplo de voltamperograma obtenido en este estudio. Los picos representan las dos mediciones realizadas a la muestra y dos adiciones estándar de los patrones.

Cada una de las digestiones obtenidas se analizó por duplicado, adicionando a la celda de medición dos alícuotas independientes y para cada una de las adiciones se realizaron dos mediciones.

Los resultados de estos análisis se detallan en las siguientes tablas:

- los análisis de Ni por AdCSV en las Tablas IV.18. a IV.20 (para todas las muestras de las estaciones de muestreo RMP-0, RMP-1, RMP-2, y RMP-3).
- los valores de concentración metálica de Zn, Cd, Cu y Pb por ASV en las Tablas IV.21 a IV.28 para las muestras de agua del punto RMP-0.

Para comparar los niveles metálicos del punto RMP-0 con los restantes puntos de muestreo, se han representado de nuevo las Figuras IV.24., IV.25. y IV.26., incluyendo este punto y donde se reduce la escala entre los puntos del río por tener niveles más parecidos y se incrementa de forma global con el punto de la Ensenada de Guasabacoa al tener mayor contaminación metálica (Figuras IV.29. y IV.30.)

Determination of Zinc, Cadmium, Lead, and Copper acc. to DIN38406/16

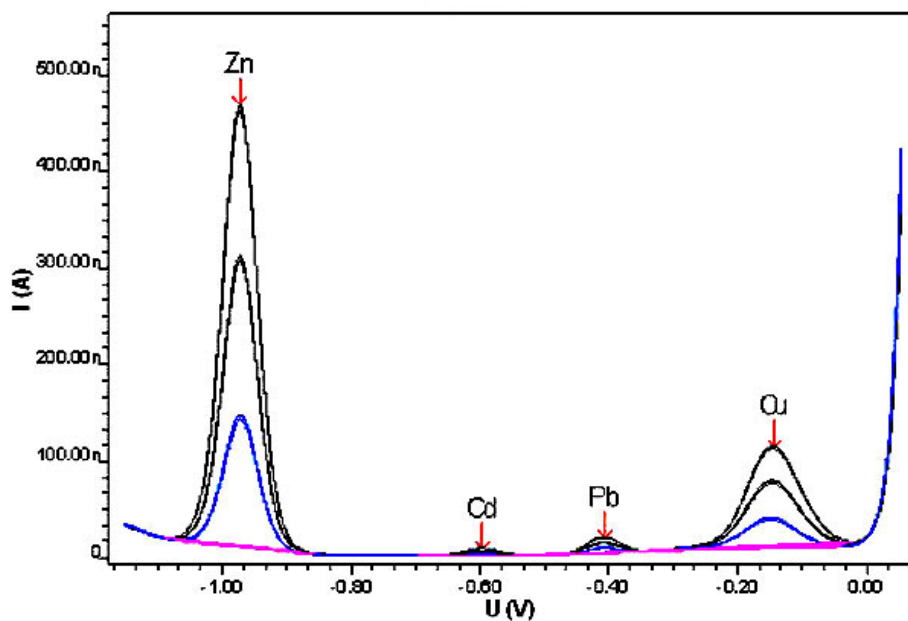


Figura IV.28. Voltamperograma de la muestra RMP-0 (Oct-05).

Tabla IV.18. Resultados obtenidos en el análisis de Ni por AdCSV.

(Muestreo: Marzo-2005)

Muestra	Digestión	Réplica 1 (µg/L)	Réplica 2 (µg/L)	Media (µg/L) (n=6)	Intervalo de Confianza	s	RSD (%)
RMP-3	1	2,265	2,259	2,179	0,115	0,102	4,68
	2	2,221	2,198				
	3	2,065	2,065				
RMP-2	1	2,933	2,882	3,013	0,111	0,098	3,24
	2	3,100	3,100				
	3	3,036	3,029				
RMP-1	1	3,094	3,076	3,216	0,131	0,115	3,59
	2	3,443	3,165				
	3	3,198	3,316				

Tabla IV.19. Resultados obtenidos en el análisis de Ni por AdCSV.
(Muestreo: Octubre-2005)

Muestra	Digestión	Réplica 1 (µg/L)	Réplica 2 (µg/L)	Media (µg/L) (n=6)	Intervalo de Confianza	s	RSD (%)
RMP-3	1	2,599	2,636	2,525	0,136	0,121	4,78
	2	2,341	2,436				
	3	2,651	2,487				
RMP-2	1	3,324	3,257	3,235	0,083	0,074	2,28
	2	3,314	3,214				
	3	3,100	3,203				
RMP-1	1	3,505	3,371	3,368	0,089	0,079	2,34
	2	3,454	3,312				
	3	3,282	3,283				
RMP-0	1	11,074	11,426	11,185	0,075	0,066	0,59
	2	11,068	11,307				
	3	11,143	11,092				

Tabla IV.20. Resultados obtenidos en el análisis de Ni por AdCSV.
(Muestreo: Enero-2006)

Muestra	Digestión	Réplica 1 (µg/L)	Réplica 2 (µg/L)	Media (µg/L) (n=6)	Intervalo de Confianza	s	RSD (%)
RMP-3	1	2,535	2,439	2,392	0,129	0,114	4,78
	2	2,415	2,433				
	3	2,239	2,291				
RMP-2	1	2,707	2,591	2,757	0,106	0,094	3,41
	2	2,785	2,846				
	3	2,772	2,843				
RMP-1	1	3,304	3,182	3,269	0,177	0,156	4,78
	2	3,448	3,426				
	3	3,086	3,170				
RMP-0	1	7,589	7,521	7,608	0,095	0,084	1,11
	2	7,786	7,625				
	3	7,747	7,583				

Tabla IV.21. Resultados obtenidos en el análisis de Zn por ASV.

(Muestreo: Octubre-2005)

Muestra	Digestión	Réplica 1 (µg/L)	Réplica 2 (µg/L)	Media (µg/L) (n=6)	Intervalo de Confianza	s	RSD (%)
RMP-0	1	46,662	46,830	46,723	0,255	0,225	0,48
	2	46,687	46,289				
	3	46,982	46,891				

Tabla IV.22. Resultados obtenidos en el análisis de Zn por ASV.

(Muestreo: Enero-2006)

Muestra	Digestión	Réplica 1 (µg/L)	Réplica 2 (µg/L)	Media (µg/L) (n=6)	Intervalo de Confianza	s	RSD (%)
RMP-0	1	6,571	6,785	6,539	0,311	0,275	4,20
	2	6,569	5,875				
	3	6,850	6,581				

Tabla IV.23. Resultados obtenidos en el análisis de Cd por ASV.

(Muestreo: Octubre-2005)

Muestra	Digestión	Réplica 1 (µg/L)	Réplica 2 (µg/L)	Media (µg/L) (n=6)	Intervalo de Confianza	s	RSD (%)
RMP-0	1	0,638	0,644	0,618	0,024	0,022	3,49
	2	0,626	0,607				
	3	0,615	0,581				

Tabla IV.24. Resultados obtenidos en el análisis de Cd por ASV.

(Muestreo: Enero-2006)

Muestra	Digestión	Réplica 1 (µg/L)	Réplica 2 (µg/L)	Media (µg/L) (n=6)	Intervalo de Confianza	s	RSD (%)
RMP-0	1	0,117	0,120	0,112	0,009	0,008	6,84
	2	0,110	0,097				

3 0,115 0,114

Tabla IV.25. Resultados obtenidos en el análisis de Pb por ASV.
(Muestreo: Octubre-2005)

Muestra	Digestión	Réplica 1 (µg/L)	Réplica 2 (µg/L)	Media (µg/L) (n=6)	Intervalo de Confianza	s	RSD (%)
RMP-0	1	4,577	4,506	4,254	0,320	0,283	6,65
	2	4,205	4,284				
	3	3,977	3,976				

Tabla IV.26. Resultados obtenidos en el análisis de Pb por ASV.
(Muestreo: Enero-2006)

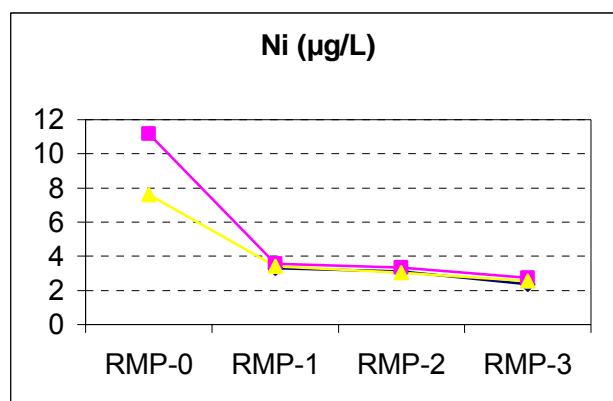
Muestra	Digestión	Réplica 1 (µg/L)	Réplica 2 (µg/L)	Media (µg/L) (n=6)	Intervalo de Confianza	s	RSD (%)
RMP-0	1	2,749	2,466	2,656	0,137	0,121	4,57
	2	2,782	2,349				
	3	2,869	2,719				

Tabla IV.27. Resultados obtenidos en el análisis de Cu por ASV.
(Muestreo: Octubre-2005)

Muestra	Digestión	Réplica 1 (µg/L)	Réplica 2 (µg/L)	Media (µg/L) (n=6)	Intervalo de Confianza	s	RSD (%)
RMP-0	1	23,810	23,890	24,236	0,408	0,361	1,49
	2	23,925	24,665				
	3	24,642	24,486				

Tabla IV.28. Resultados obtenidos en el análisis de Cu por ASV.
(Muestreo: Enero-2006)

Muestra	Digestión	Réplica 1 (µg/L)	Réplica 2 (µg/L)	Media (µg/L) (N=6)	Intervalo de Confianza	s	RSD (%)
RMP-0	1	7,204	7,129	6,963	0,252	0,222	3,19
	2	7,078	6,917				
	3	6,760	6,692				



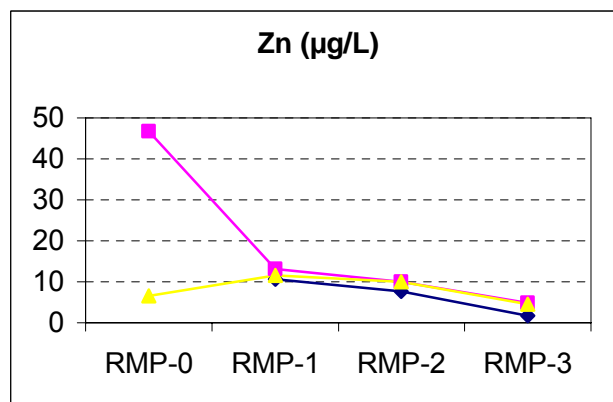
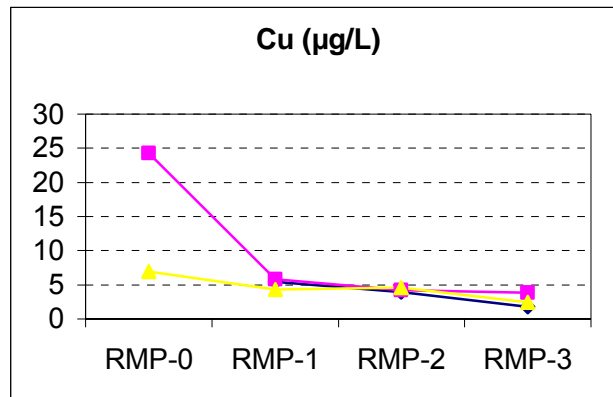
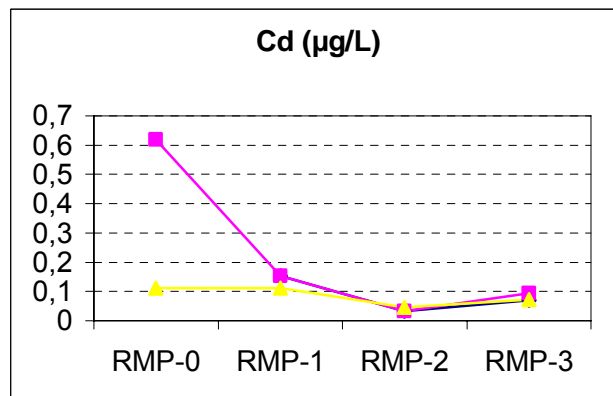


Figura IV.29. Análisis de Ni, Cu y Zn en las aguas del río Martín Pérez por ICP-MS, AdCSV y ASV.

♦ Marzo 2005; ■: Octubre 2005; ▲: Enero 2006



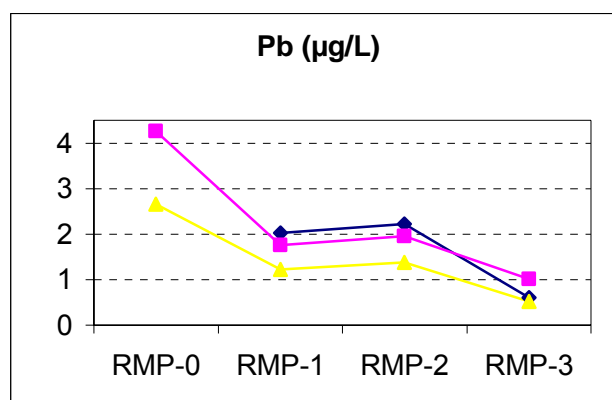


Figura IV.30. Análisis de Cd y Pb en las aguas del río Martín Pérez por ICP-MS y ASV

◆ Marzo 2005; ■: Octubre 2005; ▲: Enero 2006

Con estos los resultados que incluyen la muestra RMP-0 se puede concluir los siguientes aspectos:

- La Ensenada de Guasabacoa presenta niveles de contaminación mucho más elevados que el Río Martín Pérez, estando esta contaminación muy afectada por la climatología, pues en el segundo muestreo, correspondiente a la época de lluvias, los niveles metálicos suben destacadamente. Este hecho es destacado sobre todo para Cu, Zn y Cd. El incremento destacado de Ni y Pb en la Ensenada está menos influenciado por las lluvias, siendo por tanto una contaminación continua de la zona.
- De la comparación de los niveles encontrados con los niveles de calidad de las aguas (ver Tabla I.6.a) puede concluirse que el Cu supera los niveles CMC (criterio de máxima concentración sin efectos) y CCC (criterio de concentración continua sin efectos) de la NOAA-EPA para agua de mar en RMP-0 durante octubre de 2005.
- Los niveles de Ni en RMP-0 en octubre de 2005 están por encima del criterio de concentración continuo CCC, por lo que puede

provocar daños a largo plazo en este ecosistema. Sin embargo el contenido de Ni en las aguas del río Martín Pérez está por debajo de este criterio, por lo que es en la Bahía donde se incrementan los niveles de este metal de forma importante.

- Para Zn, se superan en la ensenada los niveles de fondo y concentraciones naturales, no así los criterios de calidad de aguas NOAA-EPA.
- Para Cd y Pb se superan los niveles de fondo y las concentraciones naturales de agua de mar.

Por lo que se puede decir que las aguas presentan en la Ensenada de Guasabacoa contaminación muy importante de Cu y Ni en la época de lluvias. No obstante, y comparando este resultado con los sedimentos, se observó que esta contaminación se inmovilizaba en el sedimento para Cu pero no para Ni, pudiendo tener en este último caso mayores efectos potencialmente tóxicos. Para el resto de los metales sube mucho los niveles metálicos aunque no llegan a ser tan preocupantes.

Es claro por tanto que a la Bahía de la Habana, el Río Martín Pérez realiza aportes contaminantes metálicos pero dados los niveles mayores de la bahía, esta tiene que recibir insumos de otros tributarios con contaminación destacada.

Por todo ello, se recomienda realizar estudios de impacto ambiental de los restantes aportes fluviales de la zona y tratar de controlar los vertidos a este ecosistema.

IV.2.5. Conclusiones y perspectivas futuras

1. Los resultados obtenidos en el análisis de cinc, cadmio, plomo y cobre en las aguas de la ensenada de Guasabacoa por ASV y de

níquel, tanto en el agua del río Martín Pérez como en la ensenada de Guasabacoa por AdCSV, corroboran los resultados obtenidos en el análisis del contenido de estos metales pesados en dichas aguas por ICP-MS y por el método que se propuso en el Capítulo III desarrollado en esta Tesis Doctoral para el análisis de Níquel.

2. El estudio del contenido de los metales pesados en las aguas del río Martín Pérez y en su unión con la Bahía de la Habana contribuye notablemente al conocimiento y caracterización de este ecosistema, el cual presenta niveles de contaminación destacados sobre todo en las muestras de la Ensenada, tanto en las aguas como en los sedimentos, aunque para algunos de estos metales, las asociaciones con la materia orgánica inmoviliza los contenidos metálicos disminuyendo su toxicidad.

Los trabajos desarrollados presentan, además, varias líneas de desarrollo para el futuro:

1. Llevar a cabo un muestreo más amplio en este río, que incluya un mayor número de puntos de muestreo, así como las diferentes épocas del año, con el fin de poder caracterizar mejor esta fuente fluvial.
2. Estudiar el empleo de métodos de separación y/o concentración que nos permitan el análisis de los metales pesados traza por ICP-MS en muestras de agua de mar.

CONCLUSIONES

De los resultados de esta Tesis Doctoral se puede concluir los siguientes aspectos:

a) Conclusiones del estudio de metodología de análisis de metales pesados basados en la utilización de membranas líquidas

Con el desarrollo del método de análisis de Ni en muestras acuosas de diferente salinidad se alcanza uno de los objetivos propuestos en el presente trabajo: el estudio de nuevos sistemas aplicables a la separación y preconcentración de metales disueltos en aguas naturales, mediante el empleo de membranas líquidas.

- Así, se ha comprobado la viabilidad de la 2-APBH (2-acetilpiridina benzoilhidrazona) como agente transportador de metales pesados en sistemas de membranas líquidas de volumen.
- El sistema de transporte de Ni a través de la membrana líquida de volumen desarrollado, conteniendo 2-APBH en tolueno, puede ser aplicado en la separación y preconcentración de este metal, realizando posteriormente la determinación con una técnica tan sencilla como la espectroscopía de absorción atómica con llama. El factor de preconcentración metálica es de 18; la eficacia del método desarrollado después de 9 horas es del 100 %, y tiene un límite de detección de $0,048 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de metal.
- El sistema es perfectamente aplicable a muestras de agua de diferente naturaleza salina, incluidas agua de mar y estuario. El método fue validado utilizando muestras de la Bahía de la Habana y su tributario el Río Martín Pérez, comparando los resultados del método propuesto con los obtenidos por ICP-MS y

Voltamperometría de Redisolución Adsorptiva, con excelentes resultados.

b) Conclusiones del estudio de la evaluación de la contaminación metálica en muestras de aguas y sedimento del río Martín Pérez y la Ensenada de Guasabacoa

Del estudio de la evaluación de la contaminación metálica de un ecosistema cubano, el río Martín Pérez y su desembocadura en la Bahía de la Habana, se concluye que:

- Por vez primera se analizaron muestras de sedimento cubano empleando el procedimiento de extracción secuencial del Bureau Community of Reference (BCR) para el estudio de la movilidad de metales en sedimentos, cuya efectividad y aplicación se ha demostrado en las condiciones de trabajo empleadas. De igual forma se compararon estos resultados con los niveles de las aguas sobrenadantes.
- El empleo de la DRX permitió conocer la composición estructural de los sedimentos del río Martín Pérez en los cuales predomina la calcita (CaCO_3). Este hecho es de importancia desde el punto de vista ambiental, pues la solubilidad de esta fase puede incrementarse por ligeros cambios de pH en el agua en contacto con los sedimentos, lo cuál podría movilizar los metales asociados a ella como es el caso del Cd.
- Los resultados presentados a lo largo del trabajo permiten disponer, por primera vez, de información acerca de la composición elemental y estructural de los sedimentos del río Martín Pérez, lo cuál es de importancia para el conocimiento acerca de la contaminación inorgánica de esta fuente fluvial.
- Los niveles de contaminación metálica crecen desde el nacimiento del río hasta la bahía donde son más destacados, tanto en aguas como en sedimento, aunque para algunos de

estos metales, las asociaciones con la materia orgánica inmoviliza los contenidos metálicos disminuyendo su toxicidad.

