USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Biodisponibilidad de Cromo en sedimentos marinos de la Ría de Arousa

Paula Pazos Capeáns

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA, NUTRICIÓN E BROMATOLOXÍA

E- 15872. Santiago de Compostela. España
Teléfono: 981591079

BIODISPONIBILIDAD DE CROMO EN SEDIMENTOS MARINOS DE LA RÍA DE AROUSA

Memoria presentada por
Paula Pazos Capeáns
para optar ao grao de Doutora

Santiago de Compostela, novembro de 2007
Asdo. Paula Pazos Capeáns

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA, NUTRICIÓN E BROMATOLOXÍA

E- 15872. Santiago de Compostela. España
Teléfono: 981591079

Dna. Pilar Bermejo Barrera, Catedrática de Universidade do Departamento de Química Analítica, Nutrición e Bromatoloxía, e **Dna. Mª Carmen Barciela Alonso**, Profesora Contratada Doutora do mesmo Departamento, ambas da Universidade de Santiago de Compostela.

Informan:

Que a presente memoria titulada "Biodisponibilidad de Cromo en sedimentos marinos de la Ría de Arousa" que para optar ao Grao de Doutora en Química presenta **Dna. Paula Pazos Capeáns**, realizouse baixo a nosa dirección no Departamento de Química Analítica, Nutrición e Bromatoloxía da Universidade de Santiago de Compostela.

Considerando que constitúe traballo de Tese, autorizan a súa presentación na Comisión do Terceiro Ciclo de Universidade de Santiago de Compostela.

Asdo. Pilar Bermejo Barrera Asdo. Mª Carmen Barciela Alonso

Agradecimientos

Quero agradecer á catedrática Pilar Bermejo Barrera e á doutora Mª Carmen Barciela Alonso o seu traballo e adicación na dirección desta tese.

En segundo lugar quero agradecer a colaboración do Departamento de Química Analítica, Nutrición e Bromatoloxía da Universidade de Santiago de Compostela, e os medios proporcionados polo Grupo de Elementos Traza, Espectroscopía e Especiación. Estos medios foron imprescindibles para levar a cabo esta tese.

Thanks to University of Plymouth. I am especially grateful to Prof. Steve Hill and Dr. Andrew Fisher. Their collaboration and continuous help in the University of Plymouth gave me the opportunity to start the development of the alumina speciation study.

Quero expresar a miña gratitude ás institucións que fixeron posible coa súa axuda económica o desenrolo e finalización deste traballo. Gracias á Xunta de Galicia e ao Ministerio de Educación y Ciencia.

Non menos importante é toda a xente que estivo ao meu carón e me axudou ao longo destos anos de investigación. Non olvidarei a axuda que me prestaron todos os doutores, compañeiros de traballo, amigos e familia.

Con cariño a Lola

AAS	Atomic absorption spectrometry –*espectroscopía de absorción atómica*-
ACGIH	American Conference of Governmental Industrial Hygienists
ADN	Ácido desoxiribonucleico
ADTP	Ácido dietilentetraaminpentaacético
AEDT	Ácido etilendiamintetraacético
AF	Ácido fúlvico
AH	Ácido húmico
ANOVA	Analysis of Variance-*análisis de varianza*-
ASTM	American Standard Test Method
bcc	Body Centred Cubic (structure) –*(estructura) cúbica centrada en el cuerpo*-
BCR	Bureau Community of Reference
BOE	Boletín Oficial del Estado
CEE	Comunidad Económica Europea
CF	Concentración de fondo
CR	Concentración real
CRM	Certified reference material –*material de referencia certificado*-
CV	Coeficiente de variación
EP	European Parliament
EPA	Environmental Protection Agency
ETAAS	Electrothermal atomic absorption spectrometry -*espectroscopía de absorción atómica con atomización electrotérmica*-
FAAS	Flame atomic absorption spectrometry –*espectroscopía de absorción atómica de llama*-
FTG	Factor de tolerancia de la glucosa
GC	Grado de contaminación
GFAAS	Graphite furnace atomic absorption spectrometry –*espectroscopía de absorción atómica de horno de grafito*-
IARC	International Agency for Research on Cancer
ICP	Inductively coupled plasma –*plasma acoplado inductivamente*-
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
JAAS	Journal of Analytical Atomic Spectrometry
LOD	Limit of detection -*límite de detección*-
LOQ	Limit of quantification -*límite de cuantificación*-
NIOSH	National Institute for Occupational Safety and Health
NRCC	National Research Council Canada
ORP	Oxidation-reduction potential –*potencial redox*-
OSHA	Occupational Safety and Health Administration
OSPAR	Oslo y París
PCA	Principal Component Analysis –*análisis de componentes principales*-
PIXE	Proton induced X-ray emission –*emisión de rayos X inducida por protones*-
PTFE	Politetrafluoroetileno
R	Coeficiente de correlación
RID	Riverine Inputs and Discharges –*emisiones y descargas fluviales*-
rpm	Revoluciones por minuto
RSD	Relative standard deviation -*desviación estándar relativa*-
SCTEE	Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment
SD	Standard deviation -*desviación estándar*-
SEM/EDX	Scanning electron microscopy / Energy dispersive X-ray –*microscopía electrónica de barrido/energía de dispersión de rayos X*-
STAT	Slotted tube atom trap –*tubo con ranura atrapa-átomos*-
STPF	Stabilized Temperature Platform Furnace –*horno con plataforma de estabilización de temperatura*-
SW	Solid Waste
SXRFM	Synchrotron X-ray fluorescence microprobe
TEA	Trietilamina
TEM	Transmission electron microscopy –*microscopía electrónica de transmisión*-
TRGS	Technischen Regeln für Gefahrstoffe –*reglamentos técnicos para materiales peligrosos*-
USA	United States of America
XAFS	X-ray absorption fine structure spectroscopy
XANES	X-ray analysis near edge spectroscopy

CAPÍTULO 1

Introducción

CROMO 5
SEDIMENTOS 14
RÍA DE AROUSA 28
DETERMINACIÓN ESPECTROSCÓPICA DE CROMO 34
BIBLIOGRAFÍA 51
LISTADO DE TABLAS 59
LISTADO DE FIGURAS 59

CAPÍTULO 2

Objetivos 63

CAPÍTULO 3

Cromo total en sedimentos marinos de la Ría de Arousa

INTRODUCCIÓN 69
PARTE EXPERIMENTAL 83
CONCLUSIONES 125
BIBLIOGRAFÍA 127
LISTADO DE TABLAS 133
LISTADO DE FIGURAS 135

CAPÍTULO 4

Extracción secuencial de cromo en sedimentos marinos de Arousa

INTRODUCCIÓN 141
PARTE EXPERIMENTAL 149
CONCLUSIONES 223
BIBLIOGRAFÍA 229
LISTADO DE TABLAS 233
LISTADO DE FIGURAS 235

CAPÍTULO 5

Fracción residual de cromo en sedimentos marinos de Arousa

INTRODUCCIÓN 241
CONTENIDO DE CROMO RESIDUAL EN SEDIMENTOS DE LA RÍA DE AROUSA 243
CONCLUSIONES 239
BIBLIOGRAFÍA 257
LISTADO DE TABLAS 259
LISTADO DE FIGURAS 259

CAPÍTULO 6

Extracción selectiva de Cr(VI) y especiación

INTRODUCCIÓN....265
PARTE EXPERIMENTAL....271
CONCLUSIONES....303
BIBLIOGRAFÍA....305
LISTADO DE TABLAS....309
LISTADO DE FIGURAS....311

CAPÍTULO 7

Exploración de datos

INTRODUCCIÓN....317
EXPLORACIÓN DE DATOS....319
CONCLUSIONES....345
BIBLIOGRAFÍA....347
LISTADO DE TABLAS....347
LISTADO DE FIGURAS....349

CAPÍTULO 8

Discusión de resultados.... 353

CAPÍTULO 9

Anexos

Anexo I: Tabulación de datos empleados en figuras

Datos del capítulo 3....361
Datos del capítulo 4....365
Datos del capítulo 6....369

Anexo II: Publicaciones....379

CAPÍTULO 1

Introducción

CROMO 5

1. Comportamiento químico y medioambiental ... 6
2. Aplicaciones y fuentes de cromo ... 7
3. Efecto en los seres vivos ... 8
3.1. Toxicidad en humanos ... 9
3.2. Toxicidad en biota ... 10
3.3. Legislación y control de cromo ... 11
3.3.1. Exposición a cromo en ambientes antropogénicos ... 11
3.3.2. Contaminación medioambiental ... 12

SEDIMENTOS 14

4. Geoquímica y composición de los sedimentos marinos ... 17
5. Biodisponibilidad ... 21
6. Muestreo, almacenamiento y pretratamiento de muestras ... 26

RÍA DE AROUSA 28

1. Rías Baixas: situación y características generales ... 28
2. Ría de Arousa: situación y características generales ... 28
2.1. Corrientes marinas y fenómenos de afloramiento ... 30
2.2. Riqueza y producción acuícola ... 31
2.3. Agua, sedimentos superficiales y biota ... 31
2.4. Cromo en la Ría de Arousa ... 32

DETERMINACIÓN ESPECTROSCÓPICA DE CROMO 34

1. Llamas y quemadores ... 35
2. Atomización electrotérmica ... 37
3. Interferencias ... 41
4. Eliminación de interferencias ... 45
4.1. Corrección de fondo ... 45
4.1.1. Método de corrección con una fuente continua ... 46
4.1.2. Corrección de fondo por efecto Zeeman ... 46
4.1.3. Método de corrección Smith-Hieftje ... 47
4.2. Técnicas analíticas en AAS ... 47
4.2.1. Modificación de matriz ... 47
4.2.2. Método de adición estándar ... 49

BIBLIOGRAFÍA 51

LISTADO DE TABLAS 59

LISTADO DE FIGURAS 59

CROMO

El cromo (Cr) fue descubierto en Siberia por el químico francés Vauquelin en 1798, en forma de mineral rojo (crocoita) de fórmula $PbCrO_4$. Su nombre, cromo, se debe a que todos sus compuestos presentan colores marcados (Barceloux, D. G. 1999; Losi, M. E. y col. 1994).

Es el sexto elemento más abundante de la corteza terrestre y se presenta en combinación con otros elementos mostrando una gran variedad de colores. Es un metal duro, blanco, brillante y frágil. Presenta una configuración electrónica [Ar] $3d^5$ $4s^1$ y estructura cristalina cúbica centrada en el cuerpo (bcc). Su estructura cristalina lo ha convertido en un aleante de propiedades interesantes a nivel industrial, como son la resistencia al calor y a la corrosión. Se disuelve en ácido clorhídrico y sulfúrico, pero se pasiva con ácido nítrico o agua regia. A elevadas temperaturas reacciona con halógenos, oxígeno, carbón, azufre, silicio y boro (Burriel Martí, F. 1994; Cotton, F. A. y Wilkinson, G. 1996).

Presenta varios estados de oxidación que van desde (-II) hasta (VI). De ellos destacan la forma trivalente coma la más estable y la hexavalente de propiedades marcadamente oxidantes (Barceloux, D. G. 1999). Ambas especies se usan ampliamente a nivel industrial (Losi, M. E. y col. 1994).

Los compuestos de Cr(VI) más destacados son los cromatos y dicromatos metálicos, todos ellos coloreados ($PbCrO_4$, Ag_2CrO_4, Tl_2CrO_4, Ba_2CrO_4, $HgCrO_4$ y $K_2Cr_2O_7$). Los compuestos más destacados de Cr(III) son las sales solubles en agua como acetato, bromuro, cloruro, yoduro, nitrato y perclorato, o sales dobles del tipo de los alumbres: $CrM(SO_4)_2.12H_2O$ en donde M es un metal alcalino. Destacan también como compuestos más insolubles Cr_2O_3, $Cr(OH)_3$ y $CrPO_4$ (Burriel Martí, F. 1994). La insolubilidad de estos compuestos se ha tenido en cuenta en los resultados de algunos capítulos de este trabajo.

En la naturaleza el cromo puede existir en 4 formas isotópicas: ^{50}Cr, ^{52}Cr, ^{53}Cr, ^{54}Cr, con abundancias relativas que van desde el 2.4% para ^{54}Cr hasta un 83.8% para ^{52}Cr (Pawlisz, A. V. y col. 1997). Está muy limitada la aplicación comercial de estos isótopos naturales (^{50}Cr, ^{52}Cr, ^{53}Cr, ^{54}Cr), pero el isótopo radioactivo ^{51}Cr se aplica frecuentemente en biomedicina (Barceloux, D. G. 1999).

1. Comportamiento químico y medioambiental

El cromo experimenta una serie de reacciones químicas y biológicas en sistemas naturales que vienen gobernadas básicamente por la especiación, lo que justifica su comportamiento medioambiental. Las reacciones más importantes incluyen oxidación/reducción (Comber, S. y Gardner, M. 2003; Johnson, C. A. y col. 1992; Lin, C. J. 2002), precipitación/disolución y adsorción/desorción (Cossich, E. S. y col. 2004; Lee, B. G. y Luoma, S. N. 1998; Losi, M. E. y col. 1994).

Parte de Cr(VI) se puede reducir a Cr(III) por medio de donantes inorgánicos de electrones, tales como Fe^{2+} y S^{2-} en condiciones anaeróbicas (Saleh, F. Y. y col. 1989), o en procesos biológicos en los que interviene la materia orgánica. Después, el Cr(III) puede precipitar como óxido o hidróxido o formar complejos con numerosos ligandos. Los complejos de Cr(III) solubles, tales como los que forma con el citrato pueden oxidarse en presencia de MnO_2 formando de nuevo Cr(VI) (Losi, M. E. y col. 1994).

En general destacan, entre las numerosas reacciones, las de reducción de cromato en condiciones ácidas y presencia de Fe(II) con precipitación de especies $(Fe,Cr)(OH)_3$ (Buerge, I. J. y Hug, S. J. 1997; Buerge, I. J. y Hug, S. J. 1998; Eary, L. E. y Rai, D. 1991), y las de reducción en presencia de ácidos fúlvicos (Wittbrodt, P. R. y Palmer, C. D. 1995), húmicos (Wittbrodt, P. R. y Palmer, C. D. 1996), y de forma más lenta y desfavorable la oxidación de Cr(III) por MnO_2 (Fendorf, S. E. y Zasoski, R. J. 1992; Saleh, F. Y. y col. 1989; Smith, L. A. y col. 1995).

La química medioambiental del cromo se fundamenta esencialmente en Cr(III) y Cr(VI). El cromo trivalente es un ácido duro con tendencia a formar complejos fuertes con ligandos, y por tanto con moléculas biológicas (Tessier, A. y Turner, D. R. 1995) en el medio ambiente. Las principales especies acuosas de Cr(III) son Cr^{3+}, $Cr(OH)^{2+}$, $Cr(OH)_3$ y $Cr(OH)_4^-$, destacando la predominancia del Cr^{3+} a pH<3.6. La solubilidad del Cr(III) en lodos y aguas naturales se ve limitada por la formación de óxidos altamente insolubles, hidróxidos y fosfatos. Por eso el Cr(III) tiene una gran tendencia a adsorberse en superficies, y como otros metales de la primera serie de transición, tiene gran afinidad por ligandos que contienen O-, N-, y S-, pudiendo así formar complejos orgánicos en los medios acuáticos (Nriagu, J. O. y Kabir, A. 1995). Además el Fe^{3+}, que se encontrará presente tanto en el medio acuoso como en los sedimentos, puede retirarlo del agua, con la formación de fases insolubles

$Fe_x^{3+}Cr_{1-x}^{3+}(OH)_3$, partiendo o bien del cromo como ión libre o complejado (Allen, H. E. 1995).

La química de Cr(VI) difiere totalmente de la de Cr(III). El Cr(VI) forma un cierto número de oxoácidos y oxoaniones incluyendo: $HCrO_4^-$, $Cr_2O_7^{2-}$ y CrO_4^{2-}, siendo el último de importancia medioambiental y toxicológica (Nriagu, J. O. y Kabir, A. 1995). Dados su elevado potencial de ionización y coordinación tetraédrica, el ión cromato es un agente oxidante enérgico y un ácido fuerte (Losi, M. E. y col. 1994). Por ello, si consideramos un medio acuoso, y como variables principales tanto el pH como el potencial redox, tendremos como predominantes las especies que se mostrarán en el capítulo 6 dedicado a la especiación de cromo (ver los comentarios y las especies de cromo recogidas en la Figura 6- 15 de ese capítulo).

El ión cromato se encuentra en equilibrio con otras formas de cromo hexavalente en función del pH, tales como $HCrO_4^-$ y $Cr_2O_7^{2-}$. La forma CrO_4^{2-} es predominante a pH>6 y suele predominar entonces en condiciones medioambientales. El cromo trivalente es mucho menos móvil y se adsorbe en las partículas más fuertemente. La solubilidad del Cr(III) decrece a pH>4 y precipita completamente a pH>5.5 (Alloway, B. J. 1990). Globalmente el principal mecanismo de eliminación de Cr(VI) soluble es la reducción de la especie hexavalente y coprecipitación como hidróxido junto con Fe(III) (Puls, R. W. y col. 1994), dependiendo dicha eliminación de la salinidad de las aguas (Mayer, L. M. y Schick, L. L. 1981).

2. Aplicaciones y fuentes de cromo

La cromita o hierro cromado es el mineral más común ($FeCr_2O_4$) (Barceloux, D. G. 1999), y el de mayor importancia económica (Losi, M. E. y col. 1994; Nriagu, J. O. y Kabir, A. 1995; Pawlisz, A. V. y col. 1997). El cromo aquí se encuentra como especie trivalente.

La crocoita ($PbCrO_4$) es otro de sus minerales, menos abundante, de menor interés industrial y en el que de forma natural el cromo se presenta en estado hexavalente (Barceloux, D. G. 1999). Como impureza el cromo se encuentra en muchos minerales y rocas a los que da colores característicos, como en el caso del rubí, crisoberilo, esmeralda, granate, anfíboles, piroxenos y talcos (Burriel Martí, F. 1994).

Las fuentes naturales de cromo en el aire incluyen emisiones volcánicas, incendios forestales, restos vegetales y aerosoles marinos. La principal fuente antropogénica de cromo en la atmósfera abarca torres de refrigeración, chapado de cromo, combustión de combustibles fósiles (fuel), incineración de basura, refinado da cromita, producción química de cromo y ferrocromo, fabricación de aceros especiales y producción de cemento. A pequeña escala también destaca el desgaste de neumáticos y revestimiento de frenos; y también son una fuente importante de cromo en ambientes cerrados las tintas de fotocopiadoras (Pawlisz, A. V. y col. 1997).