- Las precipitaciones de la zona no influyen de forma destacada en la contaminación de las aguas en el río. En la Ensenada se incrementan de forma destacada los metales en las aguas, sobre todo en la época de lluvia, por lo que pueden ser otro tributarios los que tengan una influencia temporal en los niveles de contaminación más destacados que los encontrados en el Río Martín Pérez.
- En los sedimentos, existen contenidos biodisponibles con potencial toxicidad para Cd, Pb y Ni.
- Las aguas presentan en la Ensenada de Guasabacoa contaminación muy importante de Cu y Ni en la época de lluvias. No obstante, y comparando este resultado con los sedimentos, se observó que esta contaminación se inmovilizaba en el sedimento para Cu pero no para Ni, pudiendo tener en este último caso mayores efectos ecotóxicos.
- En la Bahía de la Habana, el Río Martín Pérez realiza aportes contaminantes metálicos significativos, pero dados los niveles superiores encontrados en la bahía, ésta tiene que recibir insumos de otros tributarios con contaminación destacada.
- Por todo ello, se recomienda realizar estudios de impacto ambiental del río Martín Pérez así como de los restantes aportes fluviales de la zona y tratar de controlar los vertidos a este ecosistema de gran significación en la Habana como es su Bahía.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abdel-Rahman, R.M.; Seada, M.; Fawzy, M.; el-Baz, I., Synthesis of some new thioethers of 1,2,4-triazine-3-hydrazones and assays for their anticancer and anti human immune virus activities., *Farmaco*, **1993**, 48(3), 397-406,.
2. Acosta, A.; Valenzuela, F.; Basualto, C.; Marchese, J.; Campderrós, M.; Transport of Zn (II), Cu (II) and Ni (II) on hollow fibers-type solid supported liquid membranes. *Boletín de la Sociedad Chilena de Química*, **1998**, 43, 401-409.
3. Adeloju, S.B.; Bond, A.M.; Briggs, M.H., Assessment of differential-pulse adsorption voltammetry for the simultaneous determination of nickel and cobalt in biological materials, *Analytica Chimica Acta*, **1984**, 164, 181-194.
4. Adeloju, S.B.; Hadjichari, A., Simultaneous determination of nickel and cobalt in natural water and sediment samples on an in-situ plated mercury film electrode by adsorptive cathodic stripping voltammetry, *Analytical Sciences*, **1999**, 15(1), 95-100.
5. Adeloju, S.B.; Shaw, S.J., Indirect determination of surfactants by adsorptive voltammetry. Part 1: determination of trace and ultratrace concentrations of sodium dodecylbenzene sulfonate, *Electroanalysis*, **1994**, 6(8), 639-644.
6. Afgan, B.K.; Ryan, D.E., Spectrophotometric determination of nickel in sea water with pyridine-2-aldehyde-2-quinolylhydrazone, *Analytica Chimica Acta*, **1968**, 41(1), 167-170.
7. Aguilar, J.C.; Sánchez-Castellanos, M.; Rodríguez de San Miguel, E.; de Gyves, J.; Cd(II) and Pb(II) extraction and transport modeling in SLM and PIM systems using chelex 100 as carrier. *Journal of Membrane Science*, **2001**, 190, 107-118.
8. Akhond, M.; Shamsipur, M.; Highly efficient cooperative membrane transport of lead(II) ions by aza-18-crown-6 and palmitic acid. *Sep. Sci. Technol.*, **1997**, 32, 1223-1232.
9. Akhond, M.; Shamsipur, M.; Highly selective and efficient membrane transport of copper as $\text{Cu}(\text{SCN})_4^{2-}$ ion using K^+ -dicyclohexyl-18-crown-6 as carrier. *Separation Science and Technology*, **1995**, 30(15), 3061-3072.
10. Akhond, M.; Shamsipur, M.; Specific uphill transport of Cd^{2+} ion by a cooperative carrier composed of aza-18-crown-6 and palmitic acid. *Journal of Membrane Science*, **1996**, 117, 221-226.
11. Akiba, K.; Ito, M.; Nakamura, S.; Selective transport of yttrium (III) in the presence of iron (III) through liquid-membrane impregnating acidic organophosphonate mobile carrier. *J. Membr. Sci.*, **1997**, 129, 9-17.
12. Akl, M.A.A.; Kenawy, I.M.M.; Lasheen, R.R., Organically modified silica gel and flame atomic absorption spectrometry: employment for separation and preconcentration of nine trace heavy metals for their determination in natural aqueous systems, *Microchemical Journal*, **2004**, 78, 143-156.
13. Akman, S.; Ince, H.; Köklü, U., 3-(trimethoxysilyl)-1-propanethiol supported on silica gel for the separation and preconcentration of copper and cadmium in water, *Analytical Sciences*, **1991**, 7(5), 799-802.

14. Alguacil, F.J.; Alonso, M., Separation of zinc(II) from cobalt(II) solutions using supported liquid membrane with DP-8R (di(2-ethylhexyl) phosphoric acid) as a carrier, *Separation and Purification Technology*, **2005d**, 41, 179-184.
15. Alguacil, F.J.; Alonso, M.; Iron(III) transport using a supported liquid membrane containing Cyanex 921. *Hydrometallurgy*, **2000a**, 58(1), 81-88.
16. Alguacil, F.J.; Alonso, M.; Sastre, A.M.; Copper separation from nitrate/nitric acid media using Acorga M5640 extractant: Part II. Supported liquid membrane study. *Chemical Engineering Journal*, **2002a**, 85 (2-3), 265-272.
17. Alguacil, F.J.; Alonso, M.; Sastre, A.M.; Facilitated supported liquid membrane transport of gold (I) and gold (III) using Cyanex® 921. *Journal of Membrane Science*, **2005a**, 252(1-2), 237-244.
18. Alguacil, F.J.; Alonso, M.; Sastre, A.M.; Modelling of mass transfer in facilitated supported liquid membrane transport of copper(II) using MOC-55 TD in Iberfluid. *Journal of Membrane Science*, **2001d**, 184(1), 117-122.
19. Alguacil, F.J.; Alonso, M.; Transport of cadmium from a mixture of HCl and H₃PO₄ using phosphine oxides (Cyanex 921 and Cyanex 923) as carriers: the influence of the membrane diluents (Exxsol D100 and Solvesso 100). *Hydrometallurgy*, **2004a**, 74(3-4), 195-202.
20. Alguacil, F.J.; Alonso, M.; Separation of zinc(II) from cobalt(II) solutions using supported liquid membrane with DP-8R (di(2-ethylhexyl) phosphoric acid) as a carrier. *Separation and Purification Technology*, **2005c**, 41(2), 179-184.
21. Alguacil, F.J.; Carrier-mediated gold transport in the system Cyanex 921-HCl-Au(III). *Hydrometallurgy*, **2004b**, 71(3-4), 363-369.
22. Alguacil, F.J.; Coedo, A.G.; Dorado, M.T.; Padilla, I.; Phosphine oxide mediate transport: modelling of mass transfer in supported liquid membrane transport of gold (III) using Cyanex 923. *Chemical Engineering Science*, **2001c**, 56(10), 3115-3122.
23. Alguacil, F.J.; Coedo, A.G.; Dorado, M.T.; Sastre, A.M.; Uphill permeation of chromium (VI) using Cyanex 921 as ionophore across an immobilized liquid membrane. *Hydrometallurgy*, **2001a**, 61(1), 13-19.
24. Alguacil, F.J.; Coedo, A.G.; Dorado, M.T.; Transport of chromium (VI) through a Cyanex 923-xylene flat-sheet supported liquid membrane. *Hydrometallurgy*, **2000b**, 57(1), 51-56.
25. Alguacil, F.J.; Facilitated transport and separation of manganese and cobalt by a supported liquid membrane using DP-8R as a mobile carrier. *Hydrometallurgy*, **2002b**, 65(1), 9-14.
26. Alguacil, F.J.; Mechanistic study of active transport of copper(II) from ammoniacal/ammonium carbonate medium using LIX 973N as a carrier across a liquid membrane. *Hydrometallurgy*, **2001d**, 61(3), 177-183.
27. Alguacil, F.J.; Navarro, P.; Permeation of cadmium through a supported liquid membrane impregnated with CYANEX 923. *Hydrometallurgy*, **2001b**, 61, 137-142.

28. Alguacil, F.J.; Tayibi, H., Carrier-facilitated transport of Cd(II) from a high-salinity chloride medium across a supported liquid membrane containing Cyanex 923 in Solvesso 100, *Desalination*, **2005b**, 180, 181-187.
29. Ali, A.; et al., Determination of nickel after online sorbent preconcentration by FI-FAAS using dimethylglyoxime as a complexing agent, *Micrichemical Journal*, **1999**, 63, 365-373.
30. Alizadeh, N.; Salimi, S.; Jabbari, A.; Transport study of palladium through a bulk liquid membrane using hexadecylpyridinium as carrier. *Separation and Purification Technology*, **2002**, 28(3), 173-180.
31. Allen, H.E.; Importance of clean techniques and speciation in assessing waters quality for metals. *Hum. Ecol. Risk. Asses.*, **2000**, 6 (6), 989-1002.
32. Alonso, A.I.; Irabien, A.; Ortiz, M.I.; Nondispersive extraction of Cr(VI) with Aliquat 336: influence of carrier concentration. *Separation Science and Technology*, **1996b**, 31 (2), 271-282.
33. Alonso, A.I.; Pantelides, C.C.; Modeling and simulation of integrated membrane processes for recovery of Cr(VI) with Aliquat 336. *Journal of Membrane Science*, **1996a**, 110 (2), 151-167.
34. Alonso, A.I.; Urtiaga, A.M.; Irabien, A.; Ortiz, M.I.; Extraction of Cr(VI) with Aliquat 336 in hollow fiber contactors: mass transfer analysis and modeling. *Chemical Engineering Science*, **1994**, 49 (6), 901-909.
35. Alonso, A.I.; Urtiaga, A.M.; Zamacona, S.; Irabien, A.; Ortiz, I.; Kinetic modeling of cadmium removal from phosphoric acid by non-dispersive solvent extraction. *Journal of Membrane Science*, **1997**, 130(1-2), 193-203.
36. Alpoguz, H.K., Bulk liquid membrane transport of Hg(II) by a crown ether derivative, *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, **2006**, 43, 1265-1272.
37. Alpoguz, H.K.; Kaya, A.; Deligöz, H., Liquid membrane transport of Hg(II) by an azocalix[4]arene derivative, *Separation Science and Technology*, **2006b**, 41, 1155-1167.
38. Alpoguz, H.K.; Kaya, A.; Karakus, M., Mechanism and kinetics of copper (II) transport through a liquid membrane containing a dithiophosphonate derivative as carrier, *Turk J. Chem.*, **2005c**, 29, 345-353.
39. Alpoguz, H.K.; Kaya, A.; Memon, S.; Yilmaz, M., Kinetic study of Hg²⁺ transport through a liquid membrane containing calix[4]arene dinitrile oligomer as carrier, *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, **2005a**, 42, 1159-1168.
40. Alpoguz, H.K.; Memon, S.; Ersoz, M.; Yilmaz, M., Transport of Hg²⁺ ions across a supported liquid membrane containing calix[4]arene nitrile derivatives as a specific ion carrier, *Separation Science and Technology*, **2005b**, 40, 2365-2372.
41. Alpoguz, H.K.; Memon, S.; Ersoz, M.; Yilmaz, M., Transport kinetics of Hg²⁺ through bulk liquid membrane using calix[4]arene ketone derivative as carrier, *Separation Science and Technology*, **2004**, 39(4), 799-810.

42. Amore, C., et al., Relationship between heavy metals and sediments in the southern Ionian continental shelf, *Marine Pollution Bulletin*, **1983**, 14(9), 352-356.
43. Anastas, P.T. and Warner, J.C., "Green Chemistry: Theory and Practice", **2000**, Oxford University Press, New York, USA.
44. Aouad, N.; Miquel-Mercier, G.; Bienvenue, E.; Tronel-Peyroz, E.; Jeminet, G.; Juillard, J.; Seta, P.; Lasalocid (X537A) as a selective carrier for Cd(II) in supported liquid membranes. *Journal of Membrana Science*, **1998**; 139, 167-174.
45. APHA, AWWA and WPCF, *Métodos normalizados, para el análisis de aguas potables y residuales*, 17 Edición, Ed. Díaz Santos, S.A., **1992**.
46. APHA, AWWA, WEF, Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th Edition, Ed. Clesceri, L.S.; Greenberg, A.E. and Eaton, A.D., **1998**.
47. Apte, S.C.; Gunn, A.M., Rapid determination of copper, nickel, lead and cadmium in small samples of stuarine and coastal waters by liquid/liquid extraction and electrothermal atomic absorption spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, **1987**, 193, 147-156.
48. Araujo, M. F. D.; Bernard, P.C.; Grieken, R.E.van, Heavy metal contamination in sediments from the Belgian coast and Scheldt Estuary, *Marine Pollution Bulletin*, **1988**, 19(6), 269-273.
49. Araujo, P.W.; Brereton, R.G.; Experimental design I. Screening. "TRAC-Trends in Analytical Chemistry", **1996**, 15 (1), 26-31.
50. Arous, O.; Gherrou, A.; Kerdjoudj, H., Removal of Ag(I), Cu(II) and Zn(II) ions with a supported liquid membrane containing cryptands as carriers, *Desalination*, **2004**, 161, 295-303.
51. Ashraf, M.; Ahmad, S.; Malik, M.T.; Supported liquid membrane technique applicability for removal of chromium from tannery wastes. *Waste Management*, **1997**, 17(4), 211-218.
52. Ata, O.N., Modelling of copper ion transport through supported liquid membrane containing LIX 984, *Hydrometallurgy*, **2005b**, 77, 269-277.
53. Ata, O.N.; Çolak, S., Modelling of zinc transport through a supported liquid membrane, *Hydrometallurgy*, **2005a**, 80, 155-162.
54. Ay, U.; Čundeveva, K.; Akçin, G.; Stafilov, T.; Zajkova, V.P.; Pavlosvka, G., Cobalt(III) hexamethylene-dithiocarbamate as a new collector for flotation preconcentration of iron, nickel, lead, and zinc prior to ETAAS, *Analytical Letters*, **2004**, 37(4), 695-710.
55. Azcue, J.M.; Metales en Sistemas Biológicos. *Metales en el medio Ambiente*, **1993**, Ed. PPU, Barcelona.
56. Babu, D.R.; Naidu, P.R., A solvent extraction-atomic absorption technique for the simultaneous determination of low concentrations of iron, nickel, chromium and manganese in drinking water, *Talanta*, **1991**, 38 (2), 175-179.

57. Bağ, H.; Lale, M.; Türker, A.R., Determination of iron and nickel by flame atomic absorption spectrophotometry after preconcentration on *Saccharomyces cerevisiae* immobilized sepiolite, *Talanta*, **1998**, 47, 689-696.
58. Bagheri, H.; Saraji, M.; Naderi, M., Optimization of new activated carbon based sorbent for on-line preconcentration and trace determination of nickel in aquatic samples using mixed-level orthogonal array design, *Analyst*, **2000**, 125, 1649-1654.
59. Bagrat, A. A., Análisis de Suelo y Agua. 'Ed.' Instituto Nacional de Recursos Hidráulicos: La Habana, **1965**; 'Vol.' 1, pp. 103.
60. Baisch, P. R. N., et al., Metals in Coastal Environments of Latin America, 'Ed.' Springer-Verlag: Heidelberg-Berlin, **1988**; pp. 59-63.
61. Bakircioğlu, Y; Akman, S.; Biçak, N.; Şenkal, F., Determination of some trace heavy metals in some water samples by FAAS after their preconcentration using DETA, *Journal of Trace and Microprobe Techniques*, **2003**, 21(2), 239-248.
62. Barnes, D.E.; Taylor, M.J.C.; Marshall G.D.; Extraction of dicyanoaurate(I) using supported liquid membranes in a flow-injection manifold: evaluation of extractants. *Anal. Chim. Acta*, **1993**, 274, 283-292.
63. Bartsch, R.; Way, J. D.; Editors, *Chemical Separations with Liquid Membranes*, ACS, Washington, **1996**.
64. Basualto, C.; Marchese, J.; Valenzuela, F.; Acosta, A.; Extraction Molybdenum by supported liquid membrane method. *Talanta*, **2003**, 59, 999-1007.
65. Batley, G.E.; Matousek, J.P., Determination of heavy metals in seawater by atomic absorption spectrometry after electrodeposition on pyrolytic graphite-coated tubes, *Analytica Chimica*, **1977**, 49(13), 2031-2035.
66. Batterham, G.J.; Munksgaard, N.C.; Parry, D.L., Determination of trace metals in sea-water by inductively coupled plasma mass spectrometry after off-line dithiocarbamate solvent extraction, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **1997**, 12, 1277-1280.
67. Batterham, G.J.; Parry, D.L., Improved dithiocarbamate/oxime solvent extraction method for the preconcentration of trace metals from seawater using metal exchange back-extraction, *Marine Chemistry*, **1996**, 55, 381-388.
68. Bayen, S.; Worms, I.; Parthasarathy, N.; Wilkinson, K.; Buffle, J., Cadmium bioavailability and speciation using the permeation liquid membrane, *Analytica Chimica Acta*, **2006**, 575, 267-273.
69. Bayne, C.K.; Rubin I.B; "Practical Experimental Designs and Optimization Methods for Chemists", **1986**, VCH Publishers, Inc., Deerfield Beach, Florida, USA.
70. Beccaloni, E.; Musmeci, L.; Spaziani, R.; Stacul, E., Sequential extraction of heavy metals from polluted marine sediments, *Proceedings of the International Conference on Remediation of Chlorinated and Recalcitrant Compounds*, 4th, Monterrey, CA, United States, May 24-27, **2004**, 4D.03/1-4D.03/8.

Bibliografia

- 71.** Beck, N.G.; Franks, R.P.; Bruland, K.W., Analysis for Cd, Cu, Ni Zn, and Mn in estuarine water by inductively coupled plasma mass spectrometry coupled with an automated flow injection system, *Analytica Chimica Acta*, **2002**, 455, 11-22.
- 72.** Bellair, P.; Pomerol, C., *Eléments de Géologie*, 'Ed.' Armand Colin: Paris, **1977**.
- 73.** Bergamaschi, G., et al., Organotin complexes with pyrrole-2-carboxaldehyde monoacylhydrazones. Synthesis, spectroscopic properties, antimicrobial activity, and genotoxicity, *Journal of Inorganic Biochemistry*, **1997**, 68, (4), 295-305.
- 74.** Bermond, A., Critical examination of sequential extraction protocols, *Elements Traces Metalliques les Sols*, **2002**, 423-434.
- 75.** Betti, M.; *Annali di Chimica*, **1982**, 82, 323-337.
- 76.** Bing, C.; et al., Chemical accumulation and voltammetry determination of traces of nickel (II) at glassy carbon electrodes modified with dimethylglyoxime containing polymer coatings, *Talanta*, **1999**, 49, 651-659.
- 77.** Bond, A.M.; Luscombe, D.L., The influence of ultra-violet irradiation on the determination of nickel and cobalt in natural waters by adsorption voltammetry, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **1986**, 214, 21-29.
- 78.** Bowles, K.C.; Apte, S.C.; Batley, G.E.; Hales, L.T.; Rogers, N.J., A rapid Chelex column method for the determination of metal speciation in natural waters, *Analytica Chimica Acta*, **2006**, 558, 237-245.
- 79.** Brayner, F.M.M.; Philippini-Da Silva, H.K.; Barbosa, A.N.D.F., *Environmental Science and Pollution Research International*, **2001**, 8(4), 269-274.
- 80.** Breembrocek, G.R.M.; Witkamp, G.J.; van Rosmalen, G.M.; Extraction of cadmium with trilaurylamine-kerosine through a flat-sheet-supported liquid membrane. *Journal of Membrane Science*, **1998**, 147, 195-206.
- 81.** Brett, C.M.A.; Oliveira-Brett, A.M.C.F.; Pereira, J.L.C., Adsorptive stripping voltammetry of cobalt and nickel in flow systems at wall-jet electrodes, *Electroanalysis*, **1991**, 3(7), 683-689.
- 82.** Bromberg, L.; Levin, G.; Libman, J.; Shanzer, A.; A novel tetradentate hydromate as ion carrier in liquid membranes. *J. Membr. Sci.*, **1992**, 69, 143-153.
- 83.** Bromberg, L.; Lewin, I.; Warshawsky, A.; Membrane extraction of mercury (II) and silver (I) by bis(di(2-ethylhexyloxy)thiophosphoryl)disulfide. *Hydrometallurgy*, **1993**, 33, 59-71.
- 84.** Brooks, R.R.; Presley, B.J.; Kaplan, I.R., APDC-MIBK extraction system for the determination of trace elements in saline waters by atomic-absorption spectrophotometry, *Talanta*, **1967**, 14, 809-816.
- 85.** Brügmann, L.; et al., Intercomparison of different methods for the determination of trace metals in seawater, *Marien Chemistry*, **1983**, 13, 327-339.
- 86.** Bruland, K.W.; *Trace elements in seawater, en Chemical Oceanography*, **1983**, Ed. J.P. Riley, R. Chester London: Academic Press.
- 87.** Bryan, G.W.; *Heavy metal contamination in the sea, en Marine Pollution*, **1976**, Ed. R. Jonhston London (England): Academic Press.

88. Buchanan, J. B.; Kain, J. M., Methods for the Study of Marine Benthos. In IBP Handbook No. 16, ed.; Holme, N. A.; Mc Intyre, A. D., 'Ed.' London, **1971**; Ch. 3.
89. Buchmann, M.F.; *NOAA Screening Quick Referente Tables*, **1999**, NOAA HAZMAT Report 99-1, Coastal Protection and Restoration Division, Nacional Oceanic and Atmospheric Administration.
90. Bukhari, N.; Chaundry, M.A.; Mazhar, M.; Cobalt (II) transport through triethanolamine-cyclohexanone supported liquid membranes. *Journal of Membrane Science*, **2004**, 234, 157-165.
91. Caballero, M.; Cela, R.; Pérez-Bustamante, J.A., Analytical applications of some flotation techniques, *Talanta*, **1990**, 37, 275-300.
92. Calace, N.; De Paolis, F.; D'Orazio, D.; Petronio, B. M., Metal Speciation in Arno River Sediments. *Annali di Chimica*, **1997**, 87, 743-751.
93. Campanella, L.; D'Orazio, D.; Petronio, B. M.; Pietrantonio, E., Proposal for a Metal Speciation Study in Sediments. *Analytica Chimica Acta*, **1995**, 309, 387-393.
94. Campanella, L.; Pyrzynska, K.; Trojanowicz, M.; Chemical speciation by flow-injection analysis. A review. (Papers presented at the Seventh International Conference on Flow Injection Analysis, 1995); *Talanta*, **1996**, 43(6), 825-838.
95. Campbell, P.G.C.; Errécalde, O.; Fortín, C.; Hiriart-Baer, V.P.; Vigneult, B.; Metal bioavailability to phytoplankton. Aplicability of the biotic ligand model. *Comp. Biochem. Physiol., Part C*, **2002**, 133, 189 – 206.
96. Campderrós, M.; Marchese, J.; Facilitated transport of niobium(V) and tantalum (V) with supported liquid membrane using TBP as carrier. *Journal of Membrane Science*, **2000**, 164, 205-210.
97. Campderrós, M.E.; Acosta, A.; Marchese, J.; Selective separation of copper with Lix 864 in a hollow fiber module. *Talanta*, **1998a**, 47, 19-24.
98. Campderrós, M.E.; Acosta, A.O.; Marchese, J.; Coupled transport of copper through different commercial supports containing LIX 984 as carrier. *J.Chem. Technol. Biotechnol.*, **1998b**, 72, 55-59.
99. Campderrós, M.E.; Marchese, J.; Transport of niobium(V) through a TBP-Alamine 336 supported liquid membrane from chloride solutions. *Hydrometallurgy*, **2001**, 61 (2), 89-95.
100. Canadian Sediment Quality Guidelines for the protection of Aquatic life. Canadian Council of Ministers of Environment. **2001**
101. Cantle, J. E., Atomic Absorption Spectrometry. ed.; Elsevier: Amsterdam, **1982**.
102. Carminati-Lima, M. Extracción Secuencial e Determinación de Chumbo, Cobre e Cadmio por Espectrometría de Absorción Atómica con Atomización Electrotérmica en Sedimento do Río Tubarão: Estudio Comparativo do Método Tesier co Método do BCR. Tesis Doctoral, Tubarão, **2001**.
103. Casas, J.M.; Rubio, R.; Rauret, R.; Estudio de los sedimentos del río Cardener II. Contaminación por metales pesados. *Tecnología del agua*, **1990**, 74, 17-24.

104. Catalán, J.; Catalán, J.M.; *Ríos. Caracterización y calidad de sus aguas*. **1987**, Editorial Dihrox. Madrid, 264 p.p.
105. Chakraborty, M.; Bhattacharya, C.; Datta, S., Study of the stability of W/O/W-type emulsion during the extraction of nickel via emulsion liquid membrane, *Separation Science and Technology*, **2004**, 39(11), 2609-2625.
106. Chakraborty, M.; Murthy, Z.V.P.; Bhattacharya, C.; Datta, S., Process intensification: Extraction of chromium(IV) by emulsion liquid membrane, *Separation Science and Technology*, **2005**, 40, 2353-2364.
107. Chakravarti, A.K.; Chowdhury, S.B.; Chakrabarty, S.; Chakrabarty, T.; Mukherjee, D.C., Liquid membrane multiple emulsion process of chromium(VI) separation from waste waters. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **1995**, 103(1-2), 59-71.
108. Chakravarti, A.K.; Chowdhury, S.B.; Mukherjee, D.C.; Liquid membrana multiple emulsion process of separation of copper (II) from wate waters. *Colloids and surface. A: Physicochemical and Engineering Aspectss*; **2000**, 166, 7-25.
109. Charlou, J. L.; Joanny, M., Manuel des Analyses Chimiques en Milieu Marin, 'Ed.' CNEXO: Brest, **1983**; Cap. XXIV.
110. Chaudry, M.A.; Ahmad, B.; Technetium-99m extraction and transport across tri-n-octylamine-xylene based supported liquid membranes. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **1996**, 204(2), 379-400.
111. Chaudry, M.A.; Ahmad, S.N.; Iqbal, M.Z.; Ahmad, B.; Karim, H.M.A.; Transport of technetium-99m across TBP kerosene oil supported liquid membranes. *J. Radioanal. Nucl. Chem*, **1993**, 172(2), 371-385.
112. Chaudry, M.A.; Ahmed, B.; Supported liquid membrane extraction study of $(\text{MoO}_4)_2^-$ ions using tri-n-octylamine as carrier. *Sep. Sci. Technol.*, **1992c**, 27(8-9), 1125-1236.
113. Chaudry, M.A.; Ahmed, B.; Transport study of hafnium (IV) and zirconium (IV) ions mutual separation by using tri-n-butyl phospahte-xylene-based supported liquid membranes. *Sep. Sci. Technol.*, **1992b**, 27(2), 199-212.
114. Chaudry, M.A.; Malik, M.T.; Ahmad, M.; Supported liquid membrane extraction of W(VI) ions using tri-n-octylamine as carrier. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **1991**, 150(2), 383-396.
115. Chaudry, M.A.; Malik, M.T.; Ahmad, M.; Transport of titanium (IV) ions across di-2-ethylhexylphosphoric acid- CCl_4 supported liquid membranes. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **1992a**, 157(1), 143-158.
116. Chaudry, M.A.; Malik, M.T.; Ali, A.; Transport of Co(II) ions through di(2-ethylhexyl)phosphoric acid- CCl_4 supported liquid membranes. *Sep. Sci. Technol.*, **1990a**, 25(11-12), 1161-1174.
117. Chaudry, M.A.; Malik, M.T.; Ali, A.; Transport of Mo(VI) ions through tri-n-octylamine-xylene based supported liquid membranes. *Sep. Sci. Technol.*, **1990b**, 25(3), 263-291.

118. Chaudry, M.A.; Malik, M.T.; Hussain, K.; Coupled transport of Zr(IV) through tri-n-butyl phosphate-xylene-based supported liquid membranes. *Sep. Sci. Technol.*, **1989/90**, 24(15), 1293-1316.
119. Chaudry, M.A.; Ul-Islam, N.; Ahmad, I.; Extraction and stripping study of strontium ions across D2EHPA-TBP-kerosene oil based supported liquid membranes. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **1994a**, 185(2), 369-385.
120. Chaudry, M.A.; Ul-Islam, N.; Ur-Rehman, N.; Transport of U(VI) ions in high concentrations across coupled transport TBP-kerosene oil supported liquid membranes. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **1994b**, 185(2), 387-399.
121. Chaudry, M.A.; Ul-Islam, N.; Ur-Rehman, N.; Yasin, Z.; Nitrate ion transport across TBP-kerosene oil supported liquid membranes coupled with uranyl ions. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **1995**, 189(2), 207-218.
122. Chen, L.; He, X.; Zhao, B.; Liu, Y.; Calixarene derivative as the neutral carrier in silver ion-selective electrode and liquid membrane transport. *Analytica Chimica Acta*, **2000**, 417(1), 51-56.
123. Chernov, A. A., et.al., *Sobremenniaia Kristallografia*. 'Ed.' Izd. Nauka: Moskva, **1980**; 'Vol.' 3, pp. 43.
124. Chiarizia, R.; Horwitz, E.P.; Rickert, P.G.; Hodgson, K.M.; Application of supported liquid membranes for removal of uranium from groundwater. *Sep. Sci. Technol.*, **1990**, 25(13-15), 1571-1586.
125. Chimuka, L.; Cukrowska, E.; Soko, L.; Naicker, K.; Supported-liquid membrane extraction as a selective sample preparation technique for monitoring uranium in complex matrix samples. *J. Sep. Science*, **2003**, 2(6-7), 601-608.
126. Chitra, K.R.; Gaikwad, A.G.; Surender, G.D.; Damodaran, A.D.; Studies on ion transport of some rare earth elements through solvating extractants immobilised on supported liquid membranes. *J. Membr. Sci.*, **1997**, 125, 257-268.
127. Chun-Gang, Y.; et al., Speciation of heavy metals in marine sediments from the East China Sea by ICP-MS with sequential extraction, *Environment International*, **2004**, 30(6), 769-783.
128. Clark, R.B.; *Marine Pollution*, **1992**, 3rd ed., Clarendon Press, Oxford.
129. Cobelo-García, A.; Santos-Echeandia, J.; Prego, R.; Nieto, O., Direct simultaneous determination of Cu, Ni, and V in seawater using adsorptive cathodic stripping voltammetry with mixed ligands, *Electroanalysis*, **2005**, 17(10), 906-911.
130. Colombo, C.; van den Berg, C.M.G., Simultaneous determination of several trace metals in seawater using cathodic stripping voltammetry with mixed ligands, *Analytica Chimica Acta*, **1997**, 337(1), 29-40.
131. Conaway, C.H.; Squire, S.; Mason, R.P.; Flegal, A.R.; Mercury speciation in the San Francisco Bay estuary. *Mar. Chem.*, **2003**, 80, 199-225.
132. Cook, S.R.; Parker, A., Sequential extraction and single-step cold-acid extraction: A feasibility study for use with freshwater-canal sediments, *Water, Air, & Soil Pollution*, **2006**, 170(1-4), 95-105.

- 133.** Cooper, C.A.; Lin, Y.S.; Gonzalez, M., Separation properties of surface modified silica supported liquid membranes for divalent metal removal/recovery, *Journal of Membrane Science*, **2004**, 229, 11-25.
- 134.** Cordero, M.T.S.; et al., Computer-assisted SIMPLEX optimisation of an on-line preconcentration system for determination of nickel in sea-water by electrothermal atomic absorption spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **1999**, 14, 1033-1037.
- 135.** Cotté-Krief, M.H.; Guieu, C.; Thomas, A.J.; Martin, J.M.; Sources of Cd, Cu, Ni and Zn in Portuguese coastal waters. *Mar. Chem.*, **2000**, 71, 199-214.
- 136.** Coung, D.T.; Obbard, J.P., Metal speciation in coastal marine sediments from Singapore using a modified BCR-sequential extraction procedure, *Applied Geochemistry*, **2006**, 21(8), 1335-1346.
- 137.** Craba, L., et al., Comparison of three sequential extraction procedures (original and modified 3 steps BCR procedure) applied to sediments of different origin, *Annali di Chimica (Rome, Italy)*, **2004**, 94(5-6), 409-419.
- 138.** Crompton, T.R.; *Toxicants in aqueous ecosystems*, **1997**, John Wiley & Sons, Chichester (England).
- 139.** Dadfarnia, S.; Shamsipur, M.; Highly selective membrane transport of zinc(2+) ion by a cooperative carrier composed of 1,10-diaza-18-crown-6 and palmitic acid. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, **1992b**, 65(10), 2779-2783.
- 140.** Dadfarnia, S.; Shamsipur, M.; Specific membrane transport of copper(II) ion by a cooperative carrier composed of 1,7-diaza-15-crown-5 and palmitic acid. *Journal of Membrane Science*, **1992a**, 73, 61-68.
- 141.** Danesi, P.R.; Separation of metal species by supported liquid membranes. *Separation Science and Technology*, **1984-1985**, 19(11-12), 857-894.
- 142.** Danielsson, L.G., Cadmium, cobalt, iron, lead, nickel and zinc in indian ocean water, *Marine Chemistry*, **1980**, 8, 199-215.
- 143.** Danielsson, L.G.; et al., Trace metal determinations in estuarine waters by electrothermal atomic absorption spectrometry after extraction of dithiocarbamate complexes into freon, *Analytica Chimica Acta*, **1982**, 144, 183-188.
- 144.** Davidson, C. M.; et al., Should acid ammonium oxalate replace hydroxylammonium chloride in step 2 of the revised BCR sequential extraction protocol for soil and sediment? *Analytica Chimica Acta*, **2004**, 508(2), 193-199.
- 145.** Davidson, C. M.; Thomas, R. P.; McVey, S. E.; Peralta, R.; Littlejohn, D.; Ure, A. M., Evaluation of Sequential Extraction Procedure for the Speciation of Heavy Metals in Sediments. *Analytica Chimica Acta*, **1994**, 291, (3), 277-286.
- 146.** de Gyves, J.; Rodríguez de San Miguel, E.; Metal ion separations by Supported Liquid Membranes. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **1999**, 38 (6), 2182-2202.
- 147.** de Haan, A.B.; Bartels, P.V.; de Graauw, J.; Extraction of metal ions from wastewater. Modelling of the mass transfer in a supported-liquid-membrane process. *J. Membr. Sci.*, **1989**, 45, 281-297.

148. De la Guardia, M.; Cervera, M.; Speciation studies by atomic spectroscopy. *Advances in Atomic Spectroscopy*, **1999**, 5, 1-98.
149. Del Moral, A., *Aplicaciones analíticas de la bis—saliciloil-hidrazona de la 1,2-ciclohexanodiona. Determinación espectrofotométrica de Ti(IV)*, Tesis de Licenciatura, Universidad de Cádiz, **1986**.
150. Dimitrov, K.; Rollet, V.; Saboni, A., Cobalt recovery from sulfate media applying a liquid membrane containing Cyanex 302, *Chem. Eng. Technol.*, **2006**, 29(5), 625-630.
151. Dingsheng, H.; Xiaojian, L.; Chunming, Y.; Ming, M., Yan, W., Study of transport and separation of Zn(II) by combined supported liquid membrane/strip dispersion process containing D2EHPA in kerosene as the carrier, *Desalination*, **2006**, 194, 40-51.
152. Djane, N.; Armalis, S.; Ndung'u, K.; Johansson, G.; Mathiasson, L.; Supported liquid membrane coupled on-line to potentiometric stripping analysis at a mercury-coated reticulated vitreous carbon electrode for trace metal determinations in urine. *Analyst*, **1998**, 123(2), 393-396.
153. Djane, N.; Ndung'u, K.; Johansson, C.; Sartz, H.; Tornstrom, T.; Mathiasson, L.; Chromium speciation in natural waters using serially connected supported liquid membranes. *Talanta*, **1999**, 48(5), 1121-1132.
154. Djane, N.K.; Bergdahl, I.A.; Ndung'u, K.; Schutz, A.; Johansson, G.; Mathiasson, L.; Supported liquid membrane enrichment combined with atomic absorption spectrometry for the determination of lead in urine. *Analyst*, **1997b**, 122(10), 1073-1077.
155. Djane, N.-K.; Ndung'u, K.; Malcus, F.; Johansson, G.; Mathiasson, L., Supported liquid membrane enrichment using an organophosphorus extractant for analytical trace metal determinations in river waters, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, **1997a**, 358(7-8), 822-827.
156. Dolezal, J.; Moreno, C.; Hrdlicka, A.; Valiente, V.; Selective transport of lanthanides through supported liquid membranes containing non-selective extractant, di-(2-ethylhexyl)phosphoric acid, as a carrier. *Journal of Membrane Science*, **2000**, 168(1-2), 175-181.
157. Domínguez, F. C.; Rodríguez, J.; Díaz, C.; Pomés, R., Caracterización Química y de Fases de los Sedimentos del Río Martín Pérez. *Revista CENIC Ciencias Químicas*, **2001**, 32(3), 129-133.
158. Domínguez, F. C.; Rodríguez, J.; Díaz, C.; Pomés, R., Chemical and Phase Characterization of Sediments of the Martín Pérez River. *Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy*, **2002**, 47(3), 60-65.
159. Donat J.R.; Bruland, K.W., Simultaneous determination of dissolved cobalt and nickel in seawater by cathodic stripping voltammetry preceded by collection of cyclohexane 1,2 dione dioxime complexes, *Analytical Chemistry*, **1988**, 60, 240-244.

- 160.** Dozol, J.F.; Casas, J.; Sastre, A.M.; Transport of cesium from reprocessing concentrate solutions through flat-sheet-supported liquid membranes: influence of the extractant. *Sep. Sci. Technol.*, **1995**, 30(3), 435-448.
- 161.** Dreesen, D.W.; Williams, J.M.; Marple, M.L.; Gladney, E.; Perrin, D.R.; Mobility and bioavailability of uranium mill tailings contaminants. *Environ. Sci. Technol.*, **1982**, 16, 702-709.
- 162.** Duffus, J. H., In *Toxicología Ambiental*, 'Ed.' Omega: Edimburgo, **1984**; pp. 82-94.
- 163.** Ebrahimzadeh, H.; Yamini, Y.; Highly efficient transport of indium in bulk liquid membranes containing D2EHPA as carrier. *Indian Journal of Chemistry, Section A: Inorganic, Bio-inorganic, Physical, Theoretical & Analytical Chemistry*, **2004**, 43A (6), 1198-1201.
- 164.** Economou, A.; Fielden, P.R., Simultaneous determination of nickel(II) and cobalt(II) by square-wave adsorptive stripping voltammetry on a rotating disc mercury film electrode, *Analyst (London)*, **1993**, 118(1), 47-51.
- 165.** El Aamrani, F.Z.; Kumar, A.; Beyer, L.; Florido, A.; Sastre, A.M.; Mechanistic study of active transport of silver(I) using sulfur containing novel carriers across a liquid membrane. *Journal of Membrane Science*, **1999**, 152(2), 263-275.
- 166.** Ellass, K; Laachach, A.; Azzi, M., Three-stage sequential extraction procedure for metal partitioning in polluted soils and sediments, *Annali di Chimica (Rome, Italy)*, **2004**, 94(4), 325-332.
- 167.** El-Said, N.; Abdel Rahman, N.; Borai, E.H.; Modification in Purex process using supported liquid membrane separation of cerium(III) via oxidation to cerium(IV) from fission products from nitrate medium by SLM. *Journal of Membrane Science*, **2002**, 198(1), 23-31.
- 168.** El-Said, N.; El-Sheref, E.; Borai, E.; Modeling of transport of Cs (137) by emulsion liquid membrane (18C6) in xylene promoted by ephedrine hydrochloride in stripping phase. *Journal of Membrane Science*, **2003**, 211(2), 183-191.
- 169.** ENIA (European Nickel Industry Association), *Nickel Forum*, **2006**, http://www.enia.org/index.cfm/ci_id/12906/la_id/1.htm.
- 170.** Ensafi, A.A.; Zarei, K., Simultaneous determination of trace amounts of cadmium, nickel and cobalt in water samples by adsorptive voltammetry using ammonium 2-amino-cyclopentene dithiocarboxylate as a chelating agent, *Talanta*, **2000**, 52(3), 435-440.
- 171.** EPA, Method 3015, Microwave assisted acid digestion of aqueous samples and extracts, **1994a**.
- 172.** EPA, Method 6020, Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry, **1994b**.
- 173.** Eskilsson, H.; Haraldsson, C.; Jagner, D., Determination of nickel and cobalt in natural waters and biological material by reductive chronopotentiometric stripping analysis in a flow system without sample deoxygenation, *Analitica Chimica Acta*, **1985**, 175, 79-88.

- 174.** Eyal, A.; Kislik, V.; Aqueous hybrid liquid membrane a novel system for separation of solutes using water-soluble polymers as carriers. *Journal of Membrane Science*, **1999**, 161 (1-2), 207-221.
- 175.** Fakhari, A.R.; Khorrami, A.R.; Shamsipur, M., Selective uphill Zn^{2+} transport via a bulk liquid membrane using an azacrown ether carrier, *Separation and Purification Technology*, **2006**, 50, 77-81.
- 176.** Farghaly, O.A., Direct and simultaneous voltammetric analysis of heavy metals in tap water samples at Assiut city: an approach to improve the analysis time for nickel and cobalt determination at mercury film electrode, *Microchemical Journal*, **2003**, 75(2), 119-131.
- 177.** Farhadi, K.; Shamsipur, M., Separation study of cadmium as CdI_4^{2-} through a bulk liquid membrane containing ketoconazole and oleic acid, *Analytical Sciences*, **2005**, 21, 501-505.
- 178.** Farhadi, K.; Shamsipur, M.; Separation study of palladium through a bulk liquid membrane containing thioridazine-HCl and oleic acid. *Separation Science and Technology*, **2000**, 35(6), 859-868.
- 179.** Farmer, J.G.; The analytical chemist in studies of metal pollution in sediment cores. *Anal. Proc Fifth SAC Conference*, **1981**, 249-252.
- 180.** Fernandez-Turiel, J.L.; Llorens-Benito, J.F.; López-Soler, A.; Cabañas-Albero, M.; Querol-Carceller, X.; La calidad de las aguas continentales españolas. Estado actual e investigación: Problemática de los metales pesados en aguas continentales naturales y recicladas, **1995**, Ed. M. Alvarez Cobelas y F. Cabrera Capitán, 307 pp.
- 181.** Ferreira S.L.C.; et al., An on-line continuous flow system for copper enrichment and determination by flame atomic absorption spectroscopy, *Analytica Chimica Acta*, **2000**, 403(1), 259-264.
- 182.** Feuerstein, M.; Schlemmer, G., The simultaneous determination of Pb, Cd, Cr, Cu and Ni in potable and surface waters by GFAAS according to international regulations, *Atomic Spectroscopy*, **1999**, 20 (4), 149-154.
- 183.** Fiedler, H. D.; López-Sánchez, J. F.; Rubio, R.; Rauret, G., Study of the Stability of Extractable Trace Metal Contents in a River Sediment Using Sequential Extraction. *Analyst*, **1994**, 119, 1109-1114.
- 184.** Filgueiras, A.V.; Lavilla, I.; Bendicho, C., *Chemical sequential extraction for metal partitioning in environmental solid samples*, **2002a**, 4(6), 823-857.
- 185.** Filgueiras, A.V.; Lavilla, I.; Bendicho, C., Comparison of the standard SM&T sequential extraction method with small-scale ultrasound-assisted single extractions for metal partitioning in sediments, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2002b**, 374(1), 103-108.
- 186.** Filho, V.R.A.; et al., Evaluation of the mixtures ammonium phosphate/magnesium nitrate and palladium nitrate/magnesium nitrate as modifiers for simultaneous determination of Cd, Cr, Ni and Pb in mineral water by GFAAS, *J. Braz. Chem. Soc.*, **2004**, 15 (1), 28-33.