En ambientes acuáticos la principal fuente de cromo incluye curtidos, torres de refrigeración, aceros y fundiciones no ferrosas, operación de chapado y acabado metálico, plantas de producción de asbestos y de espejos. También en medios acuáticos se detectan vertidos procedentes del tratamiento de pulpa y papel, fábricas de cementos y fertilizantes, plantas textiles e industrias petroquímicas. Algunas de estas industrias pueden incluso intervenir en el estado del agua, el aire y el suelo (Pawlisz, A. V. y col. 1997).

3. Efecto en los seres vivos

Se ha identificado al Cr(III) como un elemento esencial en mamíferos (Cornelis, R. 2005), siendo uno de los últimos oligoelementos reconocidos. Se encuentra implicado en el factor de tolerancia de la glucosa (FTG), encargado de la eliminación de la glucosa en sangre. El FTG es un complejo de Cr(III), ácido nicotínico y aminoácidos (glicina, cisteína y ácido glutámico), que reacciona con la insulina y potencia su efecto sobre el nivel de glucosa (Barceloux, D. G. 1999). Se sabe que el FTG en mamíferos atraviesa la membrana activa fosfotirosina fosfatasa, pero la estructura de este complejo no ha sido identificada completamente (Cornelis, R. 2005; EPA 1998a). También se ha relacionado de forma más imprecisa a este metal con el metabolismo lipídico, la activación de algunos sistemas enzimáticos, con el metabolismo tiroideo y con la estabilización de proteínas y ácidos nucleicos (Baran, E. J. 1995; Metzler, D. E. 1977).

Metabólicamente el cromo se absorbe primariamente en la zona media del intestino delgado, y su retención se regula por la presencia de agentes complejantes (ej. acetato, citrato, etc.), necesarios para prevenir su hidrólisis en el medio intestinal (Baran, E. J. 1995; Cornelis, R. 2005).

Los distintos estados de oxidación del metal y los diferentes compuestos orgánicos e inorgánicos de los que forman parte el cromo les confieren propiedades estructurales y fisicoquímicas distintas. Estas diferencias justifican vías no comunes de absorción, transporte, distribución y efecto final de ambas especies de cromo en los organismos.

3.1. Toxicidad en humanos

El cromo ha suscitado interés como carcinógeno ocupacional y ambiental (EPA 1998b; EPA 1998a). Entre los mecanismos de acción posible se encuentran la unión covalente del metal con el ADN, formación de uniones cruzadas entre el ADN y proteínas, y deterioro de la replicación del ADN sobre la unión a proteínas nucleares o ARN. Varios de estos procesos pueden ser simultáneos.

Los efectos carcinógenos fueron recogidos por la IARC, 1993, para algunos metales de interés industrial, entre los que se encuentra el cromo y algunos de sus compuestos (Repetto, M. 1995). De las especies de cromo destaca el fuerte poder carcinógeno de los compuestos de Cr(VI). La gran toxicidad de los cromatos se debe a su solubilidad y a la facilidad con que penetra en las membranas, dado su poder oxidante y la toxicidad posterior de las especies de Cr(III) originadas en su reducción (Baran, E. J. 1995; Cornelis, R. 2005). Estudios in vitro indican que el Cr(VI), aunque es relativamente estable, en condiciones fisiológicas se va reduciendo paulatinamente hasta Cr(III).

El Cr(VI) puede penetrar a través de las membranas celulares en forma libre o complejado (siguiendo la ruta del sulfato o fosfato mediante transporte activo o bien por difusión facilitada al complejarse con proteínas transportadoras), mientras que el Cr(III) no (Cornelis, R. 2005; Tessier, A. y Turner, D. R. 1995). Una vez dentro de la célula tanto el Cr(VI) como sus estados de oxidación intermedios pueden reaccionar con el ADN produciendo finalmente tumores.

Los compuestos de cromo alteran la salud humana causando (Cornelis, R. 2005; Nriagu, J. O. y Nieboer, E. 1988; Repetto, M. 1995).

- Efectos irritantes en la piel (aparición de palominos) y en los tejidos nasales,
- Bronquitis y neumonitis, deterioros gastrointestinales, hepáticos y renales, y

- Efectos embriotóxicos, teratogénicos y otros deterioros en la reproducción. Además las exposiciones ocupacionales de compuestos de Cr(VI) se han asociado a cuadros de cáncer de pulmón.

En humanos se considera letal concentraciones en sangre de cromo de 2-3 $mg_{Cr}\ l^{-1}$, la concentración media en orina para trabajadores no expuestos ronda los $0.11 \pm 0.04\ \mu g_{Cr}\ g_{creatinina}^{-1}$. Cabe destacar las dificultades existentes en los análisis de pelo dado que es difícil distinguir el cromo depositado procedente del ambiente ocupacional del cromo absorbido por los individuos. Aún así es interesante dado que en pelo las concentraciones del metal son 1000 veces mayores que por ejemplo en suero sanguíneo (Barceloux, D. G. 1999).

Un antídoto conocido en caso de intoxicación con compuestos de Cr(VI) es el ácido ascórbico (Barceloux, D. G. 1999).

3.2. Toxicidad en biota

Está probado que la biota acuática bioacumula el cromo procedente del agua y los sedimentos. Se han estudiado factores de bioacumulación de cromo procedente de sedimentos y del agua en algas, fitoplancton, zooplancton, en tejidos blandos de moluscos, crustáceos y en la carne de los peces (Nriagu, J. O. y Kabir, A. 1995).

En la agricultura la presencia de Cr(VI) en niveles elevados facilita procesos de clorosis, reducción de la germinación y reducción de la actividad fotosintética (Pawlisz, A. V. y col. 1997). Sin embargo con anterioridad Pratt (1966) había recogido evidencias contrarias, aunque inconsistentes y poco concluyentes, sobre los efectos de la estimulación del crecimiento de las mismas (Nriagu, J. O. y Kabir, A. 1995), y lo atribuía a una sustitución limitada del cromato por el molibdato en su metabolismo. En general en las plantas el cromo se acumula especialmente en la zona de las raíces.

En general, en mamíferos y aves las exposiciones a cromo alteran visiblemente los procesos reproductores (Nriagu, J. O. y Kabir, A. 1995).

3.3. Legislación y control de cromo

3.3.1. Exposición a cromo en ambientes antropogénicos

Muchas organizaciones de carácter internacional se han ocupado de aspectos ambientales y ocupacionales relacionados con focos de contaminación y niveles permitidos para prevenir riesgos de toxicidad de ciertos compuestos. Algunas normativas y recomendaciones para la exposición de cromo y para su monitorización biológica se recogen en la Tabla 1- 1 (Barceloux, D. G. 1999):

Tabla 1- 1: Normativas y recomendaciones para cromo en ambientes de trabajo.

AGENCIA	FOCO	NIVEL	COMENTARIOS
ACGIH[1]	Aire-zonas de trabajo	0.05 mg m^{-3}	Para prevenir riesgos carcinogénicos de ciertos compuestos insolubles de cromo
		0.5 mg m^{-3}	Metal y compuestos de Cr(III)
		0.01 mg m^{-3}	Compuestos de Cr(VI) insolubles
		0.05 mg m^{-3}	Mena de cromita (cromato) y Cr
		0.01 mg m^{-3}	Cromatos de Zinc y también Cr
	Orina humana	10-30 µg g^{-1} creatinina	
NIOSH[2]	Aire- zonas de trabajo	1 µg m^{-3}	10 h para sales de Cr(VI) carcinogénicas
		25 µg m^{-3}	10 h para sales de Cr(VI) no carcinogénicas incluyendo ácido crómico
		50 µg m^{-3}	15 min. en zonas cerradas para sales de Cr(VI) no carcinogénicas
OSHA[3]	Aire- zonas de trabajo	100 µg m^{-3}	Límite de exposición permisible para ácido crómico y cromatos (zonas cerradas)
		500 µg m^{-3}	Límite de exposición para sales solubles de cromo
		1000 µg m^{-3}	Límite de exposición para cromo metal y sales insolubles
EPA[4]	Ambiente atmosférico	Sin datos	No está contemplado en la página oficial de la EPA dentro de la lista de *Hazard Air Pollutant* (año 2007)
	Agua potable	50 µg l^{-1}	Regulado para el máximo nivel de cromo total

[1]ACGIH: American Conference of Governmental Industrial Hygienists (http://www.acgih.org/home.htm), [2]NIOSH: National Institute for Occupational Safety and Health (http://www.cdc.gov/niosh/), [3]OSHA: Occupational Safety and Health Administration (http://www.osha.gov/), [4]EPA: Environmental Protection Agency (http://www.epa.gov/).

En particular se sabe que el cromo, en su forma hexavalente, se presenta en concentraciones elevadas en muestras de cemento. La concentración de esta

especie se incrementa durante el proceso de fabricación, aún cuando durante el mismo se añaden en algunos casos reductores como sulfato ferroso para minimizar estos niveles. Su producción industrial, por tanto, también acarrea riesgos de exposición debido a la naturaleza de este tipo de productos pulverulentos. Las principales vías de entrada de este tóxico carcinogénico durante su producción son por inhalación de polvo de cemento o por el contacto con la dermis de los trabajadores durante su manipulación.

La Comisión Europea recomienda no poner a la venta o no permitir el uso de estos productos para actividades manuales cuando existe riesgo de contacto con la piel y su contenido supera los 2 μg g^{-1} (0.0002%) de Cr(VI) soluble. La correlación entre el contenido en cementos de Cr(VI) soluble en agua y una reacción alérgica en la piel ha sido recogida por el Comité Europeo -*Scientific Comité on Toxicity, Ecotoxicity and The Environment*- (SCTEE) para examinar la toxicidad y ecotoxicidad de compuestos químicos (SCTEE 2002).

El análisis de Cr(VI) en muestras de cemento y sedimento marino y los comentarios de los resultados obtenidos se recogen en el capítulo 6 de este trabajo.

3.3.2. Contaminación medioambiental

La EPA ha establecido procedimientos estándar de tratamiento de cromo en aguas residuales basados en su reducción y precipitación química (Smith, L. A. y col. 1995). Estos mismos procedimientos se han propuesto para la remediación de suelos contaminados, y en ellos los reductores propuestos son ácidos orgánicos, sales de Fe(II) o materia orgánica de desecho (James, B. R. 1996).

La Directiva 76/464/CEE, de 4 de mayo, impone a los Estados miembros de la Unión Europea la obligación de adoptar determinadas medidas para eliminar la contaminación causada por los vertidos al medio acuático de las sustancias peligrosas. Respetando estas medidas de la Unión Europea, España en el Real Decreto 995/2000, de 2 de junio, ha fijado objetivos de calidad para determinadas sustancias contaminantes, y en el mismo Decreto ha modificado el Reglamento de Dominio Público Hidráulico. Se establece así un régimen jurídico aplicable a las aguas superficiales continentales que contengan ciertos contaminantes como el

cromo. En el anexo I de esta directiva europea se encuentra el cromo total disuelto cuyo objetivo de calidad en agua es de 50 µg l^{-1}.

Se generan grandes cantidades de residuos de cromo durante muchos procesos industriales y se acaban vertiendo en el medioambiente. Estas descargas antropogénicas de metal, como se ha comentado anteriormente, son el resultado de actividades industriales como el cromado, curtido, inhibición de la corrosión, disoluciones de lavado de cristales, conservación de maderas, acabado metálico o procesado del mineral de cromita, en donde se emplean tanto cromo trivalente como hexavalente (Barceloux, D. G. 1999; Losi, M. E. y col. 1994). Con frecuencia, las actividades antropogénicas en estuarios y costas generan áreas contaminadas. En particular, los estuarios presentan un equilibrio medioambiental muy característico y a veces crítico. Cambios en la salinidad, composición química (nutrientes, gases disueltos, metales traza), morfología y corrientes (mareas y corrientes fluviales) son los factores clave de su calidad y equilibrio (Elliott, M. y McLusky, D. S. 2002; Uncles, R. J. 2002; Villares, R. y Carballeira, A. 2003).

La regulación de contaminantes no es tan sencilla en sedimentos marinos. El cromo es un contaminante común de estuarios, pero los niveles de contaminación total son difíciles de evaluar. Por ello, directivas como las publicadas por el Parlamento Europeo o la Comisión para la Protección del Ambiente Marino del Atlántico Nororiental OSPAR ('Oslo y París') han estado estudiando los siguientes factores (EP 2000; EP 2001; OSPAR 2000):

- Criterio de evaluación toxicológica -*Ecotoxicological Assessment Criteria*- en agua, sedimento, peces y mejillones.
- Concentraciones de fondo de referencia de numerosos contaminantes, incluyendo al cromo.

El convenio de protección del medio marino del Atlántico Nororiental (22 septiembre de 1992, París) ha sido aceptado por España, asimilado y publicado en el Boletín Oficial del Estado (BOE 1998).

Dentro del Comité ASMO -*Assessment and Monitoring*-, es decir, el Comité de Evaluación y Seguimiento del Convenio OSPAR, existe un grupo de trabajo para la aplicación del Programa RID -*Riverine Inputs and Discharges*- sobre control de emisiones a través de los ríos y descargas directas al mar, en cuyas reuniones

participa la Subdirección General de Tratamiento y Control de la Calidad de las Aguas del Ministerio de Medio Ambiente español.

El concepto introducido aquí relativo a la concentración de fondo de referencia se ha recogido y comentado en el capítulo 3 de este trabajo y se ha estimado el grado de contaminación encontrado en los sedimentos en función del valor de fondo aplicado a la Ría de Arousa.

SEDIMENTOS

La movilidad, transporte y distribución de metales traza en sistemas terrestres y acuáticos naturales son función de la forma química del elemento y dependen de las características fisicoquímicas y biológicas del sistema ambiental. La tendencia de acumulación de un elemento en organismos de sistemas acuáticos depende en particular de la capacidad del sedimento de retener al metal de interés. Esta capacidad de retención puede debilitarse en sistemas agua-sedimentos sobrecargados (Ure, A. M. y Davidson, C. M. 2001). Por ello, la toxicidad y la bioacumulación de metales en sedimentos es función de la propia geoquímica que poseen los sedimentos en sí (Tessier, A. y Turner, D. R. 1995).

Los componentes sólidos de los sedimentos determinan la capacidad de disolución de estos metales a través de reacciones de adsorción/desorción y disolución/precipitación acopladas a complejaciones, acidificación o a reacciones redox. Teniendo en cuenta todo esto, para evaluar el impacto medioambiental de un contaminante concreto se suelen considerar los siguientes factores (Ure, A. M. y Davidson, C. M. 2001):

- La reactividad del metal introducido en el material sólido, procedente o no de una actividad antropogénica, en comparación con la composición natural.
- La interacción del metal entre la fase acuosa y el sedimento.
- El grado de similitud existente entre la remobilización del metal del sistema y la remobilización del metal introducido en el medio.

Además, las principales ventajas que acarrea el estudio de sedimentos son, entre otras, que:

- Poseen concentraciones de contaminante superior al de la fase acuosa.

- Son fáciles de muestrear y analizar (no así para el análisis de contaminantes en biota) y se encuentran en condiciones casi estacionarias (a diferencia del agua).
- Los estratos sedimentarios reflejan la variación del contaminante a lo largo del tiempo, al igual que recogen cambios fisicoquímicos y biológicos.
- Los diferentes grados de asociación del contaminante al sedimento facilitan datos sobre el foco de contaminante, la dispersión que sufre y el tipo de transporte.

Además de las generalidades comentadas, existen otros factores que pueden influir en los sedimentos (cambios de salinidad, potencial redox, pH, temperatura, actividad microbiana o actividad humana) y por tanto pueden hacer que las muestras modifiquen su composición (Olausson, E. y Cato, I. 1980).

Para cromo concretamente se pueden encontrar en los sedimentos los estados de oxidación III y VI (cromo trivalente y hexavalente). Se ha demostrado en numerosos estudios la reducción de Cr(VI) a Cr(III) por diferentes procesos biológicos y geoquímicos (pH bajo, condiciones anóxicas, alto contenido de materia orgánica como los ácidos fúlvicos, Fe(II) y presencia de bacterias) (Nriagu, J. O. y Kabir, A. 1995). El proceso inverso también es posible. Se produce así la oxidación de Cr(III) a Cr(VI) en presencia de óxidos de manganeso, H_2O_2 u oxígeno molecular producido por reacciones fotoquímicas (Nriagu, J. O. y Kabir, A. 1995; Pawlisz, A. V. y col. 1997), pero estas reacciones son relativamente lentas (meses) comparadas con los procesos de reducción anteriores.

Las bacterias también actúan como agentes redox (Losi, M. E. y col. 1994). Si atendemos a la actividad microbiana, la biorreducción de cromato (ver Figura 1- 1 y Figura 1- 2) puede ser el resultado directo de la acción metabólica, o bien mediada por metabolitos bacterianos tales como H_2S o durante la degradación anaeróbica del benzoato (Shen, H. y col. 1996). Las reducciones comentadas se pueden llevar a cabo en medios aeróbicos o anaeróbicos.

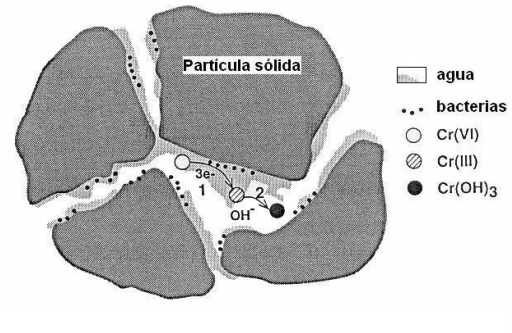

Figura 1- 1: Reducción enzimática de Cr(VI) seguida de precipitación química.

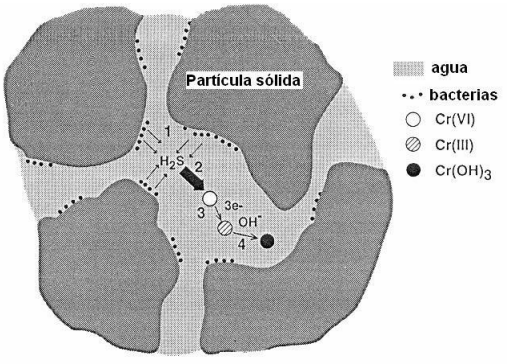

Figura 1- 2: Reducción indirecta de Cr(VI) por $H_2S(g)$ seguida de precipitación química.

En ambientes acuáticos el Cr(III) se encuentra mayoritariamente en las partículas, destacando las interacciones dipolo-dipolo a concentraciones bajas, y, en general, en procesos de adsorción en superficies sólidas (Fajgelj, A. y col. 1991).

Las especies de Cr(VI) aniónicas son las dominantes en la fase acuosa y presentan poca afinidad por los sólidos tanto del material coloidal como sedimentado (Pawlisz, A. V. y col. 1997). Dado que ambas especies de cromo están interrelacionadas y es posible la interconversión entre ellas, también es determinante el contenido total del metal en las muestras de agua, biota y sedimento.

El ciclo acuático de muchos compuestos metálicos, incluyendo al cromo, se esquematiza en la Figura 1- 3 (Buffle, J. y col. 1988; Stumm, W. 1987).

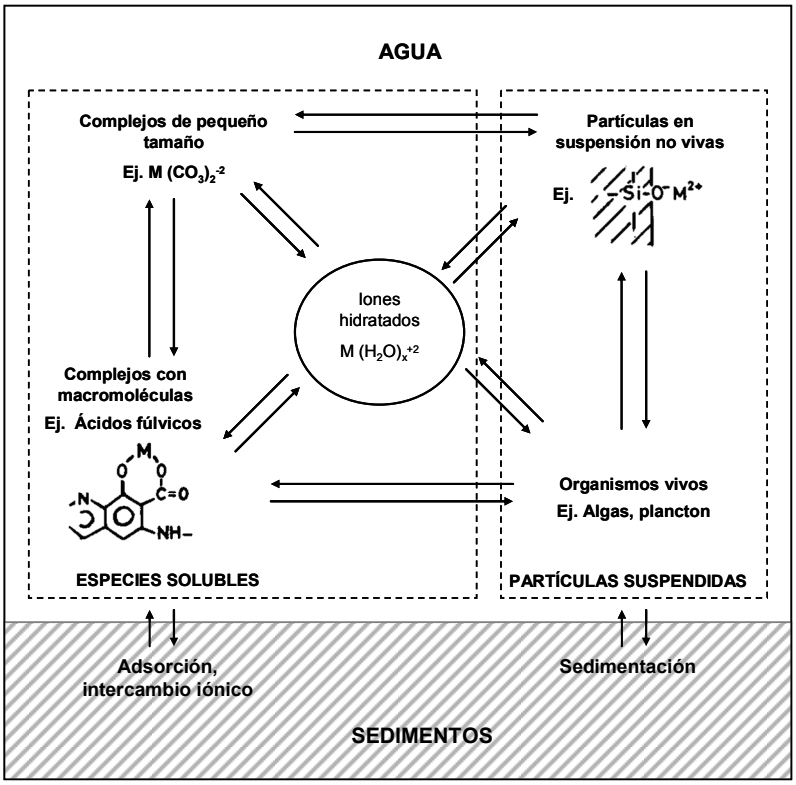

Figura 1- 3: Distribución de metales en ecosistemas acuáticos.

Se considera que se alcanza un estado estacionario en el medio acuático cuando los flujos de entrada y salida del metal se equilibran. Esto hace que los sedimentos sean importantes en el ciclo del metal.

La capacidad de movilización del metal en los sedimentos y su movilidad en el agua (Buffle, J. y col. 1988) son factores adicionales en la valoración del impacto medioambiental, de ahí la importancia del análisis de este tipo de muestras (Baudo, R. y col. 1990; Stumm, W. 1987).

4. Geoquímica y composición de los sedimentos marinos

Las concentraciones de metal en suelos y sedimentos tienden a ser función del tamaño de partícula del sedimento, y son máximas en las fracciones de tamaño de partícula pequeñas (< 63 µm). En las arenas y en los sedimentos esta concentración decrece si prevalecen los componentes de cuarzo en la matriz. En general, con el

aumento del tamaño de partícula aparece un decrecimiento proporcional de la concentración metálica.

Los procedimientos de separación física de las fracciones de distinto tamaño implican una etapa de tamizado, sedimentación por gravedad usando líquidos con gradiente de densidad, o bien con algún proceso de centrifugación diferencial. Estos métodos de separación suelen complementarse con análisis instrumentales complejos como los empleados en las técnicas SEM/EDX, TEM, PIXE, XAFS, XANES, SXRFM. Con estas técnicas es incluso posible la especiación en muestras sólidas de Cr(III) (configuración electrónica $3d^3$ y simetría octaédrica) y Cr(VI) (configuración electrónica $3d^0$ y simetría tetraédrica) mediante XANES (Ure, A. M. y Davidson, C. M. 2001).

Para el estudio del sedimento es importante el régimen, tamaño, clase de partículas y constitución mineralógica. La sección de control debe estar perfectamente localizada y delimitada para poder determinar que puntos están relacionados con la disponibilidad de contaminantes con la mayor precisión posible.

Para obtener una fracción representativa es necesario el muestreo y posterior selección de las partículas de tamaño idóneo a partir de un tamizado. En nuestro caso, y como se justificará en capítulos posteriores, consideramos muestras representativas y homogéneas para un análisis metálico a aquellas con un tamaño de partícula < 63 µm.

En la mayoría de los suelos y sedimentos, al estudiar la fase sólida se observa un predominio de los componentes inorgánicos. Estos componentes proceden de los minerales que constituían la roca primaria. Además de los componentes mayoritarios se encuentran otros componentes situados en la superficie de los mismos que son cruciales en la interacción y reacción con el medio acuático y biológico que los rodea.

La naturaleza y papel de los componentes de los sedimentos puede ser muy diversa. Las fracciones más destacadas son: $Fe(OH)_3$ amorfo, óxidos de Fe y Mn, materia orgánica natural, sin olvidarse de una gran variedad de minerales procedentes de procesos erosivos de la roca madre fundamentalmente. Dentro de la fracción orgánica cabe destacar tanto los ácidos húmicos como los ácidos fúlvicos.

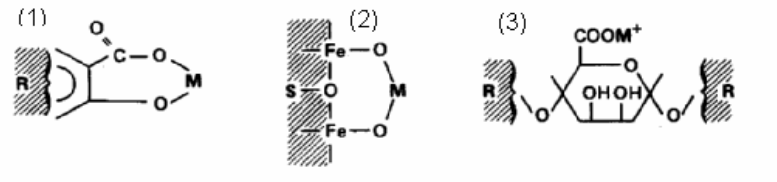

Figura 1- 4: Interacción metálica de distintas sustancias que podemos encontrar tanto en sedimento como en material coloidal.

En la Figura 1- 4 se representa la superficie de distintos sedimentos asociados a: (1) material húmico quelatante del metal M, (2) hidróxidos de Fe también como adsorbentes del mismo metal, e incluso (3) la asociación en el medio acuático de polisacáridos monodentados, entre otros compuestos orgánicos (Buffle, J. y col. 1988).

El material húmico es común en estuarios y sedimentos marinos de las costas, comprendiendo desde el 10% hasta el 68% del carbono orgánico sedimentado. En los estuarios, y con el incremento de la fuerza iónica, se favorece la agregación a partículas y formación de material coloidal. De ellos los ácidos húmicos tienden a cubrir las superficies de los sedimentos, mientras que los ácidos fúlvicos son más solubles en la fase acuosa (Stumm, W. 1987) dado que presentan menor peso molecular y un mayor contenido en oxígeno y carboxilatos (ver Tabla 1- 2).

Tabla 1- 2: Composición de ácidos húmicos y fúlvicos en aguas.

	ÁCIDOS HÚMICOS	**ÁCIDOS FÚLVICOS**
PARÁMETRO	Rango	Rango
Composición elemental / %		
C	53.4-59.4	41.6-51.1
O	44.9	43.5-51.1
H	3.1-5.1	2.7-4.2
N	1.9-2.0	1.0-2.2
S		<0.2
Contenido de grupos funcionales / meq g^{-1}		
PARÁMETRO	Rango	Rango
-COOH	4.5-5-9	6.5-10.7
OH fenólicos	2.2-3.7	1.0-4.7
C=O cetonas	4,3-5,1	4,3-7,4

En general estos ácidos se consideran macromoléculas complejas de composición variable (Buffle, J. y col. 1988; Decho, A. W. y Luoma, S. N. 1994; Leenheer, J. A. y col. 1995).

Tanto los AH como los AF poseen estructuras flexibles sujetas entre ellas bajo interacciones inter- e intramoleculares de pequeña energía, y además están enlazadas a óxidos de Fe(III) y Mn(IV) de sedimentos siempre que las condiciones no sean anóxicas.

En función de los grupos funcionales y propiedades fisicoquímicas se elaboraron distintos modelos para explicar la capacidad de complejación de estos compuestos. Todos los modelos coinciden en las ideas de flexibilidad, moléculas de estructura tridimensional de gran tamaño con cadenas alifáticas, alta aromaticidad, un gran número de puntos de complejación, la posibilidad de agregación inter- e intramolecular y una naturaleza altamente electrolítica (Jickells, T. D. y Rae, J. E. 1997; Stumm, W. 1987).

Dado que el material húmico forma parte tanto de los sedimentos, material coloidal como el medio acuático, va a ser un componente de importancia en el ciclo del metal. La interacción que se dará con el metal estará directamente ligada a la estructura de estas macromoléculas de tamaño variable y las condiciones de salinidad (Lores, E. M. y Pennock, J. R. 1998). Las especies de cromo implicadas en las reacciones de complejación serán fundamentalmente las de cromo trivalente (Fukushima, M. y col. 1995).

La salinidad puede afectar al enlace de cromo con los ácidos húmicos y fúlvicos, pudiendo influir de algún modo en la biodisponibilidad. Las condiciones medioambientales determinarán estas complejaciones, dado que el metal se introduce en el estuario por fuentes antropogénicas y no es un constituyente mayoritario natural del medio. Estudios experimentales, como los de B. M. Petronio, relativos a la distribución de metales (Cu, Pb, Cd, Zn ,Fe, Cr, Ni, Co, Mn y Al) asociados con sustancias húmicas en muestras de sedimentos marinos destacan estas fracciones orgánicas como eslabones de importancia en los ciclos biogeoquímicos (Petronio, B. M. y col. 1993).

Tanto cambios de pH, como de fuerza iónica influirán en la quelatación y liberación del metal asociado a las sustancias húmicas por medio de sus numerosos y variados grupos funcionales, constituyendo la materia orgánica libre, sedimentada o coloidal.

Estos metales complejados cuando pasan de zonas de río a tramos de estuario o al mar pueden liberarse con el cambio de pH y de salinidad de las aguas (Lores, E. M. y Pennock, J. R. 1998).

En el capítulo dedicado a la extracción secuencial de BCR se mostrarán valores de cromo extraído en la fase orgánica de los sedimentos de Arousa sensiblemente superiores al resto de fracciones extraídas (cromo intercambiable y cromo asociado a óxidos e hidróxidos de Fe y Mn). Esto indica que esta fracción es importante para el cromo, superando incluso su contenido en algunos casos al encontrado en la fracción residual.

5. Biodisponibilidad

En general las reacciones de adsorción de los sedimentos (ver Tabla 1- 3) afectan a tres procesos importantes dentro de la química acuática: (i) la distribución de sus elementos entre la fase acuosa y la materia particulada, que afecta a su transporte en la hidrosfera, (ii) a las propiedades electrostáticas de las partículas suspendidas, que afectan a su agregación y transporte y (iii) a la reactividad de las superficies, incluyendo disolución, precipitación y reacciones de catálisis superficial de los solutos (Stumm, W. 1987).

Tabla 1- 3: Interacciones intermoleculares de importancia en la química acuática de superficies.

Reacciones químicas con superficies
Hidrólisis superficiales
Complejaciones superficiales
Intercambio de ligandos superficiales
Formación de enlaces de hidrógeno
Interacciones eléctricas en las superficies
Interacciones electrostáticas
Interacciones de polarización
Interacciones con disolventes
Interacciones hidrofóbicas e hidrofílicas.

Además, las reacciones abarcan mecanismos como: interacciones eléctricas y químicas intermoleculares, mecanismos de adsorción asociados a compuestos y superficies orgánicas, y mecanismos de adsorción asociados a superficies

inorgánicas. Las interacciones intermoleculares más destacadas en química acuática de superficies se recogen en la Tabla 1- 3. Algunos de estos procesos (Buffle, J. y col. 1988) pueden observarse en la Figura 1- 5.

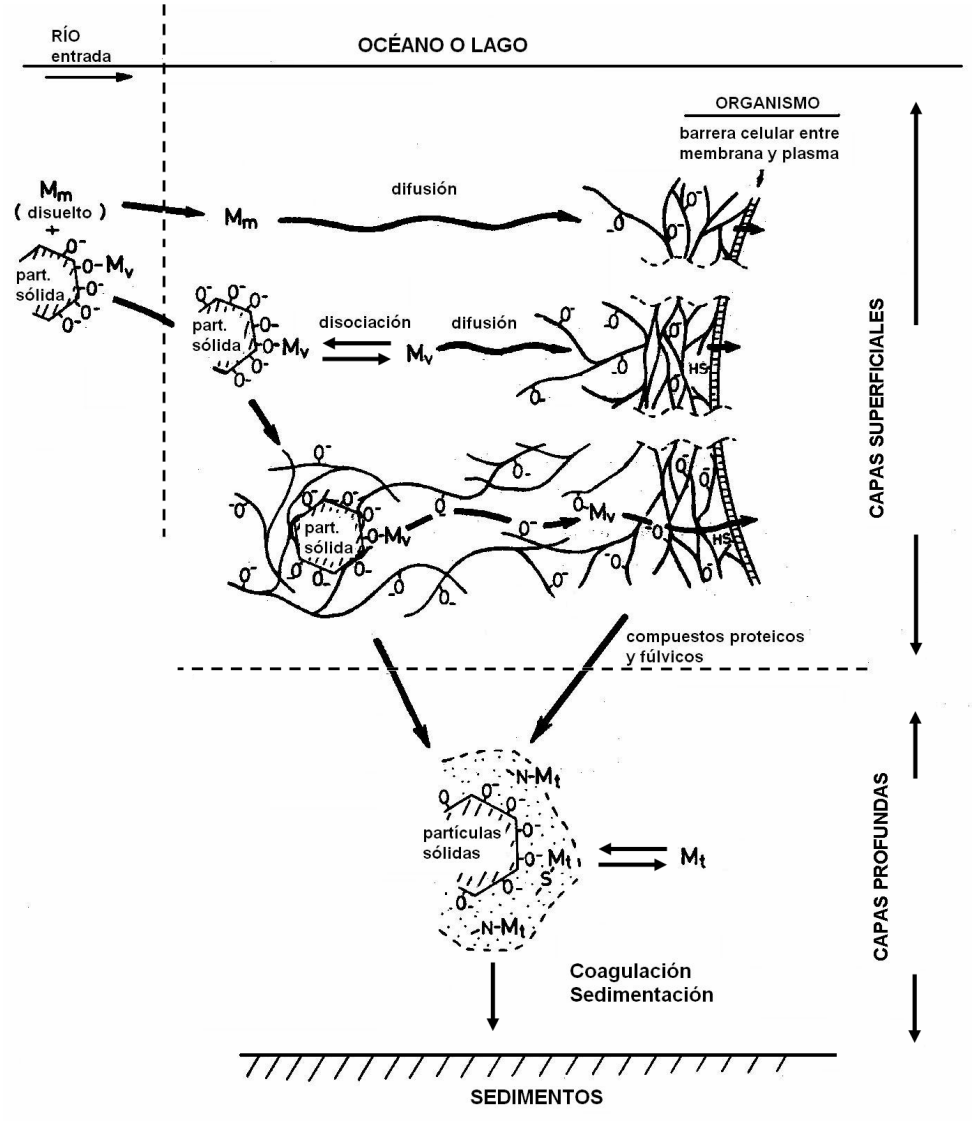

Figura 1- 5: Representación del papel que pueden desempeñar partículas inorgánicas en suspensiones y material orgánico como componentes fúlvicos en el ciclo de metales mayoritarios (M_m), vitales (M_v) y tóxicos (M_t).

La localización de los contaminantes asociados a los sedimentos se corresponde fundamentalmente a las interfases sedimento-agua. También es importante en los

sedimentos tanto mecanismos de floculación como velocidades de sedimentación, o el tipo de deposición (Kavanaugh, M. C. y Leckie, J. 1980; Olausson, E. y Cato, I. 1980), como se muestra en la Figura 1- 6.

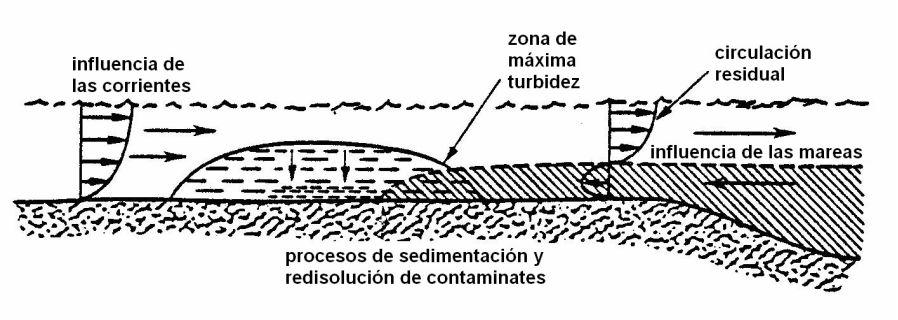

Figura 1- 6: Procesos de transporte de materia en un estuario teniendo en cuenta la influencia de distintos factores como las corrientes o las mareas.

Además de los fenómenos mencionados, en medios acuáticos, las distintas formas químicas de un elemento pueden tener un comportamiento físico, químico y biológico totalmente distinto. La naturaleza de los iones metálicos que se incorporan en compuestos presentes en la naturaleza juega un papel central en la determinación de la distribución y circulación del mismo en el medio ambiente. Por lo que es importante intentar conocer esa distribución así como los tiempos de residencia en cada estadio. El ciclo entre sedimento, agua y biota dependerán fundamentalmente de parámetros como el pH, salinidad del agua, procesos redox con sustancias presentes en el medio y reacciones con agentes complejantes.

Respecto a la biota, los iones metálicos están fuertemente asociados a procesos biológicos, siendo algunos esenciales. Todos los metales bajo ciertos niveles de concentración pueden ser tóxicos. La movilización antropogénica de ciertos metales tóxicos puede cambiar las condiciones naturales del medio y modificar su ciclo vital (Stumm, W. 1987).