- 187.** Flegal, A.R.; et al., Dissolved trace element cycles in the San Francisco Bay estuary. *Marine Chemistry*, **1991**, 36, 329-363.
- 188.** Flora, C.J.; Nieboer, E., Determination of nickel by differential pulse polarography at a dropping mercury electrode, *Analytical Chemistry*, **1980**, 52, 1013.
- 189.** Fontas, C.; Antico, E.; Salvado, V.; Valiente, M.; Hidalgo, M.; Chemical pumping of rhodium by a supported liquid membrane containing Aliquat 336 as carrier. *Analytica Chimica Acta*, **1997**, 346 (2), 199-206.
- 190.** Fontàs, C.; Hidalgo, M.; Salvadó, V.; Anticó, E., Selective recovery and preconcentration of mercury with a benzoylthiourea-solid supported liquid membrane system, *Analytica Chimica Acta*, **2005**, 547, 255-261.
- 191.** Förstner, U., Metal speciation - General concepts and applications. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, **1993**, 51(1-4), 5-23.
- 192.** Förstner, U.; Wittman, G. T. W., *Metal Pollution in the Aquatic Environment*, 'Ed.' Springer-Verlag: Berlin-Heidelberg-New York, **1979**.
- 193.** Förstner, U.; Wittmann, G.T.W., Heavy metal accumulation in river sediments: a response to environmental pollution, *Geoforum*, **1973**, 145, 53-61.
- 194.** Förstner, U.; Wittmann, G.T.W., *Metal Pollution in the Aquatic Environment*, **1983**, Second revised Edition. Springer- Verlag, Berlín (Alemania).
- 195.** Frimmel, F.H.; Gremm T.; The importance of element speciation water analysis - a plea for further investigations. *Fresenius J. Anal. Chem*, **1994**, 350, 7-13.
- 196.** Fu, J.; Nakamura, S.; Akiba, K.; Extraction of platinum (IV) with trioctylamine and its application to liquid membrane transport. *Sep. Sci. Technol.*, **1995b**, 30(4), 609-619.
- 197.** Fu, J.; Nakamura, S.; Akiba, K.; Selective transport of platinum (IV) from a palladium (II) mixture across a liquid membrane impregnated with an 8-quinolinol derivative. *J. Membr. Sci.*, **1995a**, 107, 283-288.
- 198.** Fu, J.; Nakamura, S.; Akiba, K.; Transport of palladium (II) through trioctylamine liquid membrane. *Sep. Sci. Technol.*, **1995c**, 30(5), 793-803.
- 199.** Fu, S.S.; Mastuyama, H.; Teramoto, M.; Ce(III) recovery by supported liquid membrane using polyethylene hollow fiber prepared via thermally induced phase separation. *Separation and Purification Technology*, **2004**, 36(1), 17-22.
- 200.** Furness, R.W.; Rainbow, P.S.; *Heavy metals in the marine environment*, **1990**. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- 201.** Fu-sheng, W.; et al., Sensitive spectrophotometric determination of nickel (II) with 2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-diethylaminophenol, *Talanta*, **1980**, 28, 189-191.
- 202.** Galindo, L.; Muñoz, M.; Valiente, M.; A hollow fiber liquid supported membrane for separation of silver ions. *Biol. Synth. Membr. Prog. Clin. Biol. Res.*, **1989**, 292, 193-201.
- 203.** García, J. M.; Travieso, H.; Abreu, O.; Cabrera, F.; Hernández, R., Evaluación de la Carga Contaminante Afluente a la Bahía de la Habana, Aportada por los Ríos

- Luyano, Martín Pérez y Arroyo Tadeo. Revista Voluntad Hidráulica, **1984**, 64, 34-58.
- 204.** García-Valls, R.; Muñoz, M.; Valiente, M.; Selective separation of lanthanides by supported liquid membranes containing Cyanex 925 as a carrier. *Analytica Chimica Acta*, **1999**, 387(1), 77-84.
- 205.** García-Vargas, M.; Bautista, J.M.; De Toro, P.; Analytical possibilities of pyridine-2-acetaldehyde benzoylhydrazone as a chromogenic reagent, *Microchemical Journal*, **1981**, 26(4), 557-568.
- 206.** García-Vargas, M.; Hernández-Artigas, M.P.; Pérez-Bustamante, J.A.; Liquid-Liquid extraction with 2-acetylpyridinebenzoylhydrazone in the determination of traces of copper, nickel, cobalt and zinc by atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, **1984**, 157(2), 363-367.
- 207.** Gholivand, M.B.; Khorsandipoor, S.; Selective and efficient uphill transport of Cu(II) through bulk liquid membrane using N-ethyl-2-aminocyclopentene-1-dithiocarboxylic acid as carrier. *Journal of Membrane Science*, **2000**, 180(1), 115-120.
- 208.** Ghoneim, M.M.; Hassanein, A. M.; Hammam, E.; Beltagi, A. M., Simultaneous determination of Cd, Pb, Cu, Sb, Bi, Se, Zn, Mn, Ni, Co and Fe in water samples by differential pulse stripping voltammetry at a hanging mercury drop electrode, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, **2000**, 367(4), 378-383.
- 209.** Gill, J. S.; Singh, H.; Gupta, C. K., Studies on supported liquid membrane for simultaneous separation of Fe (III), Cu (II) and Ni (II) from dilute feed, *Hydrometallurgy*, **2000**, 55(1), 113-116.
- 210.** Gismera, M.J.; et al., Study of metal fractionation in river sediments. A comparison between kinetic and sequential extraction procedures, *Environmental Pollution (Amsterdam, Netherlands)*, **2003**, 127(2), 175-182.
- 211.** Gleyzes, C.; Tellier, S.; Astruc, M., Fractionation studies of trace elements in contaminated soils and sediments: a review of sequential extraction procedures, *TrAC, Trends in Analytical Chemistry*, **2002**, 21(6+7), 451-467.
- 212.** Godlewska, B.; Golimowski J; Hulanicki A; van den Berg C M Determination of cobalt in blood using cathodic stripping voltammetry, *Analyst (London)*, **1995**, 120(1), 143-147.
- 213.** Golimowski, J.; Ntirnerberg, H.W.; Valenta, P., *Lebensmittelchemie Gerichtl Chem*, **1980**, 34, 116-120.
- 214.** Gómez, A. J. L.; Giráldez, I.; Sánchez-Rodas, D.; Morales, E., Metal Sequential Extraction Procedure Optimized for Heavily Polluted and Iron Oxide Rich Sediments. *Analytica Chimica Acta*, **2000**, 414, 151-164.
- 215.** González, H. Estudio de la Contaminación Marina por Metales Pesados en Algunas Áreas Cubanas. Tesis Doctoral, La Habana, **1989**.
- 216.** González, H., **2001**, Comunicación personal.
- 217.** González, H., *Manejo Ambiental de Zonas Costeras*, Ciclo de Conferencias, Cartagena de Indias, Colombia, **1996**.

- 218.** González, P.; Cortínez, V.A.; Fontán, C.A., Determination of nickel by anodic adsorptive stripping voltammetry with a cation exchanger-modified carbon paste electrode, *Talanta*, **2002**, 58(4), 679-690.
- 219.** Granado-Castro, M.D.; Galindo-Riaño, M.D.; García-Vargas, M.; Model Experiments to Test the Use of a Liquid Membrane for Separation and Preconcentration of Copper from Natural Water, *Anal. Chim. Acta*, **2004a**, 506, 81-86.
- 220.** Granado-Castro, M.D.; Galindo-Riaño, M.D.; García-Vargas, M.; Separation and Preconcentration of Cadmium Ions in Natural Water using a Liquid Membrane System with 2-Acetylpyridine Benzoylhydrazone as Carrier by Flame Atomic Absorption Spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B*, **2004b**, 59, 577-583.
- 221.** Gray, J.S.; Biomagnification in marine systems: the perspective of an ecologist. *Mar. Pollut. Bull.*, **2002**, 45, 46-52.
- 222.** Greenaway, A.M.; Rankine Jones, A.I.; 1992. Elemental concentrations in coastal sediments from Hellshire, Jamaica. *Mar. Pollut. Bull.*, **1992**, 24, 390-397.
- 223.** Guha, A.K.; Yun, C.H.; Basu, R.; Sirkar, K.K.; Heavy metal removal and recovery by contained liquid membrane permeator. *AIChE Journal*, **1994**, 40(7), 1223-1237.
- 224.** Gumi, T.; Oleinikova, M.; Palet, C.; Valiente, M.; Muñoz, M.; Facilitated transport of lead(II) and cadmium (II) through novel activated composite membranes containing di-(2-ethyl-hexyl)phosphoric acid as carrier. *Analytica Chimica Acta*, **2000**, 408 (1-2), 65-74.
- 225.** Gupta, J.G.S.; Bouvier, J.L., Direct determination of Ag, Cd, Pb, Bi, Cr, Mn, Co, Ni, Li, Be, Cu and Sb in environmental waters and geological materials by simultaneous multi-elemental graphite furnace atomic absorption spectrometry with zeeman-effect background correction, *Talanta*, **1995**, 42 (2), 269-281.
- 226.** Gurmani, V.; Singh, A.K.; Venkataramani, B., Cellulose functionalized with 8-hidroxiquinoline: new method of synthesis and applications as a solid phase extractant in the determination of metal ions by flame atomic absorption spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, **2003**, 485, 221-232.
- 227.** Guyon, F.; Parthasarathy, N.; Buffle, J.; Mechanism and Kinetics of Copper(II) Transport through Diaza-crown Ether-Fatty Acid-Supported Liquid Membrane. *Analytical Chemistry*, **1999**, 71, 819-826.
- 228.** Guyon, F.; Parthasarathy, N.; Buffle, J.; Permeation liquid membrane metal transport: studies of complex stoichiometries and reactions in Cu(II) extraction with the mixture 22DD-laurate in toluene/phenylhexane. "*Analytical Chemistry*", **2000**, 72, 1328-1333.
- 229.** Habtu, M.M.; Bourne, S.A.; Koch, K.R.; Luckay, R.C., Competitive bulk liquid membrane transport and solvent extraction of some transition and post-transition metal ions using acylthiourea ligands as ionophores, *New Journal of Chemistry*, **2006**, 30, 1155-1162.
- 230.** Hall, G. E. M.; Gauthier, G.; Pelchat, J.; Pelchat, P.; Vaive, J. E., Application of a Sequential Extraction Scheme to Ten Geological Certified Reference Materials for

- the Determination of 20 Elements. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **1996**, 11, 787-796.
- 231.** Hall, G.E.M., Methods for the sampling and analysis of geological materials for both total mercury and sequential extraction, *Short Courses Series – Mineralogical Association of Canada*, **2005**, 34, 57-77.
- 232.** Harrison, R.M.; *Pollution: Causes, Effects, and Control.*, **1990**, 2nd ed., Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- 233.** He, D.; Liu, X.; Ma, M.; Transfer of Cd(II) Chloride species by a Tri-n-octylamine-Secondary Octyl Alcohol-Kerosene Multimembrane Hybrid System. *Solvent Extraction and Ion Exchange*, **2004**, 22(3), 491-510.
- 234.** He, D.; Ma, M.; Kinetics of cadmium(II) transport through a liquid membrane containing tricapryl amine in xylene. *Separation Science and Technology*, **2000a**, 35(10), 1573-1585.
- 235.** He, D.; Ma, M.; Transport of Cd(II) ions through a liquid membrane using N₂₃₅ as a mobile carrier. *Hunan Shifan Daxue Ziran Kexue Xuebao*, **1998**, 21(4), 59-63.
- 236.** He, D.; Ma, M.; Wang, H.; Zhou, P.; Effect of kinetic synergist on transport of copper(II) through a liquid membrane containing P507 in kerosene. *Canadian Journal of Chemistry*, **2001**, 79(8), 1213-1219.
- 237.** He, D.; Ma, M.; Wang, Y.; Studies on transport of cadmium(II) ions through a tri-n-octylamine-xylene liquid membrane. *Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao*, **2000c**, 21(4), 605-608.
- 238.** He, D.; Ma, M.; Wang, Y.; Xie, Q.; Extraction of Cd(II) with N₂₃₅-xylene-CH₃COONH₄ bulk liquid membrane. *Wuji Huaxue Xuebao*, **2000b**, 16(6), 893-898.
- 239.** He, D.; Ma, M.; Zhao, Z.; Transport of cadmium ions through a liquid membrane containing amine extractants as carriers. *Journal of Membrane Science*, **2000d**, 169(1), 53-59.
- 240.** He, D.; Yan, Z.; Liu, X.; Ma, M.; Active transport of Co²⁺ ions through a P 507[HEH(EHP)]- CCl₄ liquid membrane. *Mo Kexue Yu Jishu*, **1997**, 17(6), 55-59.
- 241.** He, D.; Yin, Z.; Ming, M.; Zhi-qiang, L.; Chao, L.; Transport of Cd(II) ions through a tri-N-octylamine-kerosene supported liquid membrane. *Shuichuli Jishu*, **1999**, 25(6), 330-334.
- 242.** Helios-Rybicka, E., The content and chemical forms of heavy metals in the river sediments of the Cracow area. The role of clays minerals, *Environ. Technol. Lett.*, **1983**, 4, 515-520.
- 243.** Helmers, E.; Mart, L.; Schulz-Baldes, M.; Ernst, W.; Temporal and spatial variations of lead concentration in Atlantic surface waters. *Mar. Pollut. Bull.*, **1990**, 21, 515-518.
- 244.** Hernández-Cruz, L.; Lapidus, G.T.; Carrillo-Romo, F.; Modelling of nickel permeation through a supported liquid membrane. *Hydrometallurgy*, **1998**, 48(3), 265-276.

- 245.** Hill, C.; Dozol, J.F.; Rouquette, H.; Eymard, S.; Tournois, B.; Study of the stability of some supported liquid membranes. *J. Membr. Sci.*, **1996**, 114, 73-80.
- 246.** Hiraoka, Y., Estimation of the Sedimentary Source of Biotite in the Plio-Pleistocene Osaka Group, Southern Kyoto Prefecture, Japan. *Journal of Geosciences*, **1998**, 41(1), 1-18.
- 247.** Horowitz, A. J., In A Primer on Sediment. Trace Element Chemistry. 'Ed.' Lewis Publishers, Inc.: **1991**; pp. 14-46 (Ch. 2).
- 248.** Hrdlicka, A.; Fialová, I.; Dolezalová, J.; Dialkylphosphoric acids as carriers in separation of lanthanides and thorium on supported liquid membranes. *Talanta*, **1996**, 43, 649-657.
- 249.** Huang, T.; Tsai, T.; Separation of cobalt and nickel ions in sulfate solutions by liquid-liquid extraction and supported liquid membrane with di(2-ethylhexyl)phosphoric acid dissolved in kerosene. *J. Chem. Eng. Jpn*, **1991**, 24(1), 126-132.
- 250.** Huggett, R. J., et al., CONF-740513. 'Ed.' Symp. Series: 224, **1975**.
- 251.** I.A.E.A.; I.L.M.R. Intercomparison of Trace Element Measurements interferences Marine Sediment Sample SD-N-1/2; 24; **1985**.
- 252.** I.C.E.S. Reports on the Results of the Baltic Sediment intercalibration exercise; 147; **1987**.
- 253.** Ikeda, I.; Yamazaki, H.; Konishi, T.; Okahara, M.; Transport of mercury (II) through impregnated polybutadiene-o-nitrophenyl octyl ether membrane. *J. Membr. Sci.*, **1989**, 46, 113-119.
- 254.** Iliadou, E.N.; et al., Simultaneous Determination of Nickel, Cobalt, Cadmium, Lead and Copper by Adsorptive Voltammetry Using 1-Phenylpropane-1-Pentylsulfonylhydrazone-2-Oxime as a Chelating Agent, *Analyst*, **1997**, 122, 597-600.
- 255.** INSMET, **2006**,
<http://www.met.inf.cu/asp/genesis.asp?TB0=PLANTILLAS&TB1=CLIMAC&TB2=/clima/ClimaCuba.htm>.
- 256.** IPCS INCHEM, *Environmental Health Criteria: Nickel*, **1991**,
<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc108.htm>.
- 257.** Ipolyi, I.; et al., Evaluation of performance of time-saving extraction devices in the BCR three-step sequential extraction procedure, *Journal of Environmental Monitoring*, **2002**, 4(4), 541-548.
- 258.** Ishikawa, J.; Sakamoto, H.; Otomo, M.; Highly silver ion-selective transport through liquid membranes containing cyclic and acyclic polythiamonoazaalkanes bearing an easily ionizable moiety. *Analyst*, **1997**, 122(11), 1383-1386.
- 259.** Ishikawa, J.; Sakamoto, H.; Wada, H.; Otomo, M.; Metal ion sensing and separation using chromogenic polythiazaalkane derivatives. *Bunseki Kagaku*, **1999**, 48(1), 45-55.

- 260.** ISO, Soil Quality - Extraction of Trace Metals Soluble in Aqua Regia. 'Ed.' International Organization of Standardization: **1994**; 'Vol.' ISO-11466.
- 261.** ISO, Soil Quality. Determination of Cadmium, Chromium, Cobalt, Copper, Lead, Manganese, Nickel and Zinc in Aqua Regia Extracts of Soil. Flame and Electrothermal Atomic Absorption Spectrometric Methods. 'Ed.' International Organization of Standardization: **1998**; 'Vol.' ISO 11047:1998(E).
- 262.** ISO, Soil Quality. Determination of Dry Matter and Water Content on Mass Basis. Gravimetric Method. In ed.; 'Eds.' International Organization of Standardization: **1993**; 'Vol.' ISO-11465.
- 263.** IUPAC Recommendations, *Glossary for Toxicokinetics of Chemicals*, **2003**, http://iupac.org/reports/provisional/abstract03/nordberg_prs.pdf.
- 264.** Izatt, R.M.; Bruening, R.U.; Bruening, M.L.; LindH, G.C.; Christepsen, J.J.; Modeling diffusion-limited, neutral-macrocycle-mediated cation transport in supported liquid membranes. *Anal. Chem.*, **1989**, 61, 1140-1148.
- 265.** Jabbari, A.; Chaldavi, H.; Shamsipur, M.; Specific membrane transport of mercury as $[\text{Hg}(\text{SCN})_4]^{2-}$ ion using K^+ -dibenzo-18-crown-6 as carrier. *Separation Science and Technology*, **1999a**, 34 (12), 2421-2430.
- 266.** Jabbari, A.; Esmaeili, M.; Shamsipur, M.; Selective transport of mercury as HgCl_4^{2-} through a bulk liquid membrane using K^+ -dicyclohexyl-18-crown-6 as carrier. *Separation and Purification Technology*, **2001**, 24(1-2), 139-145.
- 267.** Jabbari, A.; Mohammadi, J.; Shamsipur, M.; Selective liquid membrane transport of Pd(II) as PdCl_2^{4-} ion using potassium-dicyclohexyl-18-crown-6 as carrier. *Microchemical Journal*, **1999b**, 63(2), 218-225.
- 268.** Jabbari, A.; Mousavi, M.R.; Shamsipur, M.; Highly selective and efficient membrane transport of zinc as its thiocyanate complex anion using K^+ -dibenzo-18-crown-6 as a carrier. *Indian Journal of Chemistry. Section A: Inorganic, Bioinorganic, Physical, Theoretical & Analytical Chemistry*, **1999c**, 38A (8), 808-811.
- 269.** Jae-Chun, L.; Jinki, J.; Kang-Sup, C.; Mikio, K., Active facilitated transport and separation of Co in Co-Ni sulphate solution by hollow fiber supported liquid membrane containing HEH(EHP), *Separation Science and Technology*, **2004**, 39(7), 1519-1533.
- 270.** JCPDS, PDF-2. 'Ed.' International Centre for Diffraction Data, USA: **1997**.
- 271.** Jennett, J. C.; Effler, S. W.; Wixson, B. G., Mobilization and Toxicological Aspects of Sedimentary Contaminants. In Contaminants and Sediments, ed.; Baker, R. A., 'Ed.' Ann Arbor Science Inc: Michigan, **1980**; 'Vol.' 1, pp. 429, Ch. 20.
- 272.** Jiang, Z.; et al., Luminescence properties of metal(II)-diethyldithiocarbamate chelate complex particles and its analytical application, *Journal of Fluorescence*, **2005**, 15 (6), 859-864.
- 273.** Jiann, K.-T; Presley, B.J., Preservation and determination of trace metal partitioning in river water by two-column ion exchange method, *Analytical Chemistry*, **2002**, 74, 4716-4724.