Tras los comentarios realizados, se puede definir el concepto de biodisponibilidad en este ámbito. La **biodisponibilidad** de contaminantes asociados a sedimentos es la fracción total del contaminante en agua intersticial y en las partículas de sedimento que está disponible durante la bioacumulación. Se considera, asimismo, **bioacumulación** a la acumulación del contaminante a través de todas las rutas

disponibles para los organismos presentes. Estas rutas incluyen procesos como biotransformación y excreción.

Una medida simple del sedimento es insuficiente para definir la concentración del contaminante al que la biota está expuesta, pero es representativo en ciertos grados de estudio. Por tanto consideramos el examen de los sedimentos como una medida parcial de la exposición potencial en el ecosistema acuático.

En la bioacumulación de contaminantes procedentes de sedimentos influyen diferentes factores, destacando 3 grandes áreas:

- Características del contaminante.
- Composición y características del sedimento.
- Comportamiento y fisiología de los organismos.

En la contaminación costera los mejillones han sido usados como monitores biológicos. Con ellos se ha llegado a estudiar la eficiencia de asimilación de Cr(III) y de Cr(VI) tanto procedente del agua, como del fitoplancton y sedimentos ingeridos (partículas en suspensión). Las medidas realizadas en estos estudios han demostrado que el cromo se acumula en los mejillones principalmente por 2 fuentes: Cr(III) procedente de la materia particulada, y Cr(VI) disuelto en la fase acuosa (Wang, W. X. y col. 1997).

Se han llevado a cabo estudios similares en almejas, en donde además se ha tenido en cuenta la influencia de la biomasa de microalgas en la eficiencia de absorción de cromo, entre otros metales (Lee, B. G. y Luoma, S. N. 1998).

En las algas verdes también se ha examinado la variación de concentración de cromo, encontrando que estas variaciones de metal dependían del medioambiente en el que se encontraban. La bioacumulación difería en función de la localización, de factores fisicoquímicos como pH, temperatura, salinidad, luz y exposición al oleaje del mar. En ese mismo estudio se encontraron variaciones estacionales del metal dependientes del crecimiento dinámico, la edad de los tejidos, y en función de la concentración del metal al que estaban expuestas en el agua (Haritonidis, S. y Malea, P. 1995).

También, dado que podríamos considerar que los sedimentos son un sumidero de cromo, la bioacumulación en los bivalvos se encuentra condicionada por la materia orgánica que cubre a los sedimentos (ácidos húmicos y fúlvicos fundamentalmente y

entre otros). El material húmico es común en sedimentos de estuarios y costas, y la ingestión de estos materiales por la biota puede representar una fuente de exposición a metales con los que se encuentran complejados.

Decho investigó la eficiencia de asimilación en dos almejas (Macoma balthica, Potamocorbula amurensis) y seleccionó el cromo porque es un contaminante común en estuarios. En sus conclusiones recoge que los ácidos fúlvicos tienen menor afinidad por cualquiera de las partículas utilizadas en el experimento (partículas de sílice o partículas cubiertas con óxidos de Fe) que los fúlvicos, y en general las capas orgánicas de las partículas afectan a la adsorción de cromo en las estructuras silíceas de los sedimentos. No encontraron grandes diferencias en la adsorción con capas de ácidos húmicos o fúlvicos, y aunque trabajaron con concentraciones elevadas de metal nunca llegaron a saturar los ligandos de este material (Decho, A. W. y Luoma, S. N. 1994). Cuando las sustancias húmicas se asocian con distintas superficies minerales, el enlace de los grupos funcionales con la superficie (ver Figura 1- 7) puede diferir en la conformación estérica de la molécula, y esto hace que los ligandos puedan o no estar disponibles condicionando también la fortaleza de los enlaces con los metales presentes en el medio (Buffle, J. y col. 1988).

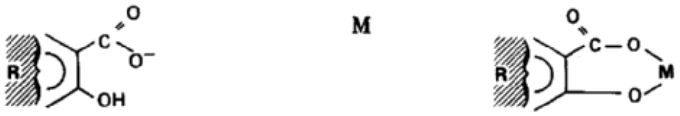

Figura 1- 7: Material húmico asociado a los sedimentos susceptible de coordinarse con cationes metálicos.

Para la materia viva se ha encontrado que la absorción de cromo es <11% y las diferencias de absorción incluyen: efectos de las distintas capas de los sedimentos, concentración del metal en el medio, proceso de digestión y efectos específicos de cada especie. Por tanto los sedimentos actúan como un eslabón nutricional, y la variabilidad en la biodisponibilidad de metales enlazados a partículas refleja la complejidad de las reacciones metálicas con sustancias húmicas (Decho, A. W. y Luoma, S. N. 1994).

6. Muestreo, almacenamiento y pretratamiento de muestras

Esta es la etapa analítica en donde más manipulación instrumental y química suele ser necesaria. En general para los metales, y especialmente en el caso del cromo, es importante ser consciente de las clases y grados de transformación química que pueden darse en los sedimentos mientras se están estudiando.

Los sedimentos frescos son reactivos debido a su contenido degradable de materia orgánica que puede transformarlos rápidamente en anóxicos si los cerramos en un recipiente de muestreo a temperatura ambiente. Por esta causa y por otras se pueden originar cambios en los equilibrios biogeoquímicos.

Muchas de las técnicas analíticas emplean métodos preparativos que alteran la especiación química de los componentes inorgánicos además de favorecer pérdidas de analito antes del análisis. Dentro de estos procedimientos surgen problemas por congelación, liofilizado, evaporación, oxidación, cambios o ajustes en el pH, reacciones catalizadas por la luz, reacciones con los contenedores de muestra, demoras excesivas antes de los análisis de muestras biológicas activas, etc. (Ure, A. M. y Davidson, C. M. 2001).

Durante el muestreo y la preparación se deben evitar cambios de las condiciones medioambientales, y si queremos estudiar esos cambios se deben llevar a cabo experimentos diseñados cuidadosamente.

Los depósitos de sedimento son heterogéneos y su composición varía en las diferentes capas sedimentadas. De ellas, la fina capa de sedimento superficial controla el intercambio de elementos traza entre el sedimento y la columna de agua en contacto, proporcionando información sobre los contaminantes a los que se expone potencialmente la biosfera de esos ambientes (Olausson, E. y Cato, I. 1980).

El tipo de secado causa grandes cambios tanto en sedimentos óxicos como anóxicos. De hecho el secado de sedimentos óxicos en horno reduce la cantidad de Fe extraíble en métodos que liberan los óxidos amorfos de Fe (ácido acético, hidroxilamina) ya que aumenta la cristalinidad de dichos óxidos. Con este secado se generan cambios en la capacidad extractiva especialmente en las capas de óxidos de Fe y Mn y en la capa orgánica, y disminuye la fracción de metal intercambiable y

asociada a carbonatos por el efecto del oxígeno gaseoso. Para minimizar estas pérdidas se aconseja un secado mejor por exposición al aire o, aún mejor, el secado por congelación (liofilizado). Las muestras, una vez secas, son estables durante años (Ure, A. M. y Davidson, C. M. 2001).

El almacenamiento seco de sedimentos a temperatura ambiente es inapropiado dado que la población microbiana puede inducir cambios en las propiedades de los sedimentos almacenados, pasando a ser de oxidantes a reductoras. La refrigeración retrasa o inhibe estos efectos, pero la congelación suele ser un método útil para minimizar la actividad microbiana dado que mata estos biocomponentes. Consecuente a esta lisis celular se provoca una liberación de fluidos orgánicos junto con complejos metálicos traza. El congelado aumenta la solubilidad de los metales en agua afectando a su extracción con agentes suaves (máximo en Mn 8-17%) (Ure, A. M. y Davidson, C. M. 2001). Sin embargo el almacenamiento de sedimentos anóxicos por congelación no causa estos problemas de fraccionamiento de metales ni los cambios anteriores citados. Es recomendable el uso de recipientes plásticos inertes, e incluso en algunos casos contenidos en otros recipientes de vidrio bajo atmósfera de argón. En general no se puede evitar mínimos cambios en las muestras cuando interesa la especiación de elementos traza y lo ideal es analizar de inmediato las muestras tras su recolección.

Algunos autores intentaron correlacionar la heterogeneidad de este tipo de muestras mediante el tamizado. Esta correlación considera el tamaño de partícula o el tipo de superficie y el tipo de análisis extractivo. Las capas de óxidos amorfos afectan al área superficial de sedimento y en los niveles de metales traza. Las capas orgánicas, las de carbonatos o de hidróxidos también son importantes adsorbentes geoquímicos (Ure, A. M. y Davidson, C. M. 2001).

RÍA DE AROUSA

1. Rías Baixas: situación y características generales

Las Rías Baixas son cuatro bahías de geometría alargada que se adentran en la costa oeste gallega (Noroeste de España) con orientación en dirección sudoeste-nordeste. De norte a sur nos encontramos con la Ría de 'Muros e Noia', la Ría de Arousa, la Ría de Pontevedra y la Ría de Vigo. De ellas, la Ría de Arousa es la más larga (Otto, L. 1975).

La profundidad de las rías varía desde unos 50-60 metros en las zonas más externas a 5-10 metros en las bocas, próximas al límite fluvial. A excepción de la Ría de 'Muros e Noia', todas estas bahías presentan islas rocosas en su entrada que actúan de escudo de protección ante la acción del Océano Atlántico (Vilas, F. y col. 2005).

2. Ría de Arousa: situación y características generales

La Ría de Arousa, no solo es la más larga de las Rías Baixas, si no que es la que presenta una geografía más irregular. Abarca una superficie de 230 km^2, y su longitud desde la isla de Sálvora en la entrada de la boca del estuario hasta el río Ulla es de 25 km. Su canal principal mide unos 3 km de largo y se observa fácilmente en la representación batimétrica realizada de la ría para este trabajo (ver Figura 1- 8). La topografía compleja de Arousa incluye cuatro islas principales (Sálvora, Arousa, Cortegada y A Toxa), una gran cantidad de islas de menor tamaño, rocas y varias ensenadas secundarias (Otto, L. 1975). La zona más profunda de la ría, como se indica más adelante en este trabajo, alcanza casi los 70 metros.

La definición lo más exacta posible de la zona costera muestreada en este trabajo ha sido el punto de partida del estudio medioambiental realizado. Además de la situación y características mencionadas de Arousa, se ha clasificado al estuario atendiendo a las distintas definiciones consultadas.

A este respecto, Pritchard define genéricamente estuario como una 'columna de agua semi-cerrada, con una conexión libre con el mar abierto y en donde el agua de mar se diluye con el agua dulce procedente del drenaje de la zona terrestre' (Elliott, M. y McLusky, D. S. 2002; Olausson, E. y Cato, I. 1980). Esta es una definición

simplificada válida para nuestra área de investigación de cromo descrita, la Ría de Arousa, cuyas características batimétricas se representan a continuación en la Figura 1- 8.

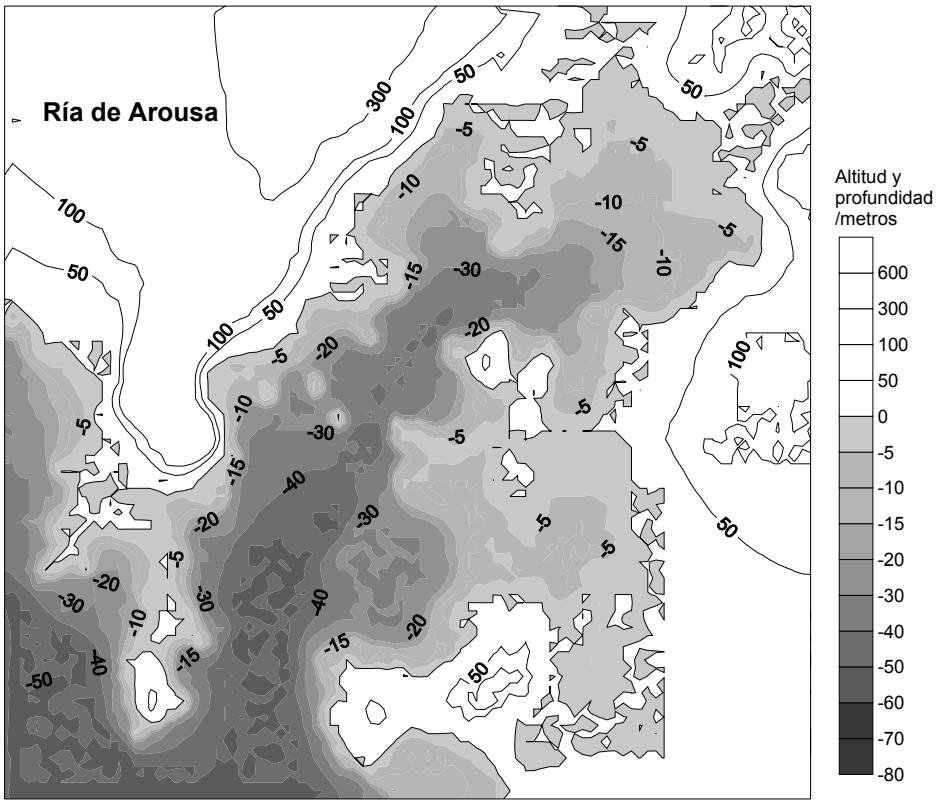

Figura 1- 8: Líneas batimétricas principales de la Ría de Arousa.

Se pueden apreciar en la Figura 1- 8 las pequeñas diferencias en profundidad a lo largo de la zona muestreada de Arousa. Estas diferencias caracterizan de forma más específica a la ría, junto con otras características que se enumeran a continuación (Otto, L. 1975):

- Movimiento de mareas con mezclado de agua horizontalmente y verticalmente, es decir, con mezclado parcial de la columna de agua.
- Procesos de afloramiento de aguas frías ricas en nutrientes en la zona interna de la ría.

- Períodos de acumulación de nutrientes en donde se incrementa la producción de materia orgánica.
- Régimen salino estuárico positivo. Es decir, la salinidad aumenta conforme nos acercamos al Océano Atlántico.

La definición de Pritchard de un estuario no había tenido en cuenta el efecto de las mareas. Este y otros factores adicionales fueron introducidos posteriormente en la redefinición y clasificación de los distintos tipos de estuarios atendiendo a factores físicos, químicos, geográficos, biológicos y socioeconómicos (Elliott, M. y McLusky, D. S. 2002).

2.1. Corrientes marinas y fenómenos de afloramiento

Se han empleado muchos modelos para describir la circulación de agua estuárica en las rías gallegas (de Castro, M. y col. 2004; Taboada, J. J. y col. 1998; Uncles, R. J. 2002). Conocer con detalle este tipo de circulación puede explicar el tipo de distribución y transporte de los contaminantes que llegan a las rías. En particular, Otto en 1975 ya había descrito este tipo de circulación de agua y los fenómenos de afloramiento en la Ría de Arousa (Otto, L. 1975). Posteriormente, y en función de propiedades termohalinas (temperatura y salinidad) se estudió en detalle la circulación residual de la ría aplicando un modelo matemático en donde consideran la descarga fluvial y el intercambio de calor entre las capas superficiales de agua y la atmósfera (Roson, G. y col. 1997). Un punto interesante de este trabajo es el conocer la circulación en el estuario como ayuda en la investigación de la distribución de contaminantes a lo largo del mismo.

Las principales corrientes de entrada y salida de la ría junto con los principales puntos de afloramiento de aguas frías ricas en nutrientes se representan el la Figura 1- 9.

El afloramiento de aguas profundas en las rías gallegas procedentes del Atlántico Norte (Álvarez Salgado, X. A. y col. 2000) es un fenómeno que se ve propiciado por vientos de componente norte durante verano y otoño. Estas aguas profundas, que viajan de norte a sur hacia África, son ricas en nutrientes, entran en Arousa siguiendo las corrientes de la ría descritas en la Figura 1- 9, y afloran en los puntos señalados de su interior.

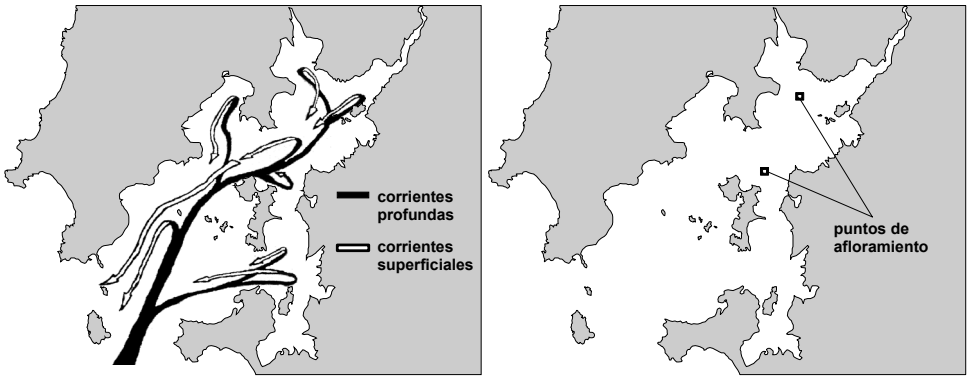

Figura 1- 9: Corrientes profundas y superficiales de la Ría de Arousa y puntos principales de afloramiento.

2.2. Riqueza y producción acuícola

La geometría, las corrientes y la entrada en la ría de aguas frías ricas en nutrientes como fosfatos, nitratos y carbonatos debida a fenómenos de afloramiento (Pérez, F. F. y col. 2000) hacen que el estuario represente un área de alta productividad biológica (Figueiras, F. G. y col. 2002). Esto ha favorecido el desarrollo en el estuario de importantes explotaciones intensivas y extensivas de diferentes especies de bivalvos (ej. 2472 bateas de mejillones en uso actual distribuidas a lo largo de la ría).

2.3. Agua, sedimentos superficiales y biota

Dionne en 1963 y Pritchard en 1967 (Olausson, E. y Cato, I. 1980) realizaron descripciones similares de la enmarcación de los distintos sedimentos que podemos encontrar en un estuario. Estos límites reflejan la influencia de las mareas, el arrastre de sedimentos debidos al caudal del río, y los valores máximos y mínimos de salinidad que suele presentar un estuario.

En los sedimentos es variable la composición de la materia orgánica, los óxidos metálicos y su constitución mineralógica. Además, las zonas estuáricas están sometidas a distintas fuerzas iónicas (salinidad), pH, corrientes y aporte de nuevos materiales sedimentados de distinta procedencia (Olausson, E. y Cato, I. 1980).