- 274.** Jianzhang, F.; Bin, T.; Minyu, L.; Zhenghe, X., Recovery of cadmium from a zinc hydrometallurgical leachate using reactive emulsion liquid membrane technology, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, **2004**, 79, 313-320.
- 275.** Johansson, M.; et al., Determination of nickel using electrochemical reduction and carbonyl generation with in situ trapping electrothermal atomic absorption spectrometry, *Analyst*, **1998**, 123, 1223-1228.
- 276.** Joksic, A.S.; Katz, S.A.; Horvat, M.; Milacic, R., Comparison of single and sequential extraction procedures for assessing metal leaching from dredged coastal sediments, *Water, Air, & Soil Pollution*, **2005**, 162(1-4), 265-283.
- 277.** Jönsson, J.A.; Mathiasson, L.; Membrane extraction in analytical chemistry. *Journal of Separation Sciences*, **2001**, 24(7), 495-507.
- 278.** Jönsson, J.A.; Mathiasson, L.; Supported liquid membrane techniques for sample preparation and enrichment in environmental and biological analysis. *TrAC- Trends in Analytical Chemistry*, **1992**, 11(3), 106-114.
- 279.** Jouanneau, J. M.; Latouche, C.; Pautrizel, F., Critical analysis of sequential extractions by the study of several constituents of extraction residues, *Environ. Technol. Lett.*, **1983**, 4(12), 509-514.
- 280.** Juang, R.; Chang, H.A; Mechanistic study of uphill transport of metal ions through countertransport supported liquid membranes. *Sep. Sci. Technol.*, **1996**, 31(3), 365-379.
- 281.** Juang, R.; Lo, R.; Kinetics of the coupled transport of vanadium (IV) from sulfate solutions through supported liquid membranes. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **1994**, 33, 1011-1016.
- 282.** Juang, R.; Modelling of the competitive permeation of cobalt and nickel in a di(2-ethylhexyl)phosphoric acid supported liquid membrane process. *J. Membr. Sci.*, **1993a**, 85, 157-166.
- 283.** Juárez-Islas, F.; Carrillo-Romo, F.; Roman-Moguel, G.; Metals separation by the joint process of facilitated transport and electrodialysis (electromembrane process), employing a liquid membrane compound by D2EHPA-kerosene-formamide. *Canadian Metallurgical Quarterly*, **1999**, 38 (3), 187-192.
- 284.** Kageyama, T.; Matsumiya, H.; Hiraide, M., Separation of traces of heavy metals from an iron matrix by use of an emulsion liquid membrane, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2004**, 379, 1083-1087.
- 285.** Kakoi, T.; Horinouchi, N.; Goto, M.; Nakashio, F.; Selective recovery of palladium from a simulated industrial waste water by liquid surfactant membrane process. *Journal of Membrane Science*, **1996**, 118(1), 63-71.
- 286.** Kakoi, T.; Nishiyori, T.; Oshima, T.; Kubota, F.; Goto, M.; Shinkai, S.; Nakashio, F.; Extraction of rare-earth metals by liquid surfactant membranes containing a novel cyclic carrier. *Journal of Membrane Science*, **1997**, 136(1-2), 261-271.
- 287.** Kalemkiewicz, J.; Soco, E., Sequential extraction of metals from environmental samples, *Wiadomosci Chemiczne*, **2005**, 59(7-8), 697-721.

- 288.** Kanungo, S.B.; Mohapatra, R.; Coupled transport of Zn(II) through a supported liquid membrane containing bis(2,4,4-trimethyl pentyl) phosphinic acid in kerosene. I. A model for the rate process involving binary and ternary complex species. *J. Membr. Sci.*, **1995**, 105, 217-226.
- 289.** Karami, H.; et al., On-line preconcentration and simultaneous determination of heavy metal ions by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, **2004**, 509, 89-94.
- 290.** Kartal, S.; Aydin, Z.; Tokalioğlu, Ş., Fractionation of metals in street sediment samples by using the BCR sequential extraction procedure and multivariate statistical elucidation of the data, *Journal of Hazardous Materials*, **2006**, 132(1), 80-89.
- 291.** Kasaini, H.; Nakashio, F.; Goto, M.; Application of emulsion liquid membranes to recover cobalt ions from a dual-component sulphate solution containing nickel ions. *Journal of Membrane Science*, **1998**, 146(2), 159-168.
- 292.** Kazemi, S.Y.; Shamsipur, M.; Membrane transport of Cu(II) with a cooperative carrier composed of dibenzodiaz-15-crown-4 and oleic acid. *Separation and Purification Technology*, **1999**, 17(3), 181-187.
- 293.** Kedari, C.S.; Pandit, S.S.; Misra, S.K.; Ramanuja, A.; Mass transfer mechanism of the carrier-facilitated transport of uranium(VI) across 2-ethylhexyl phosphonic acid mono-2-ethylhexyl ester immobilised liquid membranes. *Hydrometallurgy*, **2001**, 62(1), 47-56.
- 294.** Kedari, C.S.; Pandit, S.S.; Ramanujam, A.; Selective permeation of plutonium(IV) through supported liquid membrane containing 2-ethylhexyl 2-ethylhexyl phosphonic acid as ion carrier. *Journal of Membrane Science*, **1999**, 156, 187-196.
- 295.** Kennish, M.J.; Practical handbook of Estuarine and marine pollution, **1996**, Ed. CRC Press, New York.
- 296.** Khayatian, G.; Shamsipur, M.; Highly selective and efficient membrane transport of palladium as PdCl_2^{-4} ion using NH_4^+ -dibenzylidiaz-18-crown-6 as carrier. *Separation and Purification Technology*, **1999**, 16(3), 235-241.
- 297.** Kiptoo, J.K.; Ngila, J.C.; Sawula, G.M., Speciation studies of nickel and chromium in wastewater from an electroplating plant, *Talanta*, **2004**, 64, 54-59.
- 298.** Kirkwood, R.C.; Longley, A.C.; *Clean technology and the Environment*, **1995**, Ed. Blackie Academia & Professional, Glasgow.
- 299.** Kislik, V.; Eyal, A.; Aqueous hybrid liquid membrane process for metal separation. Part I. A model for transport kinetics and its experimental verification. *Journal of Membrane Science*, **2000a**, 169 (1), 119-132.
- 300.** Kislik, V.; Eyal, A.; Aqueous hybrid liquid membrane process for metal separation. Part II. Selectivity of metals separation from wet-process phosphoric acid. *Journal of Membrane Science*, **2000b**, 169(1), 133-146.
- 301.** Kislik, V.S.; Eyal, A.M.; Hybrid liquid membrane (HLM) and supported liquid membrane (SLM) based transport of titanium(IV). *Journal of Membrane Science*, **1996b**, 111(2), 273-281.

- 302.** Kislik, V.S.; Eyal, A.M.; Hybrid liquid membrane (HLM) system in separation technologies. *Journal of Membrane Science*, **1996a**, 111(2), 259-72.
- 303.** Komarek J.; Holy J., Determination of heavy metals by electrothermal atomic absorption spectrometry after electrodeposition on a graphite probe, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, **1999**, 54(5), 733-738.
- 304.** König, B.; Fricke, T.; Lüning, U.; Hagen, M.; Müller, M.; Bahadir, M.; Concave carrier molecules: selective transport of copper (II) and lead(II) nitrates through supported liquid membranes. *J. Prakt. Chem.*, **1999**, 341(3), 218-221.
- 305.** Konjuncu, Ý.; Bundalevska, J.M.; Ay, Ü.; Čundeve, K.; Stafilov, T.; Akçin, G., Atomic absorption spectrometry determination of Cd, Cu, Fe, Ni, Pb, Zn and Tl traces in seawater following flotation separation, *Separation Science and Technology*, **2004**, 39(11), 2751-2765.
- 306.** Kontrec, J.; Kralj, D.; Brecevic, L.; Cadmium removal from calcium sulphate suspension by liquid membrane extraction during recrystallization of calcium sulphate anhydrite. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **2003**, 223 (1-3), 239-249.
- 307.** Kopunec, R.; Benítez, J.C.; Extraction of rare earth elements with organophosphorus extractants as carriers in supported liquid membranes. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **1991**, 150(2), 269-280.
- 308.** Kopunec, R.; Manh, T.N.; Carrier-mediated transport of rare earth elements through liquid membranes. IV. Transport of Sc, Y, Ce, Eu, Gd, Tm, Yb through a supported liquid membrane containing TBP. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **1992**, 163(1), 131-144.
- 309.** Korolczuk, M., Voltammetric method for direct determination of nickel in natural waters in the presence of surfactants, *Talanta*, **2000**, 53(3), 679-686.
- 310.** Kouadio, I.; Trefry, J. H., Sediment trace metal contamination in the Ivory Coast, West Africa, *Water Air and Soil Pollution*, **1987**, 32(1-2), 145-154.
- 311.** Kumar, A.; Haddad, R.; Benzal, G.; Ninou, R.; Sastre, A.M.; Use of modified membrane carrier system for recovery of gold cyanide from alkaline cyanide media using hollow fiber supported liquid membranes: feasibility studies and mass transfer modeling. *Journal of Membrane Science*, **2000**, 174(1), 17-30.
- 312.** Lachowicz, E.; Paéz-Hernández, M.E.; Valiente, M.; Selective up-hill transport of gold to iodine stripping solution through a solvent modified liquid membrane containing a polysulphide podant as carrier. *Analytica Chimica Acta*, **1996**, 327, 175-181.
- 313.** Lachowicz, E.; Róaska, B.; Teixidor, F.; Meliani, H.; Barboiu, M.; Hovnanian, N.; Comparison of sulphur and sulphur-oxygen ligands as ionophores for liquid-liquid extraction and facilitated transport of silver and palladium. *Journal of Membrane Science*, **2002**, 210(2), 279-290.
- 314.** Lamb, J.D.; Bruening, R.L.; Linsley, D.A.; Smith, C.; Izatt, R.M.; Characterization of a macrocycle-mediated dual module hollow fiber membrane contractor for making cation separations. *Separation Science and Technology*, **1990**, 25(13-15), 1407-1419.

- 315.** Larner, B.L.; Seen, A.J.; Townsend, A.T., Comparative study of optimised BCR sequential extraction scheme and acid leaching of elements in the certified reference material NIST 2711, *Analytica Chimica Acta*, **2006**, 556(2), 444-449.
- 316.** Lee, D.W.; Halmann, M., Selective separation of nickel(II) by dimethylglyoxime-treated polyurethane foam, *Analytical Chemistry*, **1976**, 48(14) 2214-2218.
- 317.** Legeai, S.; Bois, S.; Vittori, O., A copper bismuth film electrode for adsorptive cathodic stripping analysis of trace nickel using square wave voltammetry, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **2006**, 591(1), 93-98.
- 318.** Leon, G.; Guzman, M.A.; Facilitated transport of cobalt through bulk liquid membranes containing diethylhexyl phosphoric acid. *Desalination*, **2004**, 162(1-3), 211-215.
- 319.** Li, Q.; Liu, L.; Li, K.; Tong, S.; Separation study of cadmium through an emulsion liquid membrane. *Talanta*, **1997**, 44(4), 657-662.
- 320.** Li, Q.M.; Liu, L.; Zhang, Q.F.; Wei, X.J.; Guo, J.Z.; Separation study of cadmium through an emulsion liquid membrane using triisooctylamine as mobile carrier. *Talanta*, **1998**, 46(5), 927-932.
- 321.** Li, Y.; Van Loon, J.C.; Barefoot, R.R.; Preconcentration of trace elements in potable liquids by means of a liquid membrane emulsion for flame atomic absorption determination. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, **1993**, 345, 467-470.
- 322.** Libes, S.M.; An introduction to Marine Biogeochemistry analyst, **1992**, Ed. John Wiley & Sons, New York.
- 323.** Lihareva, N.; Petrov, O.; Tzvetanova, Y., *Bulgarian Chemical Communications*, **2006**, 38(2), 131-139.
- 324.** Lin, P.-H.; Danadurai, S.K.; Huang, S.-D., Simultaneous determination of cobalt, nickel and copper in seawater with a multi-element electrothermal atomic absorption spectrometry and microcolumn preconcentration, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **2001**, 16, 409-412.
- 325.** Liu, X.; He, D.; Ma, M.; Wang, S.; Separation of binary Cd(II) and Zn(II) by a tri-n-octylamine-secondary octyl alcohol-kerosene hybrid liquid membrane. *Wuji Huaxue Xuebao*, **2003**, 19(12), 1295-1300.
- 326.** Lo, J.M.; et al., Solvent extraction of dithiocarbamate complexes and back-extraction with mercury (II) for determination of trace metals in seawater by atomic absorption spectrometry, *Analytical Chemistry*, **1982**, 54, 2536-2539.
- 327.** Lo, J.M.; Lin, Y.P.; Lin, K.S., Preconcentration of trace metals in seawater matrix for inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Analytical Sciences*, **1991**, 7, 455-458.
- 328.** Locatelli, C.; Torsi, G., Determination of Se, As, Cu, Pb, Cd, Zn and Mn by anodic and cathodic stripping voltammetry in marine environmental matrices in the presence of reciprocal interference. Proposal of a new analytical procedure, *Microchemical Journal*, **2000**, 65(3), 293-303.

- 329.** Lofthouse, S.D.; Greenway, G.M.; Stephen, S.C., Miniaturisation of a matrix separation/preconcentration procedure for inductively coupled plasma mass spectrometry using 8-hidroxiquiniline immobilised on a microporous silica frit, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **1999**, 14, 1839-1842.
- 330.** Longquan, L.; Cheng, W.; Yadong, L.; Separation of cobalt and nickel by emulsion liquid membrane with the use of EDTA as masking reagent. *Journal of Membrane Science*, **1997**, 135(2), 173-177.
- 331.** López-Sánchez, J. P.; Sahuquillo, A.; Fiedler, H. D.; Rubio, R.; Rauret, G.; Muntau, H.; Quevauviller, P., CRM 601, A Stable Material for ist Extractable Content of Heavy Metals. *Analyst*, **1998**, 123, 1675-1677.
- 332.** Loring, D. H., I.C.E.S.: Report of the Working Group on Marine Sediments in Relation to Pollution (WG-MARSED); Annexe 3, C.M. E:25; **1988**.
- 333.** Louie, H.; et al., Direct determination of trace elements in sea-water using reaction cell inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.*, **2002**, 17, 587-591.
- 334.** Luoma, S. M., In Heavy Metals in the Marine Environment. 'Ed.' CRC Press, Inc.: Boca Raton Florida, **1990**; pp. 53-59 (Ch. 4).
- 335.** Ma, F.; Jagner, D.; Renman, L., Mechanism for the electrochemical stripping reducción of the nickel and cobalt dimethylglyoxime complexes, *Analytical Chemistry*, **1997**, 69, 1782-1784.
- 336.** Ma, M.; He, D.; Shuai, Y.; Xiao-lan, Z.; Qing-ji, X.; Shou-zhuo, Y.; Kinetics of liquid membrane transport of lanthanum (III) ions through mono(2-ethylhexyl) 2-ethylhexyl phosphonate-kerosene. *Hunan Shifan Daxue Ziran Kexue Xuebao*, **2002b**, 25(2), 49-53.
- 337.** Ma, M.; He, D.; Quanyong, W.; Qingji, X.; Kinetics of europium(III) transport through a liquid membrane containing HEH(EHP) in kerosene. *Talanta*, **2001**, 55(6), 1109-1117.
- 338.** Ma, M.; He, D.; Saihua, X.; Transport of Cd(II) ions through a tri-n-octylamine-xylene-supported liquid membrane. *Mo Kexue Yu Jishu*, **1999c**, 19(2), 45-48.
- 339.** Ma, M.; He, D.; Transport of Cd(II) ions through a liquid membrane using tri-n-octyl amine (TNOA) as a mobile carrier. *Mo Kexue Yu Jishu*, **1999b**, 19(1), 49-52.
- 340.** Ma, M.; He, D.; Yan, L.; Transport of Eu³⁺ and H⁺ through a bulk liquid membrane using 1-phenyl-3-methyl-4-benzoyl-5-pyrozolone (HPMBP) as carrier. *Hunan Shifan Daxue Ziran Kexue Xuebao*, **1998**, 21(1), 40-43.
- 341.** Ma, M.; He, D.; Yurong, S.; Ruilan, Z.; Jianhui, P.; Qingji, X.; Transport of La(III) through bulk liquid membrane using 1-phenyl-3-methyl-4-benzoyl-5-pyrazolone (HPMBP) as carrier. *Hunan Shifan Daxue Ziran Kexue Xuebao*, **1999a**, 22(1), 51-55.
- 342.** Ma, M.; Xiaolan, Z.; Dingsheng, H.; Qing-ji, X.; Shouzhuo, Y.; Transport kinetics of Eu (III) through a bulk liquid membrane with HDEHP as carriers. *Mo Kexue Yu Jishu*, **2002a**, 22(6), 28-33.

- 343.** Ma, R.; Adams F., Flow injection sorbent extraction with dailkyldithiophosphates as chelating agent for nickel, cobalt and manganese determination by atomic absorption spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, **1995**, 317, 215-222.
- 344.** Mackey, D.J.; et al., Interference effects in the extraction of trace metals from estuarine waters, *Marine Chemistry*, **1997**, 59, 113-126.
- 345.** Mackova, J.; Mikulaj, V.; Rajec, P.; Transport of Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Na^+ , K^+ and Cs^+ through hollow fiber supported liquid membrane. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, **1994**, 183(1), 85-91.
- 346.** Mackova, J.; Mikulaj, V.; Transport of strontium cation through a hollow fiber supported dichlorobenzene membrane using 18-C-6 crown ether. Nitrate and anion of dinonylnaphthalene sulfonic acid. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, **1996**, 208(1), 111-122.
- 347.** Magnusson, B.; Westerlund, S., The determination of Cd, Cu, Fe, Ni, Pb and Zn in baltic sea water, *Marine Chemistry*, **1980**, 8, 231-244.
- 348.** Mahmoud, M.H.H.; Nakamura, S.; Akiba, K.; Separation of molybdenum (VI) and tungsten (VI) through a supported liquid membrane impregnated with trioctylammonium chloride. *Sep. Sci. Technol.*, **1996**, 31(20), 2763-2774.
- 349.** Majors, R. E.; Chimuka, L.; Speciation studies of metal ions in environmental and biological media using supported liquid membrane extraction. *LCGC North America*, **2004**, 22(2), 102-108.
- 350.** Malcus, F.; Djane, N.K.; Mathiasson, L.; Johansson, G.; Automated trace enrichment and determination of metals using a combination of supported liquid membrane for sample pretreatment and graphite furnace atomic absorption spectrometry for the determination. *Analytica Chimica Acta*, **1996**, 327(3), 295-300.
- 351.** Mánuel-Vez, M.P.; García-Vargas, M., Spectrofluorimetric determination of titanium with 2-acetylpyridine picolinoylhydrazone and application to agricultural soil extracts, *Analytica Chimica Acta*, **1992**, 262(1), 41-47.
- 352.** Mánuel-Vez, M.P.; Moreno, C.; González, D.J.; García-Vargas, M., Direct fluorimetric determination of dissolved aluminum in seawater at nanomolar levels, *Analytica Chimica Acta*, **1997**, 355(2-3), 157-161.
- 353.** Marchese, J.; Campderrós, M.; Acosta, A.; Transport and separation of cobalt, nickel and copper ions with alamine liquid membranes. *J. Chem. Technol. Biotechnol*, **1995**, 64, 293-297.
- 354.** Marchese, J.; Campderrós, M.; Mass transfer of cadmium ions in a hollow-fiber module by pertraction. *Desalination*, **2004b**, 164(2), 141-149.
- 355.** Marchese, J.; Campderros, M.E.; Acosta, A.; Mechanistic study of cobalt, nickel and copper transfer across a supported liquid membrane. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **1993**, 57, 37-42.
- 356.** Marchese, J.; Valenzuela, F.; Basualto, C.; Acosta, A.; Transport of Molybdenum with Alamine 336 using supported liquid membrane. *Hydrometallurgy*, **2004a**, 72, 309-317.

- 357.** Marczenko, Z., Separation and Spectrophotometric Determination of Elements, Ed. Wiley, Chichester, **1986**.
- 358.** Martino, M.; Turner, A.; Nimmo, M.; Milward, E.; Resuspension, reactivity and recycling of trace metals in the Mersey Estuary, UK. *Mar. Chem.*, **2002**, 77, 171-186.
- 359.** Mashahadzadeh, M.H.; Mohyaddini, R.; Shamsipur, M.; Selective and efficient liquid membrane transport of Au(III) by tetrathia-12-crown-4 as a specific carrier. *Separation and Purification Technology*, **2004**, 39(3), 161-166.
- 360.** Matsumiya, H.; Yatsuya, Y.; Hiraide, M., Redox-driven transport of copper ions in an emulsion liquid membrane system, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2006**, 385, 944-947.
- 361.** Matsuyama, H.; Katayama, Y.; Kojima, A.; Washijima, I.; Miyake, Y.; Teramoto, M.; Permeation rate and selectivity in the separation of cobalt and nickel by supported liquid membranes. *Journal of Chemical Engineering of Japan*, **1987**, 20(3), 213-220.
- 362.** Meili, M.; Bishop, K.; Bringmark, L.; Johansson, K.; Munthe, J.; Sverdrup, H.; de Vries, W.; Critical levels of atmospheric pollution: criteria and concepts for operational modelling of mercury in forest and lake ecosystems. *Sci. Total Environ.*, **2003**, 304, 83-106.
- 363.** Mendiguchía, C.; Moreno, C.; García-Vargas, M.; Determination of copper in seawater based on a liquid membrane preconcentration system. *Analytica Chimica Acta*, **2002**, 460, 1, 35-40.
- 364.** Mentasti, E.; Dlask V., Simultaneous kinetic determination of zinc, magnesium, copper and nickel by ligand substitution reaction, *Analyst*, **1985**, 110, 1451-1455.
- 365.** Metrohm. Determination of Zinc, Cadmium, Lead, Copper, Thallium, Nickel and Cobalt in water samples after DIN 38406 E16. Application Bulletin No. 231/1 e; B12916, **1990**, 6 pp.
- 366.** Metrohm, Determination of nickel and cobalt in sea water, VA Application Note No. V-69, **2004**, http://www.metrohm.com/infocenter/applications/notes/an_va.php4.
- 367.** Metrohm, Voltammetric determination of Zinc, Cadmium, Lead, Copper, Thallium, Nickel and Cobalt in water samples according to DIN 38406 Part 16. Application Bulletin No. 231/2e, **2001**, http://www.metrohm.com/infocenter/applications/bulletins/ab_download_e.php4.
- 368.** Meybeck, M.; Friedrich, G.; Thomas, R.; Chapman, D.; Cap.6 In: D. Chapman, editor. *Water quality assessment*, **1996**, 2 ed., Londres.
- 369.** Mickler, W.; Reich, A.; Uhlemann, E.; Bart, H.T.; Liquid membrane permeation of Zn, Cd and Ni with 4-acyl-5-pyrazolones and diketones. *Journal of membranes Science*, **1996**, 119, 91-97.
- 370.** Mikheeva, M.N.; Novikov, A.P.; Myasoedov, B.F.; Tikhomirov, S.V.; Kinetics of americium (VI) mass transfer through solid supported liquid membrane with HDEHP. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **1994**, 185(2), 265-271.

- 371.** Miller, J.C.; Miller, J.N.; "Estadística para Química Analítica", **1993**, 2ª Edición; Addison-Wesley Iberoamericana.
- 372.** Mohapatra, R.; Kanungo, S.B.; Kinetics of Mn(II) from aqueous sulfate solution through a supported liquid membrane containing di(2-ethylhexyl)phosphoric acid in kerosene. *Sep. Sci. Technol.*, **1992**, 27(13), 1759-1773.
- 373.** Molinari, R.; Drioli, E.; Pantano, G.; Stability and effect of diluents in supported liquid membranes for Cr(III), Cr(VI), and Cd (II) recovery. *Sep. Sci. Technol.*, **1989**, 24(12-13), 1015-1032.
- 374.** Molinari, R.; Poerio, T.; Argurio, P., Selective removal of Cu²⁺ versus Ni²⁺, Zn²⁺, and Mn²⁺ by using a new carrier in a supported liquid membrane, *Journal of Membrane Science*, **2006**, 280, 470-477.
- 375.** Molinari, R.; Poerio, T.; Cassano, R.; Picci, N.; Argurio, P.; Copper (II) removal from wastewaters by a new synthesized selective extractant and SLM viability. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **2004**, 43(2), 623-628.
- 376.** Mongay, C.; Cerda, V.; VI/ A Britton-Robinson buffer of known ionic strength. "Annali di Chimica", **1977**, 64, 409-412.
- 377.** Montgomery, D.C.; "Diseño y análisis de experimentos", **2001**, Ed. Grupo Editorial Iberoamericana, S.A., Mexico.
- 378.** Moreno, C.; Hrdlicka, A.; Valiente, M; Permeation of neodymium and praseodymium through supported liquid membrane containing di-(2-ethylhexyl) phosphoric acid as carrier. *Journal of Membrane Science*, **1993**, 81, 121-126.
- 379.** Moreno, C.; Valiente, M.; Studies on the mechanism of transport of lanthanide ions through supported liquid membranes containing di-(2-ethylhexyl) phosphoric acid (D2EHPA) as a carrier. *Journal of Membrane Science*, **1999**, 155(1), 155-162.
- 380.** Morfobos, M.; Economou, A.; Voulgaropoulos, A., Simultaneous determination of nickel(II) and cobalt(II) by square wave adsorptive stripping voltammetry on a rotating-disc bismuth-film electrode, *Analytica Chimica Acta*, **2004**, 519(1), 57-64.
- 381.** Mossop, K.F.; Davidson, C. M., Comparison of original and modified BCR sequential extraction procedures for the fractionation of copper, iron, lead, manganese and zinc in soils and sediments, *Analytica Chimica Acta*, **2003**, 478(1), 111-118.
- 382.** Muller, G.; et al., Sedimentary Record of Environmental Pollution in the Western Baltic Sea, *Naturwissenschaften*, **1980**, 67, 595-600.
- 383.** Naicker, K.; Cukrowska, E.; McCarthy, T.S.; Acid mine drainage arising from gold mining activity in Johannesburg, South Africa and environs. *Environ. Pollut.*, **2003**, 122(1), 29-40.
- 384.** Nair, S.G.; Hwang, S.; Selective transport of calcium ion from a mixed cation solution through an HDEHP/n-dodecane supported liquid membrane. *J. Membr. Sci.*, **1991**, 64, 69-79.

- 385.** Nakamura, S.; Takeyasu, M.; Akiba, K.; Liquid membrane transport of lanthanoid elements using organophosphinic acid. *J. Radioanal. Nucl. Chem*, **1994**, 181(2), 281-289.
- 386.** Narin, I.; Soylak, M., The uses of 1-(2-pyridylazo) 2-naphthol (PAN) impregnated Amborsorb 563 resin on the solid phase extraction of traces heavy metal ions and their determinations by atomic absorption spectrometry, *Talanta*, **2003**, 60, 215-221.
- 387.** Ndung'u, K.; Djane, N.K.; Mathiasson, L.; Determination of trace metal ions by ion-pair chromatography after enrichment using supported liquid membrane. *Journal of Chromatography A*; **1998**, 826, 103-108.
- 388.** Ndung'u, K.; Hurst, M.P.; Bruland, K.W., Comparison of copper speciation in estuarine water measured using analytical voltammetry and supported liquid membrane techniques, *Environmental Science and Technology*, **2005**, 39(9), 3166-3175.
- 389.** Ngo Manh, Th.; Kopunec, R.; Carrier-mediated transport of rare earth elements through liquid membranes. V. Stability of membranes containing organophosphorus agents impregnated on a nucleoporous support in pertraction systems of REEs. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **1992**, 163, 145-153.
- 390.** Nikiforova, E. M.; Smirnova, R. S., In International Conference on Heavy Metals in the Environment, 'Ed.' Toronto, **1975**; pp. C-94.
- 391.** Niquel ,*Enciclopedia Libre Universal en Español*, **2006**, <http://enciclopedia.us.es/index.php/N%EDquel>.
- 392.** Nirel, P. M. V.; Morel, F. M. M., Pitfalls of sequential extractions, *Water Research*, **1990**, 24(8), 1055-1056.
- 393.** NOAA's National Status and trends Program: Sediment Quality Guidelines. **1995**.
- 394.** Noble, R. D.; Way, J. D.; Editors, *Liquid Membranes. Theory and Applications*, ACS, Washington, **1987**.
- 395.** Nogueroles, J.; Palet, C.; Valiente, M.; Transport of selenite through a solid supported liquid membrane using sodium diethyldithiocarbamate, Na(DDTC), as carrier between hydrochloric acid solutions. *J. Membr. Sci.*, **1997**, 134, 261-269.
- 396.** Nowier, H.G.; El-said N.; Aly H.F.; Carrier-mediate transport of toxic elements through liquid membranes. Transport of Cd (II) from high salinity chloride medium through supported liquid membrane containing TBP/cyclohexane. *Journal of Membrane Science*, **2000**, 177, 41-47.
- 397.** Nriagu, J.; Becker, C.; Volcanic emissions of mercury to the atmosphere: global and regional inventories. *Sci. Total Environ.*, **2003**, 304, 3-12.
- 398.** Nürnberg, H.W., Review, The Voltammetric Approach in Trace Metal Chemistry of Natural Waters and Atmospheric Precipitation, *Analytica Chimica Acta*, **1984**, 164, 1-21.
- 399.** O'Hara, P.A.; Bohrer, M.P.; Supported liquid membranes for copper transport. *J. Membr. Sci.*, **1989**, 44, 273-287.

400. Okushita, H.; Shimidzu, T.; Membrane separation of Ga³⁺ by selective interaction of Ga³⁺ with N-octadecanoyl-N-phenylhydroxylamine. *J. Membr. Sci.*, **1996**, 116, 61-65.
401. Okushita, H.; Shimidzu, T.; Selective separation of Ga³⁺ through membrane impregnated with N-octadecanoyl-N-phenylhydroxylamine. *J. Membr. Sci.*, **1995**, 105, 43-49.
402. Olausson, E., *Fao Fish. Tech. Papers* 137. **1975**; Ch. 1.
403. Oleinikova, M.; Gonzalez, C.; Valiente, M.; Munoz, M.; Selective transport of zinc through activated composite membranes containing di(2-ethylhexyl)dithiophosphoric acid as a carrier. *Polyhedron*, **1999**, 18(25), 3353-3359.
404. Ortiz, I.; Galan, B.; Irabien, A.; Kinetic analysis of the simultaneous nondispersive extraction and back-extraction of Chromium (VI). *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **1996a**, 35(4), 1369-1377.
405. Ortiz, I.; Galan, B.; Irabien, A.; Membrane mass transport coefficient for the recovery of Cr(VI) in hollow fiber extraction and back-extraction modules. *Journal of Membrane Science*, **1996b**, 118(2), 213-221.
406. Oss-Giacomelli, M.B.; et al., Fractionation of Cd and Pb in BCR No. 601 sediment reference material following the BCR protocol for sequential extraction and determination by electrothermal atomic absorption spectrometry using permanent modifiers, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **2002**, 17(10), 1339-1343.
407. Ostapczuk, P.; Goedde, M.; Stoepler, M.; Nürnberg, H.W., Control and routine determination of zinc, cadmium, lead, copper, nickel, and cobalt with differential pulse voltammetry in materials of the German Environmental Specimen Bank, *Fresenius' Zeitschrift fuer Analytische Chemie*, **1984**, 317(3-4), 252-256.
408. Ostapczuk, P.; Valenta, P.; Stoepler, M.; Nürnberg, H.W., in Brown, S.S. and Savory, J. (Eds), *Chemical Toxicology and Clinical Chemistry of Metals*, Academic Press, London, **1983**, pp. 61-64.
409. Otero-Romani, J.; Moreda-Piñeiro, A.; Bermejo-Barrera, A.; Bermejo-Barrera, P., *Analytica Chimica Acta*, **2005**, 536, 213-218.
410. Othman, N.; Mat, H.; Goto, M., Separation of silver from photographic wastes by emulsion liquid membrane system, *Journal of Membrane Science*, **2006**, 282, 171-177.
411. Özer, A.; Özer, D., Comparative study of the biosorption of Pb(II), Ni(II) and Cr(VI) ions onto *S. cerevisiae*: determination of biosorption heats, *Journal of Hazardous Materials*, **2003**, B100, 219-229.
412. Öztürk, M.; Bizsel, N.; Steinnes, E.; Iron speciation in eutrophic and oligotrophic Mediterranean coastal waters; impact of phytoplankton and protozoan blooms on iron distribution. *Mar. Chem.*, **2003**, 81, 19-36.
413. Páez-Osuna, F.; Osuna-López, J. I., Acumulación de metales pesados en Mitla, una laguna costera tropical, *Ciencias Marinas*, **1987**, 13(3), 97-112.

- 414.** Páez-Ozuna, F., Golfo de México, Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias. EPOMEX Serie Científica, **1996**, 5, 349-361.
- 415.** Palet, C.; Munoz, M.; Hidalgo, M.; Valiente, M.; Transport of vanadium(V) through a tricapyrylyl- methylammonium solid supported liquid membrane from aqueous acetic acid/acetate solutions. *Journal of Membrane Science*, **1995**, 98(3), 241-248.
- 416.** Papantoni, M.; Djane, N. K.; Ndung'u, K.; Jönsson, J. A.; Mathiasson, L.; Trace enrichment of metals using a supported liquid membrane technique, *Analyst*, **1995**, 120(5), 1471-1477.
- 417.** Paquin, P.R.; Gorsuch, J.W.; Apte, S.; Batley, G.E.; Bowles, K.C.; Cambell, P.G.C.; Delos, C.G.; Di Toro, D.M.; Dwyer, R.L.; Galvez, F.; Gensemer, R.W.; Gosss, G.G.; Hogstrand, C.; Janssen, C.R.; McGeer, J.C.; Naddy, B.; Wu, K.B.; The biotic ligand model: A historical overview. *Comp. Biochem. Physiol.*, **2002**, 133 C (1-2), 3 – 35.
- 418.** Parham, H.; Shamsipur, M.; Selective membrane transport of Pb²⁺ ion by a cooperative carrier composed of 18-crown-6, tetrabutylammonium iodide and palmitic acid. *Journal of Membrane Science*, **1994**, 95, 21-27.
- 419.** Parthasarathy, N.; Buffle, J.; Capabilities of supported liquid membranes for metal speciation in natural waters: application to copper speciation. *Analytica Chimica Acta*, **1994**, 284(3), 649-659.
- 420.** Parthasarathy, N.; Buffle, J.; Gassama, N.; Cuenod, F.; Cuenod, Speciation of trace metals in waters: direct selective separation and preconcentration of free metal ion by supported liquid membrane. *Chem. Anal. Warsaw.*, **1999**, 44, 455-470.
- 421.** Parthasarathy, N.; Buffle, J.; Supported liquid membrane for analytical separation of transition metal ions. Part II. Appraisal of lipophilic 1,10-didecyl-1,10-diaza-18-crown-6 as metal ion carrier in the membrane. *Analytica Chimica Acta*, **1991**, 254(1-2), 9-19.
- 422.** Parthasarathy, N.; Pelletier, M.; Buffle, J., Hollow fiber based supported liquid membrana: a novel analytical system for trace metals análisis. *Analytica Chimica Acta.*, **1997**, 350, 183-195.
- 423.** Parthasarathy, N.; Pelletier, M.; Buffle, J.; Permeation liquid membrane for trace metal speciation in natural waters. Transport of liposoluble Cu(II) complexes. *Journal of Chromatography, A*, **2004**, 1025(1), 33-40.
- 424.** Parthasarathy, N.; Pelletier, M.; Buffle, J.; The use of Permeation Liquid Membrane (PLM) as an analytical tool for trace metal speciation studies in natural waters. *Journal de Physique IV: Proceedings*, 107(XIIth International Conference on Heavy Metals in the Environment, **2003**, 2, 1021-1024.
- 425.** Parthasarathy, N.; Pelletier, M.; Tercier-Waeber, M.L.; Buffle, J.; On-line coupling of flow through voltammetric microcell to hollow fiber permeation liquid membrane device for subnanomolar trace metal speciation measurements. *Electroanalysis*, **2001**, 13(16), 1305-1314.

- 426.** Parthasarathy, N.; Salaun, P.; Pelletier, M.; Buffle, J.; Permeation liquid membrane coupled to voltammetric detection for in situ trace metal speciation studies. *ACS Symposium Series, (Environmental Electrochemistry)*, **2002**, 811, 102-124.
- 427.** Pastor, A.; Hernández, F.; Peris, M.A.; Beltrán, J.; Sancho, J.V.; Castillo, M.T.; Levels of heavy metals in some marine organisms from the western Mediterranean area (Spain). *Mar. Pollut. Bull.*, **1994**, 28, 50-53.
- 428.** Patole, J.; Sandbhor, U.; Padhye, S.; Deobagkar, D.N.; Anson, C.E.; Powell, A.; Structural chemistry and in vitro antitubercular activity of acetylpyridine benzoyl hydrazone and its copper complex against mycobacterium smegmatis, *Biorganic & medical chemistry letter*, **2003**, 13, 51-55.
- 429.** Paugam, M.F.; Buffle, J.; Comparison of carrier-facilitated copper(II) ion transport mechanisms in a supported liquid membrane and in a plasticized cellulose triacetate membrane. *Journal of Membrane Science*, **1998**, 147 (2), 207-215.
- 430.** Pavlovskva, G.; Čundeveva, K.; Stafilov, T., Flotation of cobalt and nickel by lead(II) hexamethylene-dithiocarbamate, *Separation Science and Technology*, **2000**, 35(16), 2663-2677.
- 431.** Pérez-Bendito, D.; Rubio, S.; *Comprehensive Analytical Chemistry: VOLUME XXXII: Environmental Analytical Chemistry*, **1999**, Wilson & Wilson, Ed. S.G. Weber, ELSEVIER, 842 pp.
- 432.** Pesavento, M.; et al., Determination of metal ions concentration and speciation in seawater by titration with an iminodiacetic resin, *Analytica Chimica Acta*, **1999**, 401(1), 265-276.
- 433.** Pihlar, B.; Valenta, P.; Nüernberg, H.W., Electrochemical reduction of nickel(II) on the hanging mercury drop electrode in the presence of dimethylglyoxime, *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, **1986**, 214(1-2), 157-177.
- 434.** Pihlar, B.; Valenta, P.; Nüernberg, H.W., New high-performance analytical procedure for the voltammetric determination of nickel in routine analysis of waters, biological materials and food, *Fresenius' Zeitschrift fuer Analytische Chemie*, **1981**, 307(5), 337-346.
- 435.** Ping, R.; Mingqi, W., Modified BCR sequential extraction method for lead speciation in sediments, *Wutan Yu Huatan*, **2004**, 28(3), 221-223.
- 436.** Pohl, P.; Bogdal, Z.; Prusisz, B., Preconcentration and fractionation of Cd, Co, Cu, Ni, Pb and Zn in natural water samples prior to analysis by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Microchimica Acta*, **2005**, 150, 253-259.
- 437.** Pomés, R., In Análisis de Fases Cuantitativo Usando Difracción de Rayos - X, 'Ed.' Editorial Quetzatcoal: Mexico, **1997**; pp. 140.
- 438.** Poulton, S.W.; Raiswell, R.; Solid phase associations, oceanic fluxes and anthropogenic perturbation of transition metals in world river particulates. *Mar. Chem.*, **2000**, 72, 17-31.

- 439.** Proyecto GEF/RLA/93/G41 Proyecto Regional Planificación y Manejo de Bahías y Areas Costeras Fuertemente Contaminadas del Gran Caribe, Estudio de Caso: Bahía Habana, Cuba; Informe Final; **1997**.
- 440.** Pryce, W. J., Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption, 'Ed.' Heyden & Son Ltd.: London, **1979**.
- 441.** Pueyo, M.; Rauret, G.; Lück, D.; Yli-Halla, M.; Muntau, H.; Quevauviller, P.; López-Sánchez, J. F., Certification of the Extractable Contents of Cd, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn in a Freshwater Sediment Following a Collaboratively Tested and Optimised Three-step Sequential Procedure. *J. Environ. Monit.*, **2001**, 3, 243-250.
- 442.** Pustisek, N.; Milacic, R.; Veber, M., Use of the BCR three-step sequential extraction procedure for the study of the partitioning of Cd, Pb and Zn in various soil samples, *Journal of Soils and Sediments*, **2001**, 1(1), 25-29.
- 443.** Qingbao, S.; Xiaoli, W.; Guosheng, H.; Yongxiang, M. The chelates of ferrocene-carbaldehyde bicyclo[2,2,1]hept-5-en-2-ylcarbonylhydrazone with lanthanide. *Chemical Papers*, **1996**, 50(3), 141-145.
- 444.** Quevauviller, P., Operationally Defined Extraction Procedures for Soil and Sediment Analysis. II. Certified Reference Materials. *Trends in Analytical Chemistry*, **1998**, 17(10), 632-642.
- 445.** Quevauviller, P.; Donard, O. F. X.; Maier, E. A.; Griepink, B., Improvements of Speciation Analyses in Environmental Matrices. *Mikrochim. Acta*, **1992**, 109, 169-190.
- 446.** Quevauviller, P.; Rauret, G.; López-Sánchez, J. F.; Rubio, R.; Ure, A. M.; Muntau, H., Certification of Trace Metal Extractable Contents in a Sediment Reference Material (CRM 601) Following a Three-Step Sequential Extraction Procedure. *The Science of the Total Environment*, **1997**, 205, 223-234.
- 447.** Quevauviller, P.; Rauret, G.; Muntau, H.; Ure, A. M.; Rubio, R.; López-Sánchez, J. F.; Fiedler, H. D.; Griepink, B., Evaluation of a Sequential Extraction Procedure for the Determination of Extractable Trace Metal Contents in Sediments. *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1994**, 349, 808-814.
- 448.** Quevauviller, P.; Ure, A. M.; Muntau, H.; Griepink, B., Improvement of Analytical Measurements within the BCR-Programme: Single and Sequential Extraction Procedures Applied to Soil and Sediment Analysis. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **1993**, 51, 129-134.
- 449.** Radzi, B.A.M.; et al., On-line preconcentration and determination of trace metals using a flow injection system coupled to ion chromatography, *Talanta*, **2002**, 58(5), 883-890.
- 450.** Räsänen, M. L.; Hämäläinen, L.; Westerberg, L. M., Selective Extraction and Determination of Metals in Organic Stream Sediments. *Analyst*, **1992**, 117, 623-627.
- 451.** Ramkumar, J.; Nayak, S.K.; Maiti, B.; Transport of uranyl ion across a bulk liquid membrane using calixarene and synergistic agents as carriers. *Journal of Membrane Science*, **2002**, 196(2), 203-210.