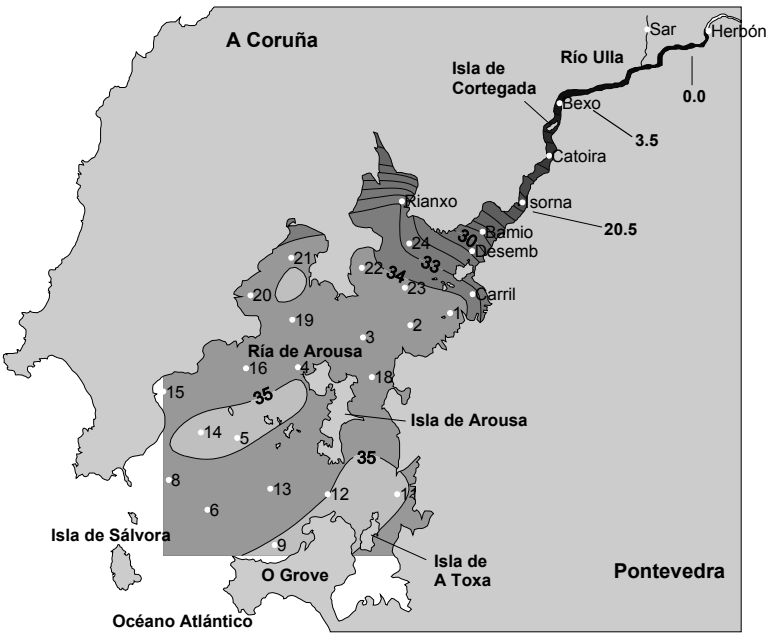

Figura 1- 10: Variación de la salinidad del agua más profunda a lo largo de las estaciones muestreadas en la cuarta campaña de Arousa.

La salinidad varía con el aporte de agua fluvial, el efecto de las lluvias, la etapa en que se encuentren las corrientes y el mezclado del agua. Por ello no es un parámetro constante pero sí orientativo del límite fluvial y de influencia del mezclado de aguas. La salinidad, el límite de influencia de las mareas y el aporte de materia procedente de la zona fluvial son información suplementaria a cada punto de toma de muestra de sedimento en Arousa (Figura 1- 10). Esta información es específica de cada campaña y define las condiciones en que se tomaron las muestras de sedimento superficial, dado que se encuentran en contacto con la columna de agua.

2.4. Cromo en la Ría de Arousa

En general, se ha demostrado que los sedimentos de los estuarios actúan como vertederos de contaminantes (Ridgway, J. y Shimmield, G. 2002). Muchos de los estuarios gallegos han sido investigados por el interés en su contenido de cromo (Cobelo García, A. y Prego, R. 2003; Evans, G. y col. 2003; Rubio, B. y col. 2000; Villares, R. y col. 2005). En algunas de las investigaciones de cromo en sedimentos

de Arousa se detectaban unas elevadas concentraciones respecto a los niveles metálicos de fondo (Carballeira, A. y col. 1997).

Comparar el contenido metálico de diferentes muestras de sedimento presenta un problema fundamental, y es que las concentraciones metálicas pueden verse afectadas por varias características del sedimento tales como las capas de óxidos o el potencial redox. Estas características son clave en la biodisponibilidad del metal en los sedimentos del estuario (Turner, A. y Olsen, Y. S. 2000). El interés en la toxicidad, disponibilidad e integración de una calidad ambiental en un medio tan complejo como un estuario se puede apreciar en las correlaciones de agua de mar, sedimentos y mejillones publicadas (Beiras, R. y col. 2003; Griscom, S. B. y Fisher, N. S. 2004).

Nuestras investigaciones se han enfocado al estudio del contenido de cromo en sedimentos marinos de Arousa a lo largo de todo el estuario para estimar el área de máxima concentración, su distribución metálica en los sedimentos de toda la ría y la evolución del contenido metálico con el tiempo en las muestras de sedimento superficial recolectadas.

DETERMINACIÓN ESPECTROSCÓPICA DE CROMO

El nacimiento de la espectroscopia de absorción atómica moderna corresponde al año 1955 con los trabajos de autores independientes como Walsh, Alkemade y Milatz recomendando ya la aplicación de AAS como procedimiento analítico de determinación (Welz, B. y Sperling, M. R. 1999).

Sin lugar a duda, la espectroscopía atómica abarca una amplia clasificación de técnicas analíticas que dependen de la interpretación de sus espectros atómicos, y se basa en la absorción, emisión o fluorescencia de átomos o iones elementales. Los espectros atómicos se obtienen tras un tratamiento térmico de la muestra para producir átomos o iones gaseosos (proceso de atomización) y los mecanismos difieren en función de la técnica espectroscópica empleada. Los espectros atómicos obtenidos son útiles para la determinación cualitativa y cuantitativa de uno o varios analitos presentes en la muestra analizada. En particular la absorción atómica se usa con mucha frecuencia con elementos metálicos, especialmente para detección de niveles traza.

Aunque la naturaleza cuantizada de los niveles de energía que aporta un espectro atómico es la base de la espectroscopía atómica, no siempre es susceptible de interpretación teórica. Esta correlación entre espectros atómicos de un elemento y sus diagramas de niveles de energía puede llegar a ser muy compleja. Harvey en sus estudios de espectros de arco y chispa de átomos neutros y monoionizados para elucidar una correlación experimental entre espectros y niveles de energía encontró para el cromo 2277 líneas (Harvey, C. E. 1950).

Sin embargo, cuando es posible la selección de la línea adecuada del elemento a analizar, la relación entre la distancia de paso de radiación, su concentración y la absorción de radiación puede cuantizar la cantidad de metal presente (ley de Lambert-Beer $A=\varepsilon bC$, donde ε es el coeficiente de absorción molar expresada en mol^{-1} l cm^{-1}, b el paso óptico de radiación en cm y C la concentración molar).

Para que se pueda efectuar la absorción de energía radiante por los átomos durante el análisis es necesario que exista una abundante población en estado fundamental y que la radiación característica del elemento que se quiere medir atraviese dicha

población. Todo este proceso se consigue con la ayuda de sistemas adecuados de atomización, excitación y detección (Aller, A. J. 1987).

En el caso del cromo es común el análisis por espectroscopía de absorción atómica usando tanto atomización electrotérmica (ETAAS) como atomización por llama (FAAS) (Quevauviller, P. y col. 1995). La elección de cualquiera de las técnicas vendrá condicionada por la sensibilidad necesaria para el análisis del elemento en las muestras y las características de dichas muestras. Así por ejemplo algunos trabajos publicados utilizan FAAS para el análisis de sedimentos de río (Thomas, R. P. y col. 1994), y en otros casos la técnica no es lo suficientemente sensible para el metal y necesitan la sensibilidad de GFAAS (Belazi, A. U. y col. 1995).

1. Llamas y quemadores

La historia de la espectroscopía atómica ha estado íntimamente relacionada con el desarrollo de quemadores y llamas. Inicialmente un grupo de espectroscopistas y analistas de espectrometría de emisión de llama se decantaron por la inyección directa de muestra en llama aplicando un quemador de consumo total. Este dispositivo era simple, barato, seguro y en él se podían usar todo tipo de mezclas de gases. El problema fundamental era que en este quemador los gases que constituyen la llama y la muestra en forma de aerosol no se premezclaban y la llama resultante era turbulenta. Con un quemador de premezcla se obtuvieron llamas transparentes, estrechas, de configuración laminar y con una estructura de concentración de átomos por zonas correctamente definida (Rann, C. S. y Hambly, A. N. 1965) (ver Figura 1- 11:).

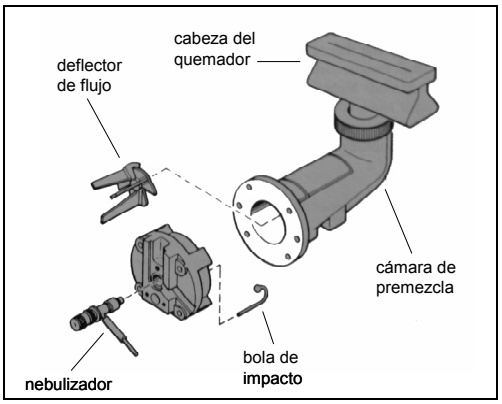

Figura 1- 11: Quemador laminar de premezcla empleado en los análisis de especiación de cromo realizados en este trabajo por FAAS.

El estudio de temperaturas y distintos gases de combustión mejoraron y favorecieron el análisis cada vez más específico de analitos. El desarrollo de la técnica de FAAS ha sido complementada con el uso de tubos atrapa-átomos (STAT: slotted tube atom trap) o la inserción de botes con muestra directamente en las llamas (Welz, B. y Sperling, M. R. 1999).

En definitiva, el cromo puede determinarse por esta técnica o bien en llamas de aire-acetileno ricas en fuel o bien en llamas de óxido nitroso-acetileno (Quevauviller, P. y col. 1995). El dispositivo de atomización más empleado para este análisis es un quemador laminar con cámara de premezcla. La llama de aire-acetileno es la que mayor sensibilidad presenta, pero al mismo tiempo puede ser más susceptible de sufrir interferencias (Welz, B. y Sperling, M. R. 1999). Por otro lado, y como se ha comprobado experimentalmente al realizar la especiación de cromo, bajo una llama aire-acetileno rica en fuel las especies hexavalente y trivalente de este metal no presentan idéntica sensibilidad (Quevauviller, P. y col. 1995). La volatilización de una sustancia en una llama está controlada por el diámetro de partícula de dicha sustancia, por lo que también depende del diámetro de la gota nebulizada, está controlada asimismo por las reacciones químicas que sufre durante la volatilización (precipitación, deshidratación, descomposición térmica de sales, formación del analito con concomitantes de nuevas fases térmicamente estables o reacciones heterogéneas de superficie con gases de la llama entre las que se encuentran distintas reducciones o formación de carburos).

Para eliminar interferencias se han empleado distintos compuestos como cloruro amónico (Barnes, L. 1966), tiocianato potásico, persulfato potásico (Welz, B. y Sperling, M. R. 1999) o fluoruro amónico solo o junto con sulfato sódico (Hurlbut, J. A. y Chriswel, C. D. 1971). Estos efectos se eliminan fácilmente con una llama de óxido nitroso-acetileno. En esta última llama ambas especies de cromo presentan una misma sensibilidad, aunque inferior a la de una llama aire-acetileno.

La longitud de onda más empleada en las determinaciones de cromo es 357.9 nm. En general las líneas analíticas de cromo más sensibles se muestran en la Tabla 1- 4 (Welz, B. y Sperling, M. R. 1999).

Tabla 1- 4: Líneas de resonancia más sensibles de cromo.

Longitud de onda / nm	Nivel de energía / K	Rendija / nm	Concentración característica / mg l^{-1}
357.87	0-27935	**0.7**	0.04
359.35	0-27820	0.7	0.05
360.53	0-27729	0.7	0.07
425.44	0-23499	0.7	0.11
427.48	0-23386	0.7	0.14
428.97	0-23305	0.7	0.20

2. Atomización electrotérmica

Los estudios de atomizadores realizados por Boris L´Vov, Hans Massmann y Walter Slavin, entre otros, han sido fundamentales para el desarrollo de esta técnica. No en vano, L´Vov redescubrió la AAS usando un horno calentado eléctricamente como dispositivo de atomización y presentó los principios teóricos de la atomización electrotérmica en 1966. Estos principios fueron publicados más tarde en inglés, en 1970 (Welz, B. y Sperling, M. R. 1999). Basándose en los descubrimientos de L´Vov, Walter Slavin introdujo el concepto de 'Stabilized Temperature Platform Furnace' (STPF) (Schlemmer, G. 1996), es decir, horno con plataforma para estabilización de temperatura, alcanzando las condiciones ideales isotérmicas indicadas por L´Vov. Además de la 'plataforma L´Vov', Slavin incluyó los siguientes elementos en el concepto de STPF:

- Una velocidad de calentamiento del tubo rápida (1500-2000 ºC / s).
- Trabajo sin flujo de gas durante la atomización (stop flow).
- Registro de señales electrónicas rápidas para estar libres de distorsiones.
- Integración del área de pico de absorbancia.

La modificación química para reducir interferencias espectrales y no espectrales ha jugado un papel importante en el desarrollo del concepto de STPF. El uso de aditivos químicos para obtener una alteración controlada de las propiedades físicas y químicas de la muestra ha sido fundamental en muchos elementos para formar compuestos térmicamente estables de analito o para desestabilizar el resto de elementos de la matriz de muestra. De este modo se facilita la separación de concomitantes del analito antes de la atomización, se controlan las reacciones en la

fase condensada para evitar pérdidas de analito y se minimiza la influencia de concomitantes que no se hayan podido separar mediante unas condiciones de atomización óptimas (Welz, B. y Sperling, M. R. 1999).

En atomización electrotérmica ha tenido un gran impacto el uso de hornos de grafito. De ellos los dispositivos provistos de grafito pirolítico han demostrado una mayor sensibilidad para el cromo en muestras biológicas como orina, sangre y suero o muestras ambientales como agua, sedimentos o lodos (Quevauviller, P. y col. 1995).

La eficacia de atomización de las llamas no siempre es suficiente para el análisis por absorción atómica a pesar de ser una atomización reproducible, fiable, con sensibilidad, exactitud y precisión aceptables en el intervalo útil de longitud de onda entre 200 y 800 nm (ultravioleta-visible). En general, la atomización electrotérmica presenta algunas ventajas con respecto a la técnica de llama:

- El proceso de atomización es prácticamente independiente de las propiedades físicas de la disolución (viscosidad, tensión superficial y densidad).
- Se eliminan posibles interferencias por destrucción de la matriz.
- Se introducen volúmenes fijos de muestra de forma directa.
- Los átomos tienen elevados tiempos de residencia (105 veces superior a las llamas).
- La técnica permite el uso de un gas inerte y así aumentan las propiedades reductoras del carbono, facilitando la descomposición de óxidos metálicos con dificultades de atomización en la llama.
- Permite obtener límites de detección muy bajos.

En general las dos técnicas (FAAS y ETAAS) son complementarias. La atomización electrotérmica se emplea cuando la concentración de analito está próxima al límite de detección en la llama, dicha concentración es muy baja y sólo se dispone de un volumen pequeño de muestra. ETAAS es una técnica discontinua ampliamente estudiada y desarrollada con fines microanalíticos, de forma que la muestra se introduce totalmente y se volatiliza por efecto térmico. Existen distintas modalidades de montajes para la atomización de las muestras (Welz, B. y Sperling, M. R. 1999), entre las que se encuentran los tubos revestidos de grafito pirolítico (Bendicho, C. y de Loos Vollebregt, M. T. C. 1991) y carburos metálicos (Brennfleck, U. y col. 1996; Bulska, E. y Jedral, W. 1995; Bulska, E. y col. 1998), filamentos y electrodos de

grafito, tubos con plataforma L´Vov y hornos metálicos (Bendicho, C. y de Loos Vollebregt, M. T. C. 1991), entre otros.

Los dispositivos electrotérmicos de atomización más extendidos hoy en día son los hornos de grafito, que son tubos cilíndricos fabricados preferentemente con grafito pirolítico ya que es menos poroso y presenta menor tendencia a formar carburos. Dentro de los mismos existen variantes, como la propuesta por L´Vov, en las que se integra una plataforma debido al interés por trabajar en condiciones de atomización isotérmica (STPF). El uso de tubos de grafito pirolítico con plataforma L´Vov se recomiendan en la bibliografía para la determinación de cromo (Quevauviller, P. y col. 1995). Estas condiciones ya se han comentado en este capítulo. Este tipo de atomizador está recomendado para el análisis de cromo, y se muestra a continuación en la Figura 1- 12.

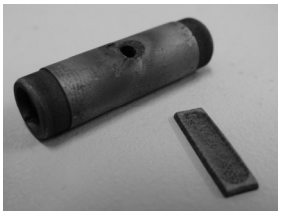

Figura 1- 12: Tubo de grafito pirolítico con plataforma L´Vov.

La atomización electrotérmica se efectúa mediante una serie de etapas delimitadas y claramente definidas en el tiempo. Son consecutivamente las siguientes:

- Secado (eliminación del disolvente).
- Mineralización (destrucción de la matriz).
- Atomización (formación de átomos libres). En la etapa de atomización se aplica una elevada temperatura con el fin de volatilizar, disociar y prever la condensación de sales de analito.
- Limpieza (eliminación de las últimas trazas de muestra antes del próximo análisis, evitando así efectos de memoria).

La temperatura aumenta al superar cada etapa, hasta el proceso de limpieza donde se debe usar la máxima temperatura posible para la eliminación total de la muestra analizada. Este aumento progresivo de temperatura durante las distintas etapas a las que se someten las muestras siguiendo este programa electrotérmico se recogen con

detalle en los capítulos experimentales en donde se ha aplicado la técnica de GFAAS.

En la atomización electrotérmica la muestra se introduce en el horno antes de la atomización. La absorción del vapor de átomos generado depende de la cantidad de analito presente dando una respuesta de absorción variable con el tiempo y que dura unos segundos. La forma de la señal en función del tiempo depende de las propiedades físicas y químicas de la muestra (cantidad, volatilidad), de la velocidad de calentamiento, y de la naturaleza fisicoquímica del instrumental (material del tubo, porosidad, reactividad, permeabilidad y densidad). La cuantificación de la señal se efectúa midiendo la altura o área de pico de la curva de absorción, y el valor de absorbancia depende del tiempo de atomización de la muestra y del tiempo de permanencia del vapor atómico dentro del volumen de absorción. Normalmente el tiempo de medida se amplía hasta que la señal atómica de absorción alcanza de nuevo el valor de la línea base.

3. Interferencias

En absorción atómica la señal analítica no siempre corresponde a la cantidad de elemento que se está midiendo. Interfieren y modifican las características analíticas del método (exactitud, precisión y sensibilidad) diversos factores que se pueden incluir dentro de las interferencias que se indican a continuación:

(1) Interferencias espectrales
(2) Interferencias de transporte
(3) Interferencias de distribución espacial
(4) Interferencias de volatilización de soluto
(5) Interferencias en la fase vapor

Respecto a las **interferencias espectrales** (1), son las más difíciles de detectar, y se deben a la superposición de líneas o bandas de absorción o de emisión tanto atómicas como moleculares. Pero los casos de solapamiento directo de una línea analítica emitida por la fuente de radiación con la línea de absorción de un concomitante se limitan a casos muy concretos y suelen ser las líneas de analito menos sensibles. Alguno de los pocos ejemplos para cromo que se puede encontrar es el solapamiento espectral de líneas entre los elementos de la Tabla 1- 5.

Tabla 1- 5: Posibles interferencias espectrales para cromo tanto en FAAS como en GFAAS.

Interferencia espectral debida a solapamiento directo de líneas (Aller, A. J. 1987)			
Analito	**Longitud de onda / nm**	**Interferente**	**Longitud de onda / nm**
Cromo	λ = 359,349 nm	Mercurio	λ = 359,348 nm
Cromo	λ = 359,349 nm	Neón	λ = 359,352 nm
Interferencia espectral potencial debida a una sobrecompensación de una fuente continua de corrección de fondo (Welz, B. y Sperling, M. R. 1999)			
Analito	**Longitud de onda / nm**	**Interferente**	**Longitud de onda / nm**
Cromo	λ = 357,9 nm	Hierro	358.1
		Niobio	358.0

En FAAS si trabajamos con un quemador de premezcla adecuado se consigue que la muestra nebulizada se volatilice completamente y se evitan así problemas de

dispersión de radiación debida a partículas presentes en la llama (Welz, B. y Sperling, M. R. 1999).

La atenuación de fondo observada en FAAS se atribuye mayoritariamente a la absorción molecular, no suele generar una interferencia espectral importante y en ella la banda de absorción molecular coincide con la línea analítica. Cuando esto sucede debido a la absorción de moléculas o radicales de una llama laminar de premezcla, esta interferencia se puede eliminar con un corrector de fondo continuo (Welz, B. y Sperling, M. R. 1999). Sin embargo en FAAS la corrección de fondo por efecto Zeeman presenta muchas desventajas y no se suele aplicar para eliminar estas interferencias. Esto es debido a las dimensiones del quemador (quemadores de unos 10 cm) y la energía que se necesitaría para la correcta magnetización de toda esa zona (Welz, B. y Sperling, M. R. 1999). En GFAAS también encontramos fenómenos de absorción de fondo y dispersión (se produce un falso aumento de la absorción debido al desvío de la luz incidente sin ser absorbida, o bien hay un componente extra de ruido en la señal de medida).

El proceso que mayor influencia tiene en la sensibilidad de FAAS es el transporte al atomizador de la disolución que se quiere medir. Las **interferencias de transporte** (2) dependen de la velocidad de aspiración del nebulizador y el rango de tamaños de las gotas generadas en el aerosol. Todo ello depende a su vez de las características físicas de la disolución a medir: densidad, viscosidad y tensión superficial. Estas interferencias no ocurren en GFAAS dado que no existe dispositivo nebulizador y se dispone una muestra discreta dentro de un atomizador protegido con un gas.

Las **interferencias de distribución espacial** (3) dependen del movimiento de partículas sólidas en el flujo de gases y su correspondiente distribución espacial de analito. Estos cambios en la distribución espacial son función de alteraciones de la cantidad de productos de combustión, cambios en el volumen de la llama, cambios en el flujo de la llama o a la dirección de flujo del analito dentro de la llama (Boss, C. B. y Hieftje, G. M. 1977).

Las **interferencias de volatilización de soluto** (4) son aquellas interferencias originadas por el cambio de la velocidad de volatilización de las partículas de aerosol causadas por la presencia o ausencia de concomitantes. Además de los procesos físicos que influyen en la volatilización del analito, pueden influir en la volatilización del soluto distintas reacciones químicas. Entre ellas se encuentran las siguientes:

- Formación de compuestos entre el analito y los concomitantes durante la desolvatación. Los compuestos con menor producto de solubilidad precipitan primero.
- Deshidratación de sales hidratadas.
- Descomposición térmica de sales.
- Reacciones entre el analito y los concomitantes que generan nuevas fases de estabilidad térmica distinta. Pertenecen a este grupo las reacciones de formación de compuestos poco volátiles con el analito, y en ellas se reduce la velocidad de atomización, originando resultados cuantitativos menores a los esperados. Esto en FAAS se suele resolver aumentando la temperatura de la llama, empleando agentes liberadores (reaccionan con los interferentes e impiden su interacción con el analito) o empleando agentes protectores (forman con el analito especies volátiles estables).
- Reacciones heterogéneas en la superficie de la partícula con los gases de la llama. Reacciones de reducción y formación de carburos.

En atomización electrotérmica ya no hablamos de interferencias originadas por el cambio de la velocidad de volatilización de las partículas de aerosol. Pero también nos encontramos con reacciones químicas interferentes similares. Se incluyen aquí efectos catalíticos, reacciones con el sistema atomizador (formación de carburos refractarios difíciles de atomizar) (Granadillo, V. A. y col. 1994) o reacciones con la matriz generando óxidos, sales o nuevos compuestos estables que no atomizan.

Este tipo de interferencias **químicas** son más comunes que las espectrales. Si se escogen las condiciones de trabajo adecuadas sus efectos pueden ser mínimos tanto en FAAS como en GFAAS. En GFAAS no es fácil distinguir entre las interferencias por volatilización de soluto y las interferencias en la fase gas. La mayoría de ellas se sitúan en la etapa de mineralización.

En FAAS muchos elementos forman óxidos a partir de los iones presentes en la disolución durante la etapa de secado. Como las llamas presentan temperaturas elevadas, estos óxidos pueden reaccionar con otros formando fases térmicamente más estables por lo que la volatilidad del analito se reduce notablemente. Este es el caso de las interferencias de aluminio, fosfato o silicio en la determinación de **elementos alcalinotérreos** en una llama aire-acetileno. Para combatir esta interferencia en la determinación de elementos alcalinotérreos se ha propuesto el uso

de liberadores, agentes complejantes o incluso surfactantes (Welz, B. y Sperling, M. R. 1999).

Cuando se observan interferencias en llamas reductoras, estas suelen derivar de la formación de carburos mixtos. Este es el caso del clásico ejemplo de interferencia del hierro en la determinación de cromo. La adición de cloruro amónico elimina esta interferencia al aumentar la volatilidad del cromo evitando así la formación de óxidos de cromo refractarios. La fuerte dependencia de esta interferencia con la estequiometría de la llama aire-acetileno hace que en la determinación de cromo se trabaje con llamas ricas en fuel para trabajar con una óptima sensibilidad (Welz, B. y Sperling, M. R. 1999).

Las **interferencias en la fase vapor** (5) que nos podemos encontrar son las interferencias de disociación y las de ionización térmica. En las primeras destacan las reacciones de disociación de óxidos e hidróxidos metálicos (Skoog, D. A. y Leary, J. J. 1997). Las segundas son debidas a la transferencia de carga de iones moleculares como $C_2H_3^+$ o H_3O^+ o a ionizaciones por colisión en la zona más reactiva de la llama. No se han encontrado referencias relativas a interferencias por ionización en dispositivos de GFAAS. Existen dos mecanismos conocidos para la supresión de las reacciones de ionización: bajar la temperatura de la llama (en el caso de metales alcalinos) y/o añadir un exceso de elemento fácilmente ionizable (cesio o potasio) para desplazar el equilibrio de ionización del analito (Welz, B. y Sperling, M. R. 1999).

Además de las interferencias descritas, para GFAAS también se deben mencionar las siguientes interferencias que se pueden clasificar como **físicas**:

- Volatilización incompleta.
- Efecto de la matriz (originada por las diferencias físicas entre la matriz y los patrones, influyendo en el número de átomos neutros disponibles para la absorción de la radiación de resonancia). Esto se combate con el uso de modificadores químicos.

En general los métodos de atomización electrotérmica poseen una buena sensibilidad y suelen estar libres de interferencias químicas, aunque puedan ser susceptibles de interferencias espectrales. En GFAAS pueden existir interferencias físicas al ocluirse el elemento en la matriz interferente (Aller, A. J. 1987). Trabajando en condiciones de STPF se puede conseguir en tubos calentados longitudinalmente una temperatura óptima de atomización de 2500 ºC y una masa característica de 3 pg. En FAAS la

concentración característica con una llama aire-acetileno rica en fuel que se puede alcanzar a 357.9 nm es de 0.04 mg l^{-1} (Welz, B. y Sperling, M. R. 1999).

4. Eliminación de interferencias

Las interferencias espectrales se eliminan en general usando un monocromador de buen poder de resolución, con la modulación adecuada y el uso de líneas de absorción recomendables. La corrección de las interferencias físicas puede realizarse por dilución de la muestra, emparejamiento de las propiedades físicas y composición de las muestras y patrones, empleo de técnicas de patrón interno o con el uso de técnicas de adición de patrón. Para la corrección de la dispersión o el fondo se pueden usar distintos correctores, entre los que se encuentra la lámpara de deuterio (zona ultravioleta), en donde dicha lámpara actúa como fuente de radiación continua que atraviesa la muestra alternativamente a la fuente de radiación excitatriz. Esta fuente de corrección continua tiene ciertas limitaciones que se comentarán en los siguientes apartados. En GFAAS el uso de una atmósfera inerte (Ar) (Quevauviller, P. y col. 1995) o reductora permite eliminar posibles interferencias químicas (Aller, A. J. 1987).

4.1. Corrección de fondo

La radiación que atraviesa un atomizador puede atenuarse no solo por absorción atómica. Existen otros efectos denominados comúnmente absorción de fondo o pérdida de radiación no específica. No existen técnicas que permitan medir exclusivamente la absorción atómica de una analito por lo que se mide la absorción total (específica y no específica) y se mide adicionalmente la atenuación de esta radiación que se descuenta de la primera (Welz, B. y Sperling, M. R. 1999).

Se han desarrollado diversos métodos para corregir esta atenuación de la radiación. Destacan por su aplicación los métodos de corrección con fuente continua, los basados en el efecto Zeeman y los que utilizan una fuente pulsante de alta intensidad (método Smith-Hietfje). Estos métodos de corrección se comentan a continuación.

4.1.1. Método de corrección con una fuente continua

Con este método se emplea una lámpara de deuterio como fuente de radiación continua de toda la región ultravioleta que pasa por el dispositivo de atomización. Su efectividad abarca de 190 nm a 330 nm. Fuera de este rango óptimo se debe emplear una lámpara de halógeno como corrector continuo. La radiación del corrector de fondo atraviesa la muestra alternativamente a la radiación de la lámpara de cátodo hueco o de descarga sin electrodos seleccionada para la cuantificación del analito (Skoog, D. A. y Leary, J. J. 1997).

La salida de una lámpara de deuterio en la región visible es suficientemente baja como para desaconsejarse este método de corrección para longitudes de onda superiores a 350 nm (Skoog, D. A. y Leary, J. J. 1997). Aún así, se siguen publicando trabajos empleando esta corrección para elementos como cromo (Quevauviller, P. y col. 1995). En la línea de resonancia de cromo, 357.9 nm, es fácilmente cuestionable el uso de lámparas de deuterio dado que la intensidad de emisión relativa es demasiado baja como para asegurar un balance de energía satisfactorio con una lámpara de cromo. De hecho la intensidad a longitudes de onda superiores a 350 nm decrece más de un 50 % (Carlosena, A. y col. 1998). Se han detectado cambios en el perfil de pico de atomización de cromo en los extractos y suspensiones estudiados en este trabajo trabajando con y sin lámpara de deuterio. Estas observaciones nos han llevado a trabajar con este tipo de corrector en GFAAS aún cuando su efectividad es justificadamente baja.

4.1.2. Corrección de fondo por efecto Zeeman

Existen fundamentalmente dos tipos de dispositivos de corrección de fondo por efecto Zeeman: aquellos que disponen de un imán permanente que rodea el sistema atomizador y aquellos en los que el imán rodea la fuente de radiación (lámpara de cátodo hueco). Los primeros son los dispositivos más comunes. Ambos dispositivos de corrección son análogos pero por razones de diseño ninguno de ellos se suele aplicar a FAAS si no mayoritariamente a GFAAS. Cuando el imán rodea el sistema atomizador se consiguen desdoblar los picos de absorción del analito en el sistema de atomización (horno de grafito) y cuando el imán rodea la fuente excitatriz se consiguen desdoblar los espectros de emisión de dicha fuente (lámpara de cátodo

hueco). Básicamente se proporciona una corrección análoga en ambos casos (Skoog, D. A. y Leary, J. J. 1997).

4.1.3. Método de corrección Smith-Hieftje

Este método se basa en fenómenos de autoinversión o autoabsorción. Este comportamiento es característico de lámparas de cátodo hueco cuando se someten a corrientes elevadas. Pero sólo se puede aplicar en aquellos elementos que muestran suficiente autoinversión (Skoog, D. A. y Leary, J. J. 1997).

Con este método se consigue producir una gran cantidad de átomos no excitados al aplicar una corriente elevada. Estas especies atómicas no excitadas son capaces de absorber energía emitida por los átomos excitados generando un mínimo en la longitud de onda del pico de absorción del analito (absorbancia de fondo). Operando alternativamente a bajas (absorbancia de analito) y altas intensidades de corriente (absorbancia de fondo) se consigue corregir la señal analítica. Las desventajas de esta técnica de corrección de fondo son varias, entre las que se encuentra una pérdida de sensibilidad respecto a los dispositivos Zeeman, una peor relación señal/ruido y una velocidad de disipación relativamente lenta de la línea de alta intensidad (Welz, B. y Sperling, M. R. 1999).

4.2. Técnicas analíticas en AAS

Al realizar un análisis basado en la absorción atómica de llama o electrotérmica se deben considerar ciertos aspectos prácticos como son la preparación de la muestra, la manipulación de patrones de calibrado, el uso de disolventes adecuados o la aplicación de adiciones estándar de muestras que puedan presentar interferencias químicas o espectrales debidas a la matriz (Skoog, D. A. y Leary, J. J. 1997). Nos hemos centrado aquí en dos aspectos fundamentales: la necesidad de modificación de matriz y la utilidad que presenta el análisis por adición estándar.

4.2.1. Modificación de matriz

En atomización electrotérmica uno de los mayores problemas es la volatilización simultánea del analito y la matriz. Para reducir o eliminar este comportamiento dominante de los concomitantes, variable en función del tipo de muestra, se acude a la técnica de modificación química (Welz, B. y Sperling, M. R. 1999). La adición de

ciertas sales inorgánicas o sustancias orgánicas a la muestra provocan cambios químicos durante las etapas de secado y mineralización (conocido como modificación de matriz). Los modificadores de matriz originan:

- Un descenso de la volatilidad del analito debido a la formación de sales de alto punto de fusión, óxidos y compuestos intermetálicos, permitiendo el uso de temperaturas de mineralización más elevadas para una eficiente destrucción de la matriz interferente.
- Aumento de la volatilidad de la matriz, eliminándose antes de la atomización del analito.

Lo ideal es que estos modificadores químicos sean térmicamente estables, presenten la suficiente pureza para aportar una señal de blanco lo más baja posible y que no reduzcan la vida del tubo de grafito. Los modificadores conocidos como universales por su aplicación son los nitratos de paladio y magnesio (Welz, B. y Sperling, M. R. 1999). Algunos ácidos minerales como perclórico, nítrico, o ácidos orgánicos como cítrico, histidina, láctico, ascórbico o AEDT han sido usados como modificadores de matriz (Aller, A. J. 1987). En nuestro caso, para la determinación de algunos metales de transición como el cromo está extendido el uso de $Mg(NO_3)_2$ para alcanzar altas temperaturas de mineralización y $Pd(NO_3)_2$ (Chakraborty, R. y col. 1995; Quevauviller, P. y col. 1995).

La atomización de cromo en grafito está influenciada por la formación de carburos, haluros y oxohaluros de cromo. Diversos autores estudiaron la estabilización térmica del metal con distintos modificadores.

Manzoori y col. estudiaron la aplicación de diversos modificadores en muestras acuosas con altas concentraciones salinas, tanto independientemente como combinados. Entre ellos están $Na_2MoO_4.2H_2O$, NH_4VO_3, $Na_2WO_4.2H_2O$, y $Pd(NO_3)_2$ (Manzoori, J. L. y Saleemi, A. 1994).

En agua de mar Broughriet y col. emplearon como modificadores $Mg(NO_3)_2.6H_2O$ combinado con una disolución nítrica de $Pd(NO_3)_2$ (Boughriet, A. y col. 1994).

En mejillones y leche en polvo se evaluaron como modificadores químicos Mg, como $Mg(NO_3)_2$, Pd, como $Pd(NO_3)_2$, NH_4NO_3, ácido ascórbico, y mezclas de estos compuestos para la determinación de cromo (Bruhn, C. G. y col. 1999).

En el caso de extractos de sedimentos, lodos o suelos, la determinación de cromo tanto en extractos ácidos como en los correspondientes a esquemas de extracción secuenciales también varía en la elección de modificadores de matriz. Para extractos con nítrico de muestras de suelos Carlosena y col. investigaron el programa de temperaturas más adecuado para la atomización electrotérmica, así como el uso de modificadores de matriz, corrección de fondo con lámpara de deuterio y el uso de plataforma L´Vov, concluyendo que era innecesario tanto el uso de corrector de fondo como modificadores pero recomendable la plataforma L´Vov (Carlosena, A. y col. 1998).

Chakraborty y col. realizaron un estudio comparativo para la determinación de cromo en sedimentos digeridos con diferentes modificadores entre los que se encuentran tanto $Pd(NO_3)_2$, $NaVO_3$ como $Pd(NO_3)_2$. (Chakraborty, R. y col. 1995). También concluyen que el metal se puede determinar con precisión sin el uso de modificadores de matriz, sin embargo en el programa electrotérmico sí emplean corrección de fondo con lámpara de deuterio.

La modificación química permanente de la superficie de grafito de los tubos también se ha estudiado para la determinación de cromo por ETAAS (Pyrzynska, K. 1995).

Pero trabajando en condiciones de STPF puede llegar a ser innecesario el uso de modificadores de matriz, salvo que se deseen alcanzar temperaturas elevadas. Slavin en una de sus publicaciones ha propuesto al nitrato de magnesio como modificador para cromo con el objeto de alcanzar temperaturas de mineralización de hasta 1650 ºC (Slavin, W. y col. 1982).

4.2.2. Método de adición estándar

El uso de métodos de adición estándar permite determinar la existencia de interferencias debidas a la matriz. En este caso se preparan las curvas de calibración mediante la adición de patrones de analito de concentración conocida a una cantidad de muestra fija. Por comparación de las rectas de calibrado (construida a partir de patrón) y adición (con muestra y patrón) puede determinarse si existen interferencias, para lo cual se comparan ambas rectas estadísticamente y se determina así la existencia de diferencias significativas.

Trabajos publicados describen métodos de determinación de cromo en digestiones con agua regia, y extractos con acético, cloruro de hidroxilamina y acetato amónico

de sedimentos marinos, investigando las especies constituyentes de las matrices extraídas (Belazi, A. U. y col. 1995; Thomas, R. P. y col. 1994). Para compensar efectos interferentes de la matriz y extractantes hacen uso de adiciones estándar, pero non en todos los extractos.

BIBLIOGRAFÍA

Allen, H. E. **1995**. Metal speciation and contamination of soil. Lewis Publishers.

Aller, A. J. **1987**. Espectroscopía de absorción atómica analítica. Universidad de León, Servicio de Publicaciones.

Alloway, B. J. **1990**. Heavy metals in soils. Blackie; Halsted Press.

Álvarez Salgado, X. A., J. Gago, B. M. Míguez, M. Gilcoto y F. F. Pérez. **2000**. Surface waters of the NW Iberian margin: Upwelling on the shelf versus outwelling of upwelled waters from the Rias Baixas. **Estuarine Coastal and Shelf Science** 51(6):821-837.

Baran, E. J. **1995**. Química bioinorgánica. Mc Graw Hill.

Barceloux, D. G. **1999**. Chromium. **Journal of Toxicology-Clinical Toxicology** 37(2):173-194.

Barnes, L. **1966**. Determination of chromium in low alloy steels by atomic absorption spectrometry. **Analytical Chemistry** 38(8):1083-1085.

Baudo, R., J. P. Giesy, H. Muntau y I. Ipolyi. **1990**. Sediments: chemistry and toxicity of in-place pollutants. Lewis Publishers.

Beiras, R., N. Fernández, J. Bellas, V. Besada, A. González Quijano y T. Nunes. **2003**. Integrative assessment of marine pollution in Galician estuaries using sediment chemistry, mussel bioaccumulation, and embryo-larval toxicity bioassays. **Chemosphere** 52(7):1209-1224.

Belazi, A. U., C. M. Davidson, G. E. Keating y D. Littlejohn. **1995**. Determination and speciation of heavy-metals in sediments from the Cumbrian Coast, New England, UK. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 10(3):233-240.

Bendicho, C. y M. T. C. de Loos Vollebregt. **1991**. Solid sampling in electrothermal atomic-absorption spectrometry using commercial atomizers - a review. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 6(5):353-374.

BOE. **1998**. INSTRUMENTO de Ratificación del Convenio para la Protección del Medio Ambiente Marino del Atlántico del Nordeste, hecho en París, 22 de septiembre de 1992.

Boss, C. B. y G. M. Hieftje. **1977**. Calculation of velocity of a desolvating aerosol droplet in an analytical flame. **Analytical Chemistry** 49(13):2112-2114.

Boughriet, A., L. Deram y M. Wartel. **1994**. Determination of dissolved chromium(III) and chromium(VI) in sea-water by electrothermal atomic-absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 9(10):1135-1142.

Brennfleck, U., G. MullerVogt y W. Wendl. **1996**. Stabilization of the oxide forming elements, lead, thallium and tin in graphite tubes for graphite furnace atomic absorption spectrometry by intercalation. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy** 51(9-10):1139-1145.

Bruhn, C. G., J. Y. Neira, M. I. Guzman, M. M. Darder y J. A. Nobrega. **1999**. Study of chemical modifiers for the determination of chromium in biological materials by tungsten coil electrothermal atomic absorption spectrometry. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry** 364(3):273-278.

Buerge, I. J. y S. J. Hug. **1997**. Kinetics and pH dependence of chromium(VI) reduction by iron(II). **Environmental Science & Technology** 31(5):1426-1432.

Buerge, I. J. y S. J. Hug. **1998**. Influence of organic ligands on chromium(VI) reduction by iron(II). **Environmental Science & Technology** 32(14):2092-2099.

Buffle, J., R. A. Chalmers, M. R. Masson y D. Midgley. **1988**. Complexation reactions in aquatic systems: an analytical approach. E. Horwood; Halsted Press.

Bulska, E. y W. Jedral. **1995**. Application of palladium-plating and rhodium-plating of the graphite-furnace in electrothermal atomic-absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 10(1):49-53.

Bulska, E., K. Liebert Ilkowska y A. Hulanicki. **1998**. Optimization of electrochemical deposition of noble metals for permanent modification in graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy** 53(6-8):1057-1062.

Burriel Martí, F., F. Lucena Conde, S. Arribas Jimeno y J. Hernández Méndez. **1994**. Química analítica cualitativa. Paraninfo.

Carballeira, A., E. Carral, X. M. Puente y R. Villares. **1997**. Estado de conservación de la costa de Galicia: nutrientes y metales pesados en sedimentos y organismos intermareales. Universidade de Santiago de Compostela.

Carlosena, A., P. López Mahía, S. Muniategui, E. Fernández y D. Prada. **1998**. Determination of chromium in nitric acid extracts of soils by flame and electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 13(12):1361-1368.

Chakraborty, R., A. K. Das, M. L. Cervera y M. Delaguardia. **1995**. Determination of chromium by electrothermal atomic-absorption spectrometry after rapid microwave-assisted digestion of sediment and botanical samples. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 10(5):353-358.

Cobelo García, A. y R. Prego. **2003**. Heavy metal sedimentary record in a Galician Ria (NW Spain): background values and recent contamination. **Marine Pollution Bulletin** 46(10):1253-1262.

Comber, S. y M. Gardner. **2003**. Chromium redox speciation in natural waters. **Journal of Environmental Monitoring** 5(3):410-413.

Cornelis, R. **2005**. Handbook of elemental speciation II: species in the environment, food, medicine & occupational health. J. Wiley.

Cossich, E. S., E. A. Da Silva, C. R. G. Tavares, L. Cardozo y T. M. K. Ravagnani. **2004**. Biosorption of chromium(III) by biomass of seaweed Sargassum sp. in a fixed-bed column. **Adsorption-Journal of the International Adsorption Society** 10(2):129-138.

Cotton, F. A. y G. Wilkinson. **1996**. Química inorgánica avanzada. Ed. Limusa.

de Castro, M., M. Gómez Gesteira, R. Prego y I. Álvarez. **2004**. Ria-ocean exchange driven by tides in the Ria of Ferrol (NW Spain). **Estuarine Coastal and Shelf Science** 61(1):15-24.

Decho, A. W. y S. N. Luoma. **1994**. Humic and fulvic-acids - sink or source in the availability of metals to the marine bivalves Macoma-Balthica and Potamocorbula-Amurensis. **Marine Ecology-Progress Series** 108(1-2):133-145.

Eary, L. E. y D. Rai. **1991**. Chromate reduction by subsurface soils under acidic conditions. **Soil Science Society of America Journal** 55(3):676-683.

Elliott, M. y D. S. McLusky. **2002**. The need for definitions in understanding estuaries. **Estuarine Coastal and Shelf Science** 55(6):815-827.

EP. **2000**. European Water Framework Directive (WFD Directive 2000/60/EC). Official Journal of the European Communities.

EP. **2001**. Decision No 2455/2001/EC of the European Parliament and of the Council of 20 November 2001. Official Journal of the European Communities.

EPA. **1998a**. Toxicological review of trivalent chromium (CAS No. 16065-83-1). In support of summary information on the Integrated Risk Information System (IRIS). U.S. Environmental Protection Agency Washington, DC.

EPA. **1998b**. Toxicological review of hexavalent chromium (CAS No. 18540-29-9) In support of summary information on the Integrated Risk Information System (IRIS). U.S. Environmental Protection Agency Washington, DC.

Evans, G., R. J. Howarth y M. A. Nombela. **2003**. Metals in the sediments of Ensenada de San Simon (inner Ria de Vigo), Galicia, NW Spain. **Applied Geochemistry** 18(7):973-996.

Fajgelj, A., K. Lenart, V. Strauch y M. Schara. **1991**. Qualitative studies of interactions of chromium(III) on the surface of sediment. **Vestnik Slovenskega Kemijskega Drustva** 38(4):469-484.

Fendorf, S. E. y R. J. Zasoski. **1992**. Chromium(III) oxidation by delta-MnO_2.1. Characterization. **Environmental Science & Technology** 26(1):79-85.

Figueiras, F. G., U. Labarta y M. J. F. Reiriz. **2002**. Coastal upwelling, primary production and mussel growth in the Rias Baixas of Galicia. **Hydrobiologia** 484(1-3):121-131.

Fukushima, M., K. Nakayasu, S. Tanaka y H. Nakamura. **1995**. Chromium(III) binding abilities of humic acids. **Analytica Chimica Acta** 317(1-3):195-206.

Granadillo, V. A., L. P. Demachado y R. A. Romero. **1994**. Determination of total chromium in whole-blood, blood components, bone, and urine by fast furnace program electrothermal atomization AAS and using neither analyte isoformation nor background correction. **Analytical Chemistry** 66(21):3624-3631.

Griscom, S. B. y N. S. Fisher. **2004**. Bioavailability of sediment-bound metals to marine bivalve molluscs: An overview. **Estuaries** 27(5):826-838.

Haritonidis, S. y P. Malea. **1995**. Seasonal and local variation of Cr, Ni and Co concentrations in Ulva-Rigida C Agardh and Enteromorpha-Linza (Linnaeus) from Thermaikos Gulf, Greece. **Environmental Pollution** 89(3):319-327.

Harvey, C. E. **1950**. Spectrochemical procedures. Chapter 4. Applied Research Laboratories.

Hurlbut, J. A. y C. D. Chriswel. **1971**. Suppression of interferences by sodium sulfate in trace chromium analyses by atomic absorption spectrometry. **Analytical Chemistry** 43(3):465-466.

James, B. R. **1996**. The challenge of remediating chromium-contaminated soil. **Environmental Science & Technology** 30(6):A248-A251.

Jickells, T. D. y J. E. Rae. **1997**. Biogeochemistry of intertidal sediments. Cambridge University Press.

Johnson, C. A., L. Sigg y U. Lindauer. **1992**. The chromium cycle in a seasonally anoxic lake. **Limnology and Oceanography** 37(2):315-321.

Kavanaugh, M. C. y J. Leckie. **1980**. Particulates in water: characterization, fate, effects, and removal. American Chemical Society.

Lee, B. G. y S. N. Luoma. **1998**. Influence of microalgal biomass on absorption efficiency of Cd, Cr, and Zn by two bivalves from San Francisco Bay. **Limnology and Oceanography** 43(7):1455-1466.

Leenheer, J. A., R. L. Wershaw y M. M. Reddy. **1995**. Strong-acid, carboxyl-group structures in fulvic-acid from the Suwannee River, Georgia.2. Major structures. **Environmental Science & Technology** 29(2):399-405.

Lin, C. J. **2002**. The chemical transformations of chromium in natural waters - A model study. **Water Air and Soil Pollution** 139(1-4):137-158.

Lores, E. M. y J. R. Pennock. **1998**. The effect of salinity on binding of Cd, Cr, Cu and Zn to dissolved organic matter. **Chemosphere** 37(5):861-874.

Losi, M. E., C. Amrhein y W. T. Frankenberger. **1994**. Environmental biochemistry of chromium. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, 136. New York.

Manzoori, J. L. y A. Saleemi. **1994**. Determination of chromium in serum and lake water by electrothermal atomic-absorption spectrometry using vanadium and molybdenum modifier. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 9(3):337-339.

Mayer, L. M. y L. L. Schick. **1981**. Removal of hexavalent chromium from estuarine waters by model substrates and natural sediments. **Environmental Science & Technology** 15(12):1482-1484.

Metzler, D. E. **1977**. Biochemistry: the chemical reactions of living cells. Academic Press.

Nriagu, J. O. y A. Kabir. **1995**. Chromium in the Canadian environment. **Environmental Reviews (Ottawa)** 3(1):121-144.

Nriagu, J. O. y E. Nieboer. **1988**. Chromium in the natural and human environments. Wiley.

Olausson, E. y I. Cato. **1980**. Chemistry and biogeochemistry of estuaries. Wiley.

OSPAR. **2000**. Regional QSR IV, Bay of Biscay and Iberian Coast. OSPAR Commission for the Protection of the Marine Environment of the North-East Atlantic, London.

Otto, L. **1975**. Oceanography of the Ría de Arosa (N.W. Spain). Staatsdrukkerij's Gravenhage.

Pawlisz, A. V., R. A. Kent, U. A. Schneider y C. Jefferson. **1997**. Canadian water quality guidelines for chromium. **Environmental Toxicology and Water Quality** 12(2):123-183.

Pérez, F. F., X. A. Álvarez Salgado y G. Roson. **2000**. Stoichiometry of the net ecosystem metabolism in a coastal inlet affected by upwelling. The Ria de Arousa (NW Spain). **Marine Chemistry** 69(3-4):217-236.

Petronio, B. M., B. Cosma, A. Mazzucotelli y P. Rivaro. **1993**. A multimethod approach to study humic compounds and metal speciation in marine sediment samples. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry** 54(1):45-56.

Puls, R. W., D. A. Clark, C. J. Paul y J. Vardy. **1994**. Transport and transformation of hexavalent chromium through soils and into ground water. **Journal of Soil Contamination** 3(2):203-224.

Pyrzynska, K. **1995**. Chemical modification of graphite surfaces for the determination of chromium by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy** 50(13):1595-1598.

Quevauviller, P., E. A. Maier y B. Griepink. **1995**. Quality assurance for environmental analysis: method evaluation within the Measurements and Testing Programme (BCR). Elsevier.

Rann, C. S. y A. N. Hambly. **1965**. Distribution of atoms in an atomic absorption flame. **Analytical Chemistry** 37(7):879-884.

Repetto, M. **1995**. Toxicología avanzada. Díaz de Santos.

Ridgway, J. y G. Shimmield. **2002**. Estuaries as repositories of historical contamination and their impact on shelf seas. **Estuarine Coastal and Shelf Science** 55(6):903-928.

Roson, G., X. A. Álvarez Salgado y F. F. Pérez. **1997**. A non-stationary box model to determine residual fluxes in a partially mixed estuary, based on both thermohaline properties: Application to the Ria de Arousa (NW Spain). **Estuarine Coastal and Shelf Science** 44(3):249-262.

Rubio, B., M. A. Nombela y F. Vilas. **2000**. Geochemistry of major and trace elements in sediments of the Ria de Vigo (NW Spain): an assessment of metal pollution. **Marine Pollution Bulletin** 40(11):968-980.

Saleh, F. Y., T. F. Parkerton, R. V. Lewis, J. H. Huang y K. L. Dickson. **1989**. Kinetics of chromium transformations in the environment. **Science of the Total Environment** 86(1-2):25-41.

Schlemmer, G. **1996**. Graphite furnace AAS for complex samples: Detection limits, precision, long-term stability. **Atomic Spectroscopy** 17(1):15-21.

SCTEE. **2002**. C2/AST/csteeop/ChromiumVI 27062002/D(02): Risk to health from chromium VI in cement. Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment, Brussels.

Shen, H., P. H. Pritchard y G. W. Sewell. **1996**. Microbial reduction of Cr(VI) during anaerobic degradation of benzoate. **Environmental Science & Technology** 30(5):1667-1674.

Skoog, D. A. y J. J. Leary. **1997**. Análisis instrumental. McGraw-Hill.

Slavin, W., G. R. Carnrick y D. C. Manning. **1982**. Magnesium-nitrate as a matrix modifier in the stabilized temperature platform furnace. **Analytical Chemistry** 54(4):621-624.

Smith, L. A., J. L. Means, A. Chen, B. Alleman, C. C. Chapman, J. S. Tixier, S. E. Brauning, A. R. Gavaskar y M. D. Royer. **1995**. Remedial options for metals-contaminated sites. CR Lewis Publishers.

Stumm, W. **1987**. Aquatic surface chemistry: chemical processes at the particle-water interface. John Wiley & Sons.

Taboada, J. J., R. Prego, M. Ruiz Villarreal, M. Gómez Gesteira, P. Montero, A. P. Santos y V. Pérez Villar. **1998**. Evaluation of the seasonal variations in the residual

circulation in the Ria of Vigo (NW Spain) by means of a 3D baroclinic model. **Estuarine Coastal and Shelf Science** 47(5):661-670.

Tessier, A. y D. R. Turner. **1995**. Metal speciation and bioavailability in aquatic systems. J. Wiley.

Thomas, R. P., A. M. Ure, C. M. Davidson, D. Littlejohn, G. Rauret, R. Rubio y J. F. López Sánchez. **1994**. 3-stage sequential extraction procedure for the determination of metals in river sediments. **Analytica Chimica Acta** 286(3):423-429.

Turner, A. y Y. S. Olsen. **2000**. Chemical versus enzymatic digestion of contaminated estuarine sediment: Relative importance of iron and manganese oxides in controlling trace metal bioavailability. **Estuarine Coastal and Shelf Science** 51(6):717-728.

Uncles, R. J. **2002**. Estuarine physical processes research: Some recent studies and progress. **Estuarine Coastal and Shelf Science** 55(6):829-856.

Ure, A. M. y C. M. Davidson. **2001**. Chemical speciation in the environment. Blackwell Science.

Vilas, F., A. M. Bernabeu y G. Méndez. **2005**. Sediment distribution pattern in the Rias Baixas (NW Spain): main facies and hydrodynamic dependence. **Journal of Marine Systems** 54(1-4):261-276.

Villares, R. y A. Carballeira. **2003**. Seasonal variation in the concentrations of nutrients in two green macroalgae and nutrient levels in sediments in the Rias Baixas (NW Spain). **Estuarine Coastal and Shelf Science** 58(4):887-900.

Villares, R., E. Carral, X. Puente y A. Carballeira. **2005**. Metal levels in estuarine macrophytes: Differences among species. **Estuaries** 28(6):948-956.

Wang, W. X., S. B. Griscom y N. S. Fisher. **1997**. Bioavailability of Cr(III) and Cr(VI) to marine mussels from solute and particulate pathways. **Environmental Science & Technology** 31(2):603-611.

Welz, B. y M. R. Sperling. **1999**. Atomic absorption spectrometry. Wiley-VCH.

Wittbrodt, P. R. y C. D. Palmer. **1995**. Reduction of Cr(VI) in the presence of excess soil fulvic-acid. **Environmental Science & Technology** 29(1):255-263.

Wittbrodt, P. R. y C. D. Palmer. **1996**. Reduction of Cr(VI) by soil humic acids. **European Journal of Soil Science** 48(1):151-162.

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1- 1: Normativas y recomendaciones para cromo en ambientes de trabajo. 11

Tabla 1- 2: Composición de ácidos húmicos y fúlvicos en aguas. 19

Tabla 1- 3: Interacciones intermoleculares de importancia en la química acuática de superficies. 21

Tabla 1- 4: Líneas de resonancia más sensibles de cromo. 37

Tabla 1- 5: Posibles interferencias espectrales para cromo tanto en FAAS como en GFAAS. 41

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1- 1: Reducción enzimática de Cr(VI) seguida de precipitación química. 16

Figura 1- 2: Reducción indirecta de Cr(VI) por $H_2S(g)$ seguida de precipitación química. 16

Figura 1- 3: Distribución de metales en ecosistemas acuáticos. 17

Figura 1- 4: Interacción metálica de distintas sustancias que podemos encontrar tanto en sedimento como en material coloidal. 19

Figura 1- 5: Representación del papel que pueden desempeñar partículas inorgánicas en suspensiones y material orgánico como componentes fúlvicos en el ciclo de metales mayoritarios (M_m), vitales (M_v) y tóxicos (M_t). 22

Figura 1- 6: Procesos de transporte de materia en un estuario teniendo en cuenta la influencia de distintos factores como las corrientes o las mareas. 23

Figura 1- 7: Material húmico asociado a los sedimentos susceptible de coordinarse con cationes metálicos. 25

Figura 1- 8: Líneas batimétricas principales de la Ría de Arousa. 29

Figura 1- 9: Corrientes profundas y superficiales de la Ría de Arousa y puntos principales de afloramiento. 31

Figura 1- 10: Variación de la salinidad del agua más profunda a lo largo de las estaciones muestreadas en la cuarta campaña de Arousa. 32

Figura 1- 11: Quemador laminar de premezcla empleado en los análisis de especiación de cromo realizados en este trabajo por FAAS. 35

Figura 1- 12: Tubo de grafito pirolítico con plataforma L´Vov. 39

CAPÍTULO 2

Objetivos

OBJETIVOS

Los objetivos de este trabajo han sido el estudio y desarrollo de:

- Un procedimiento para la determinación del contenido total de cromo en muestras de sedimento marino de la Ría de Arousa.
- Un procedimiento para la determinación de cromo biodisponible en sedimentos marinos de la Ría de Arousa.
- Un procedimiento de especiación de cromo hexavalente y trivalente en muestras sólidas.
- La evolución geográfica y temporal de los niveles de cromo total y fraccionado a lo largo de la Ría de Arousa.

Para el estudio y desarrollo de los puntos indicados se han establecido las siguientes metas:

1. Para la determinación de cromo total se ha seleccionado como método de determinación el análisis por espectroscopia de absorción atómica con atomización electrotérmica (ETAAS) de suspensiones de sedimento marino. Se justificará la selección de esta técnica de análisis y se validará el método analíticamente. El método optimizado será aplicado a muestras de sedimento recolectadas en cuatro campañas realizadas durante el 2002 y 2003 en la Ría de Arousa.
2. En la determinación de cromo biodisponible se aplicará el modelo de extracción secuencial propuesto por la Bureau Community of Reference. Se justificará el modelo de extracción secuencial seleccionado y se reoptimizará el procedimiento con fin de acortar tiempos de extracción. Se validará el método analíticamente. Una vez validado, el método será aplicado a muestras de sedimento marino recolectadas durante los cuatro muestreos realizados durante el 2002 y 2003 en la Ría de Arousa.
3. El estudio de especiación de cromo en sedimentos marinos implica la determinación simultánea del metal hexavalente y trivalente. Se discutirá la

problemática de especiación de este metal en sedimentos marinos y se justificará la técnica de extracción selectiva seleccionada para la separación de cromo hexavalente en extractos acuosos. Los extractos serán estudiados para su especiación mediante una técnica de separación y preconcentración empleando alúmina. Los resultados relativos a sedimentos marinos serán evaluados junto con el estudio de otros parámetros que describen la naturaleza de las muestras (pH, composición elemental y características redox).

Los resultados serán evaluados estadísticamente y se estudiará también la evolución temporal y geográfica de la concentración de metal analizada en las muestras de sedimento marino de la Ría de Arousa durante las campañas llevadas a cabo en verano e invierno del 2002 y del 2003.

CAPÍTULO 3

Cromo total en sedimentos marinos de la Ría de Arousa

INTRODUCCIÓN 69

1. Análisis directo de muestras sólidas ... 70
2. Análisis de suspensiones ... 72
2.1. Medio líquido y agentes estabilizantes ... 75
2.2. Masa representativa ... 76
2.3. Tamaño de partícula ... 77
2.4. Distribución del analito ... 79
2.5. Sistemas de homogeneización y estabilización de la suspensión ... 79
2.6. Modificadores de matriz para suspensiones en ETAAS ... 80

PARTE EXPERIMENTAL 83

1. Instrumental, material y reactivos de laboratorio ... 83
1.1. Instrumental ... 83
1.2. Material ... 83
1.3. Reactivos ... 84
2. Muestreo, almacenamiento y pretratamiento de sedimentos ... 86
3. Procedimiento de preparación de suspensiones de sedimento ... 91
4. Optimización del programa electrotérmico ... 92
4.1. Curvas de mineralización ... 93
4.2. Curvas de atomización ... 94
4.3. Optimización de la concentración de modificador de matriz ... 95
4.4. Programa optimizado ... 96
5. Parámetros analíticos ... 97
5.1. Rango lineal. Rectas de calibrado y adición estándar ... 97
5.2. Sensibilidad del método ... 99
5.3. Precisión y exactitud ... 99
6. Análisis de muestras ... 101
6.1. Análisis total de cromo en los sedimentos de Arousa ... 101
6.1.1. Sedimentos del muestreo de invierno de 2002 ... 102
6.1.2. Sedimentos del muestreo de verano de 2002 ... 106
6.1.3. Sedimentos del muestreo de invierno de 2003 ... 110
6.1.4. Sedimentos del muestreo de verano de 2003 ... 113
6.2. Sedimentos procedentes del río Ulla previo a su desembocadura en el estuario ... 117
6.3. Factores de contaminación, distribución y transporte de cromo a lo largo de la Ría de Arousa ... 120

CONCLUSIONES 125

BIBLIOGRAFÍA 127

LISTADO DE TABLAS 133

LISTADO DE FIGURAS 135

INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente y de forma rutinaria se ha empleado la digestión ácida para la determinación de metales traza en muestras sólidas. La técnica de determinación (FAAS, ICP, GFAAS, etc.) depende de la naturaleza del analito, de la composición de la matriz y del tipo de digestión seleccionada (Quevauviller, P. y col. 1995). Para la determinación de cromo en digestiones de suelos o sedimentos, se ha empleado una combinación de ácido nítrico y ácido clorhídrico (agua regia) (Belazi, A. U. y col. 1995; Davidson, C. M. y col. 1994), una combinación de ácido fluorhídrico, ácido nítrico y peróxido de hidrógeno o bien una combinación de ácido fluorhídrico y ácido perclórico (Schalscha, E. B. y col. 1999) o también pseudodigestiones con ácido nítrico (Usero, J. y col. 1998).

La digestión es una etapa que implica consumo de tiempo, a veces con protocolos elaborados, y en donde existen riesgos de pérdida de analito y/o contaminación de las muestras (Quevauviller, P. y col. 1995). En este tipo de pretratamiento es necesario el uso de productos químicos peligrosos, en su mayoría corrosivos y contaminantes, que disminuyen la vida media del instrumental de medida. Estos productos de digestión de la muestra suelen ser ácidos fuertes que conducen normalmente a altos valores de blancos en las medidas analíticas.

Como alternativa a los métodos tradicionales de digestión a partir de los años 70 comenzaron a desarrollarse métodos de análisis de muestras sólidas mediante espectroscopía de absorción atómica con atomización electrotérmica (Nichols, J. A. y col. 1978; Rettberg, T. M. y Holcombe, J. A. 1986). Estudios previos y simultáneos habían avalado resultados positivos en la introducción directa de muestras sólidas en plasmas (Hoare, H. C. y Mostyn, R. A. 1967; Salin, E. D. y Horlick, G. 1979).

Las ventajas del análisis directo de muestras sólidas respecto a la digestión son fundamentalmente las siguientes (Bendicho, C. y de Loos Vollebregt, M. T. C. 1991; Hoenig, M. y Vanhoeyweghen, P. 1986; Miller Ihli, N. J. 1990):

- Se reduce el pretratamiento de la muestra, lo que implica un menor tiempo de preparación, fundamental para análisis rutinarios.

- Menor riesgo de contaminación de la muestra, importante cuando se trabaja a nivel de trazas. Con menor riesgo de contaminación se mejora la exactitud y la fiabilidad de los resultados.
- Se reducen las pérdidas de analito por volatilización previa a la determinación. También se reduce la retención del analito en residuos insolubles de los pretratamientos de digestión.
- Se evita el uso de productos químicos de carácter peligroso y corrosivo.

El análisis directo de muestras sólidas se puede llevar a cabo mediante técnicas analíticas de uso extendido como la espectroscopía de fluorescencia de rayos X, de emisión de arco o chispa, de plasma acoplado inductivamente, de absorción atómica, etc. De todas ellas ETAAS, dado que no necesita dispositivos de nebulización, se presenta como la técnica más útil en el análisis directo de muestras sólidas. Además de eso, los amplios tiempos de residencia de la muestra en el atomizador permite la completa atomización de las partículas sólidas, sea cual sea su tamaño o volatilidad (Kurfürst, U. 1998). De este modo se consiguen límites de detección bajos, necesario en análisis de metales traza.

En general podemos considerar 2 métodos establecidos para el análisis de muestras sólidas:

- Análisis directo de muestras sólidas.
- Análisis de suspensiones.

1. Análisis directo de muestras sólidas

El primero de los métodos, análisis directo de muestras sólidas, ha sido empleado inicialmente por Kerber con atomizadores comerciales en el año 1971. A partir de los 70 se comenzó a desarrollar instrumental apropiado para esta clase de determinaciones. Hoy en día se pueden consultar revisiones específicas de análisis de muestras sólidas por espectroscopía atómica (Bendicho, C. y de Loos Vollebregt, M. T. C. 1991; Cal Prieto, M. J. y col. 2002; Lucker, E. y col. 2000; Vale, M. G. R. y col. 2006), apartados de actualizaciones en revisiones como las recogidas anualmente en el JAAS, o estudios de colaboración (Miller Ihli, N. J. 1997) relativos a avances de este tipo de técnicas.

El análisis directo de muestras sólidas presenta ciertas desventajas que han podido minimizarse con los avances tecnológicos (Bendicho, C. y de Loos Vollebregt, M. T. C. 1991):

- La introducción de la muestra en el atomizador exige mayor habilidad por parte del operario que con muestras líquidas.
- Se requiere hacer una pesada por cada réplica antes de introducir la muestra en el atomizador, haciendo que el proceso sea tedioso.
- La calibración con patrones acuosos no siempre es aplicable, por lo que se debe recurrir al uso de materiales de referencia certificados para corregir el efecto de la matriz en la señal obtenida. No siempre existen materiales de referencia adecuados.
- Los modificadores químicos no pueden interaccionar fácilmente con el analito ocluido en el sólido, por lo que son menos efectivos.
- Cuando la concentración es muy alta se debe trabajar en condiciones de menor sensibilidad instrumental, lo que requiere una optimización adicional o bien la dilución de las muestras con grafito pulverizado. Con esta medida se corren riesgos de contaminación.
- Se obtiene peor precisión que para muestras líquidas. Se podría mejorar este parámetro analítico disminuyendo el tamaño de partícula o aumentando la cantidad de muestra cuando no es lo suficiente homogénea.
- Existe un evidente desgaste del atomizador dado que la matriz puede quedar pegada sobre el tubo durante la atomización. Aquí el efecto memoria en las medidas también suele aparecer.
- Las interferencias espectrales son mayores, siendo las señales de fondo mayores y más estructuradas, y por lo tanto más difíciles de corregir. Esto exige el uso de correctores de fondo eficaces.
- Suelen darse atomizaciones incompletas de metales refractarios o fuertemente ocluidos en la matriz sólida, lo que muestra resultados erróneos.

2. Análisis de suspensiones

Una variante del análisis directo de muestras sólidas es el análisis de suspensiones de muestras pulverizadas elaboradas en un disolvente apropiado. La mayor dificultad de esta técnica, tras ser introducida en 1974 por Brady, ha sido en años posteriores el conseguir una suspensión homogénea y estable (Welz, B. y Sperling, M. R. 1999). La evolución de ETAAS empleando plataformas y un tratamiento adecuado de la señal espectroscópica han facilitado la aplicación rutinaria de esta variante de análisis de muestras sólidas (Hoenig, M. 2001; Hoenig, M. y Vanhoeyweghen, P. 1986). En la actualidad la aplicación de suspensiones se encuentra totalmente integrada en determinaciones rutinarias.

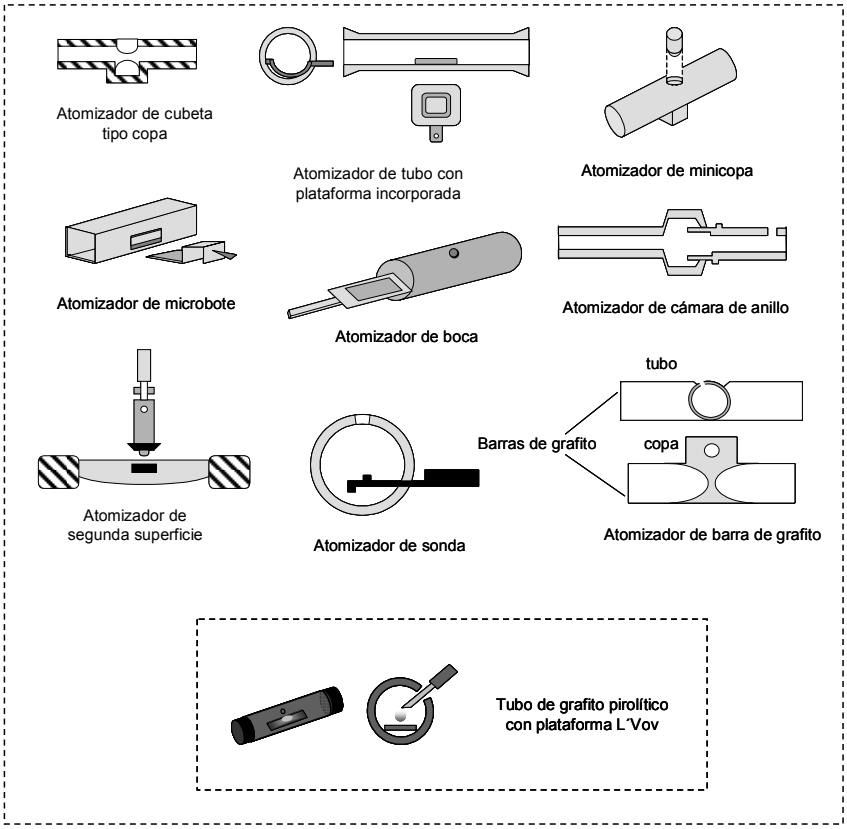

Figura 3- 1: Dispositivos de atomización electrotérmica empleados en análisis de muestras sólidas y suspensiones de muestras sólidas.

Se recogen en la Figura 3- 1 algunos dispositivos empleados para el análisis de muestras sólidas y suspensiones (Kurfürst, U. 1998).

Las suspensiones permiten combinar las ventajas del análisis directo de muestras sólidas y líquidas. Así los atomizadores y dispositivos de inyección de sistemas convencionales de muestras líquidas pueden también emplearse indistintamente con las suspensiones. No es así para análisis de muestras sólidas ya que precisan de dispositivos específicos (atomizadores en forma de bote o copa, etc.).

El análisis de muestras sólidas conlleva a la pesada de masas de muestra muy pequeñas en cada una de las réplicas y la contaminación es aquí posible con el manejo y transferencia de la masa de muestra al sistema electrotérmico. En cambio si manejamos suspensiones podemos emplear masas de muestra mayores y para una misma suspensión podemos analizar el número de réplicas que precisemos (Kurfürst, U. 1998). También podemos diluir fácilmente las suspensiones cuando las muestras están concentradas. Sin embargo, por análisis directo de muestras sólidas para diluir las muestras debemos añadir sustancias como el polvo de grafito que modifica la matriz y consecuentemente modifican el comportamiento durante el tratamiento electrotérmico. En esta última situación se generan señales de blanco mayores. Otra ventaja de las suspensiones es que se pueden usar modificadores de matriz, aplicar calibraciones estándar con disoluciones acuosas de patrones y aplicar adiciones de suspensiones junto con las calibraciones estándar (Bendicho, C. y de Loos Vollebregt, M. T. C. 1991; Cal Prieto, M. J. y col. 2002).

El punto más crítico en el análisis de suspensiones de muestras sólidas está en mantener estable la suspensión hasta la inyección de la muestra en el dispositivo de atomización. De no conseguirlo obtenemos resultados irreales y poco reproducibles. Cuando se trabaja con matrices refractarias, otro problema que podemos encontrar en esta técnica es que el analito puede quedar atrapado dentro de las partículas sólidas. Esta oclusión impide la liberación total del analito en el proceso electrotérmico.

Se usan modificadores químicos para corregir las interferencias debidas a la alta concentración de concomitantes de la matriz sólida. La eficacia aquí con respecto a las disoluciones líquidas es menor. No es tan eficiente la reacción entre analito y modificador ya que se encuentra en fases diferentes (sólida y líquida respectivamente). Con la técnica de suspensiones es importante controlar

estrictamente ciertas variables como son el tipo de diluyente, el agente estabilizante de la suspensión, el dispositivo de homogeneización, el tamaño de partícula, o la cantidad de muestra. Por eso se han empleado técnicas quimiométricas para la optimización de la preparación de suspensiones (Cal Prieto, M. J. y col. 1999; Santos, C. y col. 2000).

Algunos ejemplos de determinación de metales en suspensiones de muestras sólidas se recogen en la Tabla 3- 1.

Tabla 3- 1: Determinación de metales en suspensiones de muestras sólidas.

Muestra	Elemento	Referencia
Alimentos	**Cr**	(Lendinez, E. y col. 2001)
Cabello	**Cr**	(Bermejo Barrera, P. y col. 1998)
Carbón	Cd, Cu y Pb	(Silva, M. M. y col. 1999)
Cenizas de carbón, suelos y sedimentos	**Cr**, Ni y V	(Felipe Sotelo, M. y col. 2005)
Compost	**Cr**	(Laborda, F. y