- 452.** Ramkumar, J.; Nayak, S.K.; Maiti, B.; Transport of uranyl ion across a bulk liquid membrane using calixarene and synergistic agents as carriers. *Journal of Membrane Science*, **2002**, 196(2), 203-210.
- 453.** Rao, T.P.; Gladis, J.M., Quinoline-8-ol and its derivatives as preconcentration agents in flow injection analysis coupled to atomic and molecular spectrometric techniques, *Analytical Sciences*, **2002**, 18, 517-524.
- 454.** Rasmussen, L., Determination of Trace Metals in Sea Water by Chelex-100 or Solvent Extraction Techniques and Atomic Absorption Spectrometry, *Analytical Chimica Acta*, **1981**, 125, 117-130.
- 455.** Rasul, G.; Chaudry, M.A.; Afzal, M.; Thorium ions transport across tri-n-butyl phosphate-benzene based supported liquid membranes. *Sep. Sci. Technol.*, **1995**, 30(20), 3831-3848.
- 456.** Rathore, N.S.; Sonawane, J.V.; Kumar, A.; Venugopalan, A.K.; Singh, R.K.; Bajpai, D.D.; Shukla, J.P.; Hollow fiber supported liquid membrane: a novel technique for separation and recovery of plutonium from aqueous acidic wastes. *Journal of Membrane Science*, **2001**, 189, 119-128.
- 457.** Rathore, N.S.; Sonawane, J.V.; Pabby, A.K.; Venugopalan, A.K.; Changrani, R.D.; Dey, P.K.; Separation of Uranium and Plutonium from aqueous acidic wastes using a hollow fiber supported liquid membrane. *Separation Science & Technology*, **2004**, 39(6), 1295-1320.
- 458.** Rauret, G.; López-Sánchez, J. F.; Sahuquillo, A.; Rubio, R.; Davidson, C. M.; Ure, A. M.; Quevauviller, P., Improvement of the BCR Tree Step Sequential Extraction Procedure Prior to the Certification of New Sediment and Soil Reference Materials. *J. Environ. Monit.*, **1999**, 1, 57-61.
- 459.** Rauret, G.; Lopez-Sanchez, J.F., *New sediment and soil CRMs for extractable trace metal content*, **2001**, 79(1), 81-95.
- 460.** Reeve, R.N. *Environmental analysis*, **1994**, Ed. Wiley (USA).
- 461.** Reis, M.T.A.; Carvalho, J.M.R.; Modelling of zinc extraction from sulfate solutions with bis(2-ethylhexyl)thiophosphoric acid by emulsion liquid membranes. *Journal of Membrane Science*, **2004**, 237(1-2), 97-107.
- 462.** Rezaei, B.; Rezaei, E., Simultaneous determination of trace amounts of nickel, cobalt and zinc in the wastewater of galvanic workshop by using adsorptive cathodic stripping voltammetry, *Journal of Analytical Chemistry*, **2006**, 61(3), 262-265.
- 463.** Rezvanianzadeh, M.R.; Yamini, Y.; Khanchi, A.R.; Ashtari, P.; Ghannadi-Maragheh, M.; Highly selective and efficient membrane transport of molybdenum using Di(2-ethylhexyl) phosphoric acid as carrier. *Separation Science and Technology*, **2000**, 35(12), 1939-1949.
- 464.** Ribeiro Jr., et al., Cobalt extraction and cobalt-nickel separation from a simulated industrial leaching liquor by liquid surfactant membranes using Cyanex 302 as carrier, *Journal of Membrane Science*, **2004**, 241, 45-54.
- 465.** Robbe, D. Rapport de Recherche LCPC; 104; **1981**.

- 466.** Robbe, D.; et al., Influence of the sieving procedure on the metallic content of sediments, *Environ. Technol. Lett.*, **1983**, 4(1), 27-34.
- 467.** Rocha, J. C.; Toscano, I. A. S.; Burba, P., Lability of Heavy Metal Species in Aquatic Humic Substances Characterized by Ion Exchange With Cellulose Phosphate. *Talanta*, **1997a**, 44, 69-74.
- 468.** Rocha, J. C.; Toscano, I. A. S.; Cardoso, A. A., Relative Lability of Trace Metals Complexed in Aquatic Humic Substances Using Ion-Exchanger Cellulose-Hyphan. *J. Braz. Chem. Soc.*, **1997b**, 8(3), 239-243.
- 469.** Rodier, J.; *Análisis de las aguas. Aguas residuales. Aguas naturales. Agua de mar*, Ediciones Omega, Barcelona, **1998**.
- 470.** Rodríguez de San Miguel, E.; Aguilar, J.C.; de Gyves, J.; An SLM system for the extraction of In(III) from concentrated HCl media using ADOGEN 364 as carrier. *J. Chem. Technol. Biotechnol*, **1996**, 66, 56-64.
- 471.** Rodríguez, A.M.; Gómez-Limón, D.; Alguacil, F.J., *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, **2005**, 80, 967-972.
- 472.** Rodríguez, G. C.; Padilla, A. R.; Pérez, Z. G.; Hernández, R. A. T.; López, R. M. C.; Ribeiro, G. S.; Molina, I. J., Neutron Activation Analysis of Cuban Soils. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, **1998**, 237(1-2), 159-162.
- 473.** Romero, R.; Jönsson, J.Á., Determination of free copper concentrations in natural waters by using supported liquid membrane extraction under equilibrium conditions, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2005**, 381, 1452-1459.
- 474.** Rosell, A.; Palet, C.; Valiente, M.; Selective separation and concentration of vanadium (V) by a chemical pumping hollow-fiber supported liquid membrane. *Analytica Chimica Acta*, **1997**, 349 (1-3), 171-178.
- 475.** Rovira, M.; Sastre, A.M.; Modelling of mass transfer in facilitated supported liquid-membrane transport of palladium(II) using di-(2-ethylhexyl) thiophosphoric acid. *Journal of Membrane Science*, **1998**, 149(2), 241-250.
- 476.** Rubinson, K.A.; Rubinson, J.F., *Análisis Instrumental*, Ed. Pearson Educación, S.A.; Madrid, **2001**.
- 477.** Rubio, R.; Lopez-Sanchez, J. F.; Rauret, G., La Especiación Solida de Trazas de Metales en Sedimentos. Aplicación a Sedimentos Muy Contaminados. *Anales de Química*, **1991**, 87(5), 599-605.
- 478.** Ruey-Shin, J.; Hsiang-Chien, K.; Wen-Hsin, W., Analysis of liquid membrane extraction of binary Zn(II) and Cd(II) from chloride media with Aliquat 336 based on thermodynamic equilibrium models, *Journal of Membrane Science*, **2004a**, 228, 169-177.
- 479.** Ruey-Shin, J.; Hsiang-Chien, K.; Wen-Hsin, W., Liquid membrane transport and separation of Zn²⁺ and Cd²⁺ from sulphate media using organophosphorus acids as mobile carriers, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, **2004b**, 79, 140-147.
- 480.** Russell, I.M.; Burton, S.G., Development and demonstration of an immobilized-polyphenol oxidase bioprobe for the detection of phenolic pollutants in water, *Analytica Chimica Acta*, **1999**, 389(1-3), 161-170.

- 481.** Sachsenberg, S.; et al., A back-extraction procedure for the dithiocarbamate solvent extraction method. Rapid determination of metals in seawater matrices, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, **1992**, 342, (1-2), 163-166.
- 482.** Sadeghi, S.; Mohammadzadeh, D.; Imampur, J.S., Selective transport of copper(II) ions across a liquid membrane mediated by Piroxicam, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2005**, 283, 261-267.
- 483.** Safavi, A.; Peiravian, F.; Shams, E.; A selective uphill transport of copper through bulk liquid membrane using Janus Green as an anion carrier. *Separation and Purification Technology*, **2002**, 26(2-3), 221-226.
- 484.** Safavi, A.; Rastegarzadeh, S.; Selective and efficient uphill transport of Cu(II) through liquid membrane. *Talanta*, **1995**, 42(12), 2039-2042.
- 485.** Safavi, A.; Shams, E.; Selective and efficient liquid membrane transport of gold as gold cyanide using an anion carrier. *Journal of Membrane*, **1999**, 157(2), 171-176.
- 486.** Safavi, A.; Shams, E.; Selective and efficient transport of Hg(II) through bulk liquid membrane using methyl red as carrier. *Journal of Membrane Science*, **1998**, 144, 1-2, 37-43.
- 487.** Sağlam, Ö.G.; Köklü, Ü., Atomic absorption spectrometric determination of cobalt and nickel after preconcentration by the application of chelate adsorption on amino-modified silica-gel, *Journal of Trace and Microprobe Techniques*, **2003**, 21(2), 249-257.
- 488.** Sahmoune, A.; Mitiche, L., Extraction and transport of chromium(VI) through a bulk liquid membrane containing triphenylphosphine, *Annali di Chimica*, **2004**, 94.
- 489.** Sahuquillo, A.; et al., *Fresenius Environmental Bulletin*, **2000**, 9(5/6), 360-372.
- 490.** Sahuquillo, A.; et al., Mercury determination in solid phases from application of the modified BCR-sequential extraction procedure: a valuable tool for assessing its mobility in sediments, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2003c**, 375(4), 578-583.
- 491.** Sahuquillo, A.; et al., *Methodologies in Soil and Sediment Fractionation Studies*, **2002**, 10-27.
- 492.** Sahuquillo, A.; López-Sánchez, J. F.; Rubio, R.; Rauret, G.; Thomas, E. A.; Davidson, C. M.; Ure, A. M., Use of Certified Reference Materials for Extractable Trace Metals to Assess Sources of Uncertainty in the BCR Three-Stage Sequential Extraction Procedure. *Analytica Chimica Acta*, **1999**, 382(3), 317-327.
- 493.** Sahuquillo, A.; Rauret, G., Sequential extraction, *Comprehensive Analytical Chemistry*, **2003a**, 41, 1233-1256.
- 494.** Sahuquillo, A.; Rauret, G.; Rehnert, A.; Muntau, H., Solid sample graphite furnace atomic absorption spectroscopy for supporting arsenic determination in sediments following a sequential extraction procedure, *Analytica Chimica Acta*, **2003b**, 476(1), 15-24.

- 495.** Saito, T.; Deterioration of liquid membrane and its improvement in permeation transport of Zn(II) ion through a supported liquid membrane containing a bathocuproine. *Sep. Sci. Technol.*, **1992**, 27(1), 1-9.
- 496.** Saito, T.; Selective transport of alkali and alkaline earth metallic ions through a supported liquid membrane containing triphenyl phosphate as a carrier. *Sep. Sci. Technol.*, **1993**, 28(8), 1629-1640.
- 497.** Saito, T.; Selective transport of copper(I,II), cadmium(II), and zinc(II) ions through a supported liquid membrane containing bathocuproine, neocuproine, or bathophenanthroline. *Separation Science and Technology*, **1994**, 29(10), 1335-1346.
- 498.** Saito, T.; Transport of cadmium (II) ion through a supported liquid membrane containing a bathocuproine. *Separation Science and Technology*, **1991**, 26(12), 1495-1506.
- 499.** Saito, T.; Transport of silver (I) ion through a supported liquid membrane using bathocuproine as carrier. *Separation Science and Technology*, **1998**, 33(6), 855-866.
- 500.** Saito, T.; Transportation of zinc (II) ion through a supported liquid membrane. *Sep. Sci. Technol.*, **1990**, 25(5), 581-591.
- 501.** Sakai, H.; et al., Distribution of heavy metals in water and sieved sediments in the Toyohira river, *Water Research*, **1986**, 20(5), 559-567.
- 502.** Salaün, P.; Buffle, J., Integrated microanalytical system coupling permeation liquid membrane and voltammetry for trace metal speciation. Theory and applications, *Analytical Chemistry*, **2004a**, 76, 31-39.
- 503.** Salaün, P.; Bujard, F.; Berdondini, L.; Koudelka-Hep, M.; Buffle, J., Integrated microanalytical system coupling permeation liquid membrane and voltammetry for trace metal speciation. Technical description and optimization, *Electroanalysis*, **2004b**, 16(10), 811-820.
- 504.** Salaun, P.; Guenat, O.; Berdondini, L.; Buffle, J.; Koudelka-Hep, M.; Voltammetric microsystem for trace elements monitoring. *Analytical Letters*, **2003**, 36(9), 1835-1849.
- 505.** Salazar-Alvarez, G.; Nelly Bautista-Flores, A.; Rodriguez de San Miguel, E.; Muhammed, M.; de Gyves, J.; Transport characterisation of a PIM system used for the extraction of Pb(II) using D2EHPA as carrier. *Journal of Membrane Science*, **2005**, 250(1-2), 247-257.
- 506.** Saliba, R.; et al., The use of amidoximated cellulose for the removal of metal ions and dyes from waste water, *Cellulose*, **2002**, 9, 183-191.
- 507.** Salomons, W., Adoption of Common Schemes for Single and Sequential Extractions of Trace Metal in Soils and Sediments. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, **1993**, 51(1-4), 3-4.
- 508.** Salomons, W.; Förstner, U., *Metals in the Hydrocycle*, 'Ed.' Springer-Verlag: Berlin, **1984**.
- 509.** Samara, C.; Kouimtzi, Th.A., 2,2'-Dipyridyl-4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1,2,4-triazolehydrazone: A new reagent for the spectrophotometric determination

- of cobalt and for the titration of copper, *Microchemical Journal*, **1986**, 33(2), 252-255.
- 510.** Sánchez-Uria, J.E.; Speciation of metals in environment samples. *Química e Industria*, **1994**, 41(2), 25-34.
- 511.** Sanllorenzo, S.; Ortiz, M. C.; Arcos, M. J.; Lopez-Palacios, J., Application of an optimization procedure in adsorptive stripping voltammetry to the determination of nickel with DMG, *Electroanalysis*, **1996**, 8(3), 285-92
- 512.** Santosa, S.J.; Tanaka, S.; Yamanaka, K., Inductively coupled plasma mass spectrometry for the sequential determination of trace metals in sea water after electrothermal vaporization of their dithiocarbamate complexes in methyl isobutyl ketone, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1997**, 357, 112-1127.
- 513.** Sarangi, K.; Das, R.P., Separation of copper and zinc by supported liquid membrane using TOPS-99 as mobile carrier, *Hydrometallurgy*, **2004**, 71, 35-342.
- 514.** Sastre, A.; Madi, A.; Cortina, J.L.; Miralles, N.; Modelling of mass transfer in facilitated supported liquid membrane transport of gold(III) using phospholene derivatives as carriers. *Journal of Membrane Science*, **1998b**, 139(1), 57-65.
- 515.** Sastre, A.M.; Kumar, A.; Shukla, J.P.; Singh, R.K., Improbated techniques in liquid membrane separations: an overview, *Separation and Purification Methods*, **1998a**, 27(2), 213-298.
- 516.** Sastre, A.M.; Madi, A.; Alguacil, F.J.; Facilitated supported liquid-membrane transport of gold(I) using LIX 79 in cumene. *Journal of Membrane Science*, **2000b**, 166(2), 213-219.
- 517.** Sastre, A.M.; Madi, A.; Alguacil, F.J.; Solvent extraction of $\text{Au}(\text{CN})_2^-$ and application to facilitated supported liquid membrane transport . *Hydrometallurgy*, **2000a**, 54(2-3), 171-184.
- 518.** Satake, M.; et al., Use of dimethylglyoxime, acenaphthenequinone dioxime and mixed ligands of dimethylglyoxime and acenaphthenequinone dioxime supported on naphthalene for the pre-concentration and determination of nickel in alloys, tea and water samples using atomic absorption spectrometry, *Analyst*, **1989**, 114, 813-818.
- 519.** Sato, Y.; Kondo, K.; Nakashio, F.; Extraction kinetics of molybdenum with 2-ethylhexyl phosphonic acid mono-2-ethylhexyl ester in membrane extractor using a hollow fiber. *J. Chem. Eng. Jpn.*, **1989a**, 22(2), 200-204.
- 520.** Sato, Y.; Kondo, K.; Nakashio, F.; Extraction kinetics of zinc with 2-ethylhexyl phosphonic acid mono-2-ethylhexyl ester using a hollow-fiber membrane extractor. *J. Chem. Eng. Jpn.*, **1989b**, 22(6), 686-689.
- 521.** Schlosser, S.; *COMETT Advanced Course of Membrane Technology*, Module 4, **1993**, Arcavacata di Rende (Italy).
- 522.** Schwedt, G.; de Carballo, L.M., Stellenwert der voltammetrie zur spurenanalyse von metallionen, *in wässer*. *Chem. Labor. Biotech.*, **2001**, 52(4), 139-143.

- 523.** Serrano Muñoz, J.M., *Desarrollo de un nuevo método para la preconcentración de hierro en disoluciones salinas por extracción-reextracción*, Tesis de Licenciatura, Universidad de Cádiz, **2001**.
- 524.** Shamsipur, M.; Azimi, G.; Madaeni, S.S.; Selective transport of zinc as $Zn(SCN)_4^{2-}$ ion through a supported liquid membrane using K^+ -dicyclohexyl-18-crown-6 as carrier. *Journal of Membrane Science*, **2000b**, 165(2), 217-223.
- 525.** Shamsipur, M.; Azimi, G.; Mashhadizadeh, M.H.; Madaeni, S.S.; Selective transport of silver ion through a supported liquid membrane using hexathia-18-crown-6 as carrier. *Analytical sciences: international journal of the Japan Society for Analytical Chemistry*, **2001b**, 17(4), 491-494.
- 526.** Shamsipur, M.; Hashemi, O.R.; Lippolis, V., A supported liquid membrane system for simultaneous separation of silver(I) and mercury(II) from dilute solutions, *Journal of Membrane Science*, **2006**, 282, 322-327.
- 527.** Shamsipur, M.; Hashemi, O.R.; Safavi, A., Flotation-separation and ICP-AES determination of ultra trace amounts of copper, cadmium, nickel and cobalt using 2-aminocyclopentene-1-dithiocarboxylic acid, *Analytical Sciences*, **2005**, 21, 1063-1066.
- 528.** Shamsipur, M.; Kazemi, S.Y.; Azimi, G.; Madaeni, S.S.; Lippolis, V.; Garau, A., Isaia, F.; Selective transport of silver ion through a supported liquid membrane using some mixed aza-thioether crowns containing a 1,10-phenanthroline sub-unit as specific ion carriers. *Journal of Membrane Science*, **2003**, 215(1-2), 87-93.
- 529.** Shamsipur, M.; Khayatian, G.; A liquid membrane system containing dibenzylidiaz-18-crown-6 for selective and efficient transport of silver ions. *Indian Journal of Chemistry, Section A: Inorganic, Bio-inorganic, Physical, Theoretical & Analytical Chemistry*, **2001a**, 40 A (6), 594-597.
- 530.** Shamsipur, M.; Mashhadizadeh, M.H.; Azimi, G.; Highly selective and efficient transport of mercury (II) ions across a bulk liquid membrane containing tetrathia-12-crown-4 as a specific ion carrier. *Separation and Purification Technology*, **2002**, 27(2), 155-161.
- 531.** Shamsipur, M.; Mashhadizadeh, M.H.; Highly efficient and selective membrane transport of silver(I) using hexathia-18-crown-6 as a specific ion carrier. *Separation and Purification Technology*, **2000a**, 20(2-3), 147-153.
- 532.** Shamsipur, M.; Raoufi, F.; Separation study of strontium through a bulk liquid membrane containing decyl-18-crown-6. *Separation Science and Technology*, **2002**, 37(2), 481-492.
- 533.** Shemirani, F.; Abkenar, Sh. D., Preconcentration and determination of trace nickel using 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol (PAN) immobilized on surfactant-coated alumina, *Journal of Analytical Chemistry*, **2004**, 59(4), 327-330.
- 534.** Shemirani, F.; Zamani, M.; Jamali M.R., Solid phase extraction of ultra trace amounts of Ni^{2+} by dimethylglyoxime (DMG) immobilized on column, *Iranina Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, **2003**, 22(2), 55-59.

- 535.** Shen, X., et al., *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-organic Chemistry*, **1995**, 25(8), 1239-1247.
- 536.** Shijo, Y.; Shimizu, T.; Sakai, K., Micro-solvent extraction method for preconcentration of nickel in sea water by graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Analytical Sciences*, **1985**, 1, 479-480.
- 537.** Shijo, Y.; Takada, K.; Uehara, N., Determination of metal ions by high-performance liquid chromatographic separation of their pyrrolidinedithiocarbamate complexes after solvent extraction, *Analytical Sciences*, **1993**, 9, 315-317.
- 538.** Shukla, J.P.; Misra, S.K.; Carrier-mediated transport of uranyl ions across tributyl phosphate-dodecane liquid membranes. *J. Membr. Sci.*, **1991**, 64, 93-102.
- 539.** Sifniades, S.; Largman, T.; Tunick, A.A.; Koff, F.W.; Recovery of uranium from phosphoric acid by means of supported liquid membranes. *Hydrometallurgy*, **1981**, 7(3), 201-212.
- 540.** Silva, M.; Valcárcel, M., Spectrophotometric determination of microgram amounts of calcium in waters and foods using diphenylglyoxal bis(2-hydroxybenzoyl hydrazone), *Analyst*, **1980**, 105(1248), 193-202.
- 541.** Singh, B.; Gilkes, R. J., In An Interactive Computer Program for Analysis of Powder X- Ray Diffraction Patterns, *Powder Diffraction* 7. **1992**; pp. 6-10.
- 542.** Sirinawin, W.; Westerlund, S.; Analysis and storage of samples for chromium determination in seawater. *Analytical Chimica Acta*, **1997**, 356, 35-40.
- 543.** Slaveykova, V.I.; Parthasarathy, N.; Buffle, J.; Wilkinson, K.J., Permeation liquid membrane as a tool for monitoring bioavailable Pb in natural waters, *Science of the Total Environment*, **2004**, 328, 55-68.
- 544.** Slaveykova, V.I.; Parthasarathy, N.; Buffle, J.; Wilkinson, K.J.; Permeation liquid membrane as a tool for monitoring bioavailable Pb in natural waters. *Science of the Total Environment*, **2004**, 328(1-3), 55-68.
- 545.** Sohrin, Y.; et al., Determination of trace elements in seawater by fluorinated metal alkoxide glass-immobilized 8-hydroxyquinoline concentration and high-resolution inductively coupled plasma mass spectrometry detection, *Analytica Chimica Acta*, **1998**, 363(1), 11-19.
- 546.** Soko, L.; Chimuka, L.; Cukrowska, E.; Pole, S.; Extraction and preconcentration of manganese (II) from biological fluids (water, milk and blood serum) using supported liquid membrane and membrane probe methods. *Analytica Chimica Acta*, **2003**, 485(1), 25-35.
- 547.** Soko, L.; Cukrowska, E.; Chimuka, L.; Extraction and preconcentration of Cr(VI) from urine using supported liquid membrane. *Analytica Chimica Acta*, **2002**, 474(1-2), 59-68.
- 548.** Solá, J., El cobalto y el níquel: los metales diabólicos, *QUARK-Revista Digital*, **2002**, ISSN 1575-376X.

- 549.** Soylak, M.; et al., Determination of trace metal ions in seawater by atomic absorption spectrometry after separation/preconcentration with calmagite on amberlite XAD-1180, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **2002**, 82(4), 225-231.
- 550.** Soylak, M.; et al., Preconcentration-separation of heavy metal ions in environmental samples by membrane filtration-atomic absorption spectrometry combination, *Analytical Letters*, **2004**, 37(4), 767-780.
- 551.** Soylak, M.; et al., Solid phase preconcentration and separation of copper, nickel and lead in haemodialysis concentrates and urine on Amberlite XAD-1180 resin, *Kuwait J. Sci. Eng.*, **2003a**, 30(1), 95-109.
- 552.** Soylak, M.; Saracoglu, S.; Elci, L., Sorbent extraction of some metal ions on a gas chromatographic stationary phase prior to their flame atomic absorption determinations, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **2003b**, 24(5), 555-558.
- 553.** Sugiura, M.; Kikkawa, M.; Carrier-mediated transport of rare earth ions through supported liquid membranes. *Sep. Sci. Technol.*, **1989**, 24(9-10), 685-696.
- 554.** Sugiyama, M.; et al., Preconcentration by dithiocarbamate extraction for determination of trace elements in natural waters by inductively-coupled plasma atomic emission spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, **1986**, 181, 159-168.
- 555.** Sung, Y.-H.; Liu, Z.-S.; Huang, S.-D., Automated On-line Preconcentration System for Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry for the Determination of Copper and Molybdenum in Sea-water, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **1997**, 12, 841-847.
- 556.** Sutherland, R.S.; Tack, F.M.G., Determination of Al, Cu, Fe, Mn, Pb and Zn in certified reference materials using the optimized BCR sequential extraction procedure, *Analytica Chimica Acta*, **2002**, 454(2), 249-257.
- 557.** Suvardhan, K.; et al., The determination of nickel(II) after on-line sorbent preconcentration by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry using Borassus Flabellifer inflorescence loaded with coniine dithiocarbamate, *Journal of Hazardous Materials*, **2004**, B112, 233-238.
- 558.** Svete, P.; Milacic, R.; Pihlar, B., Partitioning of Zn, Pb and Cd in river sediments from a lead and zinc mining area using the BCR three-step sequential extraction procedure, *Journal of Environmental monitoring*, **2001**, 3(6), 586-590.
- 559.** Swain, B.; Sarangi, K.; Das, R.P., Effect of different anions on separation of copper and zinc by supported liquid membrane using TOPS-99 as mobile carrier, *Journal of Membrane Science*, **2004a**, 243, 189-194.
- 560.** Swain, B.; Sarangi, K.; Das, R.P., Effect of different anions on separation of cadmium and zinc by supported liquid membrane using TOPS-99 as mobile carrier, *Journal of Membrane Science*, **2006**, 277, 240-248.
- 561.** Swain, B.; Sarangi, K.; Das, R.P., Separation of Cadmium and Zinc by supported liquid membrane using TOPS-99 as mobile carrier, *Separation Science and Technology*, **2004b**, 39(9), 2171-2188.
- 562.** Szejner, G.; Marmur, A.; Cadmium removal from aqueous solutions by an emulsion liquid membrane. The effect of resistance to mass transfer at the outer oil-water interface. *Colloids Surfaces A*, **1999**, 151, 77-83.

- 563.** Szpakowska, M.; Coupled transport of copper through different types of liquid membranes containing Acorga P-50 as carrier. *Journal of Membrane Science*, **1996**, 109, 77-86.
- 564.** Szpakowska, M.; Nagy, O.B.; Influence of physico-chemical control and of membrane composition on the coupled transport of copper(II) ions through bulk liquid membranes. *Journal of Membrane Science*, **2000**, 168(1-2), 183-186.
- 565.** Takigawa, D.Y.; The effect of porous support composition and operating parameters on the performance of supported liquid membranes. *Sep. Sci. Technol.*, **1992**, 27(3), 325-339.
- 566.** Talbot, V., Lead and other trace metals in the sediments and selected biota of Princess Royal Harbor, Albany, Western Australia, Environmental Pollution, Series B: Chemical and Physical, **1983**, 5(1), 35-49.
- 567.** Taylor, M.J.C.; Barnes, D.E.; Marshall, G.D.; Trace gold determination in cyanide process solutions-preconcentration using supported liquid membranes in a flow-injection manifold. *Analytica Chimica Acta*, **1992**, 265, 71-79.
- 568.** Templeton, D.M.; Ariese, F.; Cornelis, R.; Danielsson, L.G.; Muntau, H.; van Leeuwen, H.P.; Lobinski, R.; IUPAC Guidelines for Terms Related to Speciation of Trace Elements, *Pure Appl. Chem.*, **2000**, 7(2/8), 1453-1470.
- 569.** Teramoto, M.; Kariya, A.; Yonehara, T.; Tokunaga, M.; Ohnishi, N.; Matsuyama, H.; Miyake, Y.; Separation of gallium and indium by supported liquid membranes containing 2-bromodecanoic acid as carrier: design of supported liquid membrane double module based on batch permeation experiments. *Hydrometallurgy*, **1993**, 33, 1-15.
- 570.** Tokalioğlu, Ş.; Büyükbas, H.; Kartal, Ş, Preconcentration of trace elements by using 1-(2-Pyridylazo)-2-naphthol functionalized Amberlite XAD-1180 resin and their determination by FAAS, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **2006**, 17(1), 98-106.
- 571.** Tokalioğlu, Ş.; Kartal, S.; Elci, L., Determination of Heavy Metals and Their Speciation in Lake Sediments by Flame Atomic Absorption Spectrometry after a Four-Stage Sequential Extraction Procedure. *Analytica Chimica Acta*, **2000b**, 413(1-2), 33-40.
- 572.** Tokalioğlu, Ş.; Kartal, Ş.; Elçi, L., Speciation and determination of heavy metals in lake waters by atomic absorption spectrometry after sorption on Amberlite XAD-16 resin, *Analytical Science*, **2000a**, 16, 1169-1174.
- 573.** Tokman, N.; Akman, S.; Ozcan, M., Solid-phase extraction of bismuth, lead and nickel from seawater using silica gel modified with 3-aminopropyltriethoxysilane filled in a syringe prior to their determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Talanta*, **2003**, 59, 201-205.
- 574.** Tomaszewski, L.; Buffle, J.; Galceran, J.; Theoretical and analytical characterization of a flow-through permeation liquid membrane with controlled flux for metal speciation measurements. *Analytical chemistry*, **2003**, 75(4), 893-900.

- 575.** Trtic-Petrovic, T.; Jönsson, J.A.; Application of SLM extraction for investigation of metal-humic acid bindings. *Desalination*, **2002**, 148, 247-251.
- 576.** Turekian, K.K.; Wedepohl. Distribution of the elements in some major units of the earth's crust. *Bulletin Geological Society American*, **1961**, 72, 175-192.
- 577.** Tuzen, M., Determination of trace metals in the River Yesilirmak sediments in Tokat, Turkey using sequential extraction procedure, *Microchemical Journal*, **2003**, 74(1), 105-110.
- 578.** Ueberfeld, J.; Parthasarathy, N.; Zbinden, H.; Gisin, N.; Buffle, J.; Coupling Fiber Optics to a Permeation Liquid Membrane for heavy metal sensor development. *Analytical Chemistry*, **2002**, 74(3), 664-670.
- 579.** Ure, A. M., et al., Aqua Regia Extraction Procedure. **1998**; 'Vol.' Trames Project, Doc 07/98.
- 580.** Ure, A. M., et al., Modified BCR Secuencial Extraction Procedure. **1997**; 'Vol.' Trames Project, Doc 09/97.
- 581.** Ure, A. M., The Effects of Drying on Element Concentrations and Speciation in Soils and Sediments. *Quimica Analítica*, **1994**, 13, (Supplement 1), S64-S69.
- 582.** Ure, A. M.; Quevauviller, P.; Muntau, H.; Griepink, B. Improvements in the Determination of Extractable Contents of Trace Metals in Soil and Sediments Prior to Certification; EUR 14763 EN; Commission of the European Communities: Brussels-Luxembourg, **1993a**; pp. 85.
- 583.** Ure, A. M.; Quevauviller, P.; Muntau, H.; Griepink, B., Speciation of Heavy Metals in Soils and Sediments. An Account of the Improvement and Harmonization of Extraction Techniques Undertaken Under the Auspices of the BCR of the Commission of the European Communities. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, **1993b**, 51, 135-151.
- 584.** Urtiaga, A.M.; Alonso, M.; Ortiz, I.; Daoud, J.A.; El-Reefy, S.A.; Pérez de Ortiz, S.; Gallego, T.; Comparison of liquid membrane processes for removal of cadmium from wet phosphoric acid. *J. Membr. Sci*, **2000**, 164, 229-240.
- 585.** Uzun, A.; Soylak, M.; Elçi, L., Preconcentration and separation with Amberlite XAD-4 resin; determination of Cu, Fe, Pb, Ni, Cd and Bi at trace levels in waste water samples by flame atomic absorption spectrometry, *Talanta*, **2001**, 54, 197-202.
- 586.** Valenzuela, F.; Auspont, J.; Basualto, C.; Tapia, C.; Sapag, J., Use of a surfactant liquid membrane contactor for zinc uptake from an acid aqueous effluent, *Chemical Engineering Research and Design*, **2005**, 83(A3), 247-255.
- 587.** van de Voorde, L.; Pinoy, L.; de Ketelaere, R.F.; Recovery of nickel ions by supported liquid membrane (SLM) extraction. *Journal of Membrane Science*, **2004**, 234(1-2), 11-21.
- 588.** van den Berg, C.M.G., Adsorptive cathodic stripping voltammetry of trace chronopotentiometry of trace metals in seawater, *Analytical Proceedings*, **1988b**, 25(8), 265-266.
- 589.** van den Berg, C.M.G., Adsorptive cathodic stripping voltammetry of trace elements in seawater, *Analyst*, **1988c**, 114(12), 1527-1530.

- 590.** van den Berg, C.M.G., Potentials and potentialities of cathodic stripping voltammetry of trace elements in natural waters, *Anal. Chim. Acta*, **1991**, 250, 265-276.
- 591.** Van der Linden, J.; de Ketelaere, R.F.; Selective recuperation of copper by supported liquid membrane (SLM) extraction. *Journal of Membrane Science*, **1998**, 139(1), 125-135.
- 592.** Vasconcelos, M.T.S.D.; Leal, M.F.C.; Antagonist interactions of Pb and Cd on Cu uptake, growth inhibition and chelator release in the marine algae *Emiliania huxleyi*. *Mar. Chem.*, **2001**, 75, 123-139.
- 593.** Vassileva E.; Furuta N., Application of iminodiacetate chelating resin muromac A-1 in on-line preconcentration and inductively coupled plasma optical emission spectroscopy determination of trace elements in natural waters, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, **2003**, 58(8), 1541-1552.
- 594.** Venkateswaran, P.; Palanivelu, K., Studies on recovery of hexavalent chromium from plating wastewater by supported liquid membrane using tri-n-butyl phosphate as carrier, *Hydrometallurgy*, **2005**, 78, 107-115.
- 595.** Wang, H.; Wang, C.X.; Wang, Z.J.; Cao, Z.H., Fractionation of heavy metals in surface sediments of Taihu Lake, East China, *Environmental Geochemistry and Health*, **2004**, 26(2-3), 303-309.
- 596.** Wang, J., In *Electroanalytical Chemistry*, Ed. Bard, A.J.; Dekker, M.: New York, **1989**.
- 597.** Wang, J.; Hansen, E.H., Coupling sequential injection on-line preconcentration by means of renewable microcolumn with ion-exchange beads with detection by electrothermal atomic absorption spectrometry. Comparing the performance of eluting the loaded beads with transporting them directly into the graphite tube, as demonstrated for the determination of nickel in environmental and biological samples, *Analytica Chimica Acta*, **2001**, 435, 331-342.
- 598.** Wängberg, I.; Edner, H.; Ferrara, R.; Lanzillotta, E.; Munthe, J.; Sommar, J.; Sjöholm, M.; Svanberg, S.; Weibring, P.; Atmospheric mercury near a chlor-alkali plant in Sweden. *Sci. Total Environ.*, **2003**, 304, 29-41.
- 599.** Warnken, K.W.; Tang, D.; Gill, G.A.; Santschi, P.H., Performance optimization of a commercially available iminodiacetate resin for the determination of Mn, Ni, Cu, Cd and Pb by on-line preconcentration inductively coupled plasma-mass spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, **2000**, 423, 265-276.
- 600.** Wright, J.B.; Nilsen, D.N.; Hundley, G.; Galvan, G.J.; Field test of liquid emulsion membrane technique for copper recovery from mine solutions. *Minerals Engineering*, **1995**, 8 (4-5), 549-556.
- 601.** Wu, R.S.S.; Change of Forms of Cadmium in the Aquatic Environment. *Journal of Chemical Education*, **1995**, 72, 264-265.
- 602.** Yaftian, M.R.; Zamani, A.A.; Parinejad, M., Facilitated transport of cadmium ions from hydrochloric acid solutions through a liquid membrane containing dicyclohexyl-18-crown-6 as extractant-carrier, *Separation Science and Technology*, **2005**, 40, 2709-2719.

- 603.** Yamashita, K.; Kakoi, T.; Kosaka, H.; Goto, M.; Synergistic extraction of nickel by liquid surfactant membranes. *Separation Science and Technology*, **1998**, 33(3), 369-385.
- 604.** Yamini, Y.; Chalooi, M.; Ebrahimzadeh, H.; Highly selective and efficient transport of bismuth in bulk liquid membranes containing Cyanex 301. *Separation and Purification Technology*, **2002**, 28(1), 43-51.
- 605.** Yang, L.; Sturgeon, R.E.; Mester Z., Quantitation of trace metals in liquid samples by dried-dropled laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry, *Analytical Chemistry*, **2005**, 77, 2971-2977.
- 606.** Yang, Z.; Guha, A.K.; Sirkar, K.K.; Simultaneous and synergistic extraction of cationic and anionic heavy metallic species by a mixed solvent extraction system and a novel contained liquid membrane device. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **1996**, 35, 4214-4220.
- 607.** Yaping, W.; Yi, H.; Suming, W.; Chunxue, X.; Mei, L., Chemical speciation of elements in sediments and soils and their sequential extraction process, *Dizhi Tongbao*, **2005**, 24(8), 728-734.
- 608.** Yi, Jongheop; Tavlarides, Lawrence L.; Modeling chemically active liquid membranes in tubular inorganic supports. *AIChE Journal*, **1995**, 41(6), 1403-1412.
- 609.** Yonehara, T.; Yamamoto, A.; Matsuyama, H.; Teramoto, M.; Separation of gallium, indium, and zinc by supported liquid membranes. *Proc. Symp. Solvent Extr.*, **1988**, 151-156.
- 610.** Yoshimura, K; Toshimitsu, Y.; Ohashi, S., Ion-exchanger colorimetry-VI microdetermination of nickel in natural waters, *Talanta*, **1980**, 27, 693-697.
- 611.** Yoshizuka, K.; Yasukawa, R.; Koba, M.; Inoue, K.; Diffusion model accompanied with aqueous homogeneous reaction in hollow fiber membrane extractor. *J. Chem. Eng. Jpn.*, **1995**, 28(1), 59-65.
- 612.** Youn, I.J.; Lee, Y.; Jeong, J.; Lee, W.H.; Analysis of Co-Ni separation by supported liquid membrane containing HEH(EHP). *J. Membr. Sci.*, **1997**, 125, 231-236.
- 613.** Youn, I.J.; Lee, Y.; Lee, W.H.; Analysis of permeation rate of cobalt ions across a supported liquid membrane containing HEH(EHP). *J. Membr. Sci.*, **1995**, 100, 69-75.
- 614.** Young-Woo, C.; Seung-Hyeon, M., A study on supported liquid membrane for selective separation of Cr(VI), *Separation Science and Technology*, **2004**, 39(7), 1663-1680.
- 615.** Yun, C.H.; Prasad, R.; Guha, A.K.; Sirkar, K.K.; Hollow fiber solvent extraction removal of toxic heavy metals from aqueous waste streams. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **1993**, 32(6), 1186-1195.
- 616.** Zachilas, L.N.; Ioannou, P.C.; Polydorou, C.; Efstathiou, C.E., Flow injection spectrofluorimetric method for the determination of magnesium in blood serum, *Analyst*, **1995**, 120(8), 2115-2118.

- 617.** Zha, F.; Fane, A.G.; Fell, C.J.D.; Liquid membrane processes for gallium recovery from alkaline solutions. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **1995**, 34, 1799-1809.
- 618.** Zhang, H.; et al., Simultaneous determination of cobalt and nickel in sea water by adsorptive cathodic stripping square-wave voltammetry, *Analyst*, **1989**, 114, 1597-1602.
- 619.** Zhao-Liang, S.; Cong-Giang, L.; Bo, P; Cheng, Y., Sequential extraction (SEE) technology and its applications to sediment and soil element speciation studies, *Diqiu Yu Huanjing*, **2004**, 32(2), 70-77.
- 620.** Zheng-Qi Z. ; Sheng-Zong C. ; Hui-Min L. ; Hong Zhang. Simultaneous determination of copper, nickel, lead, cobalt and cadmium by adsorptive voltammetry, *Analytica Chimica Acta*, **1993**, 272, 227-232.
- 621.** Zhu, Y.; et al., Multielement determination of trace metals in river water (Certified Reference Material, JSAC 0301-1) by high efficiency nebulisation ICP-MS after 100-fold preconcentration with a chelating resin-packed minicolumn, *Analytical Sciences*, **2005a**, 21, 199-203.
- 622.** Zhu, Y.; Itoh, A.; Haraguchi, H., Multielement determination of trace metals in seawater by ICP-MS using a chelating resin-packed minicolumn for preconcentration, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **2005b**, 78, 107-115.
- 623.** Zidan, A.S.A., Mixed Ligand Complexes of Nickel(II) Dialkyldithiophosphates with 2-Acetylpyridine Semicarbazone and 2-Acetylpyridine Benzoylhydrazone, *Phosphorus, Sulfur and Silicon and the Related Elements*, **2003**, 178(3), 567-582.
- 624.** Zih-Perenyi K.; et al., Use of a new type of 8-hydroxyquinoline-5-sulphonic acid cellulose (sulphoxine cellulose) for the preconcentration of trace metals from highly mineralised water prior their GFAAS determination, *Talanta*, **1998**, 47(3), 673-679.
- 625.** Zih-Perényi, K.; Lásztity, A.; Kelkó-Lévai, A., On-line preconcentration and GFAAS determination of trace metals in waters, *Microchemical Journal*, **2000**, 67, 181-185.
- 626.** Zolgharnein, J.; Hosseini, S.; Sangi, M. R.; Dadfarnia, S.; Shamsipur, M.; Dibenzopyridino-18-crown-6 as a highly selective and effective carrier for uphill transport of Pb²⁺ through a bulk liquid membrane. *Chemia Analytyczna (Warsaw, Poland)*, **2003**, 48(1), 65-75.
- 627.** Zolotov, Y.A.; Kuzmin, N.M., *Preconcentration of Trace Elements*, Ed. Elsevier, Amsterdam, **1990**.
- 628.** Zuo, G.; Orecchio, S.; Muhammed, M.; Facilitated transport of gold through a membrane via complexation to thiourea-based reagents. *Sep. Sci. Technol.*, **1996**, 31(11), 1597-1613.
- 629.** Zurek, G.; Karst, U., 2,4-dinitro-3,5,6-trideuterophenylhydrazones for the quantitation of aldehydes and ketones in air samples by liquid chromatography-mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, **2000**, 869(1-2), 251-259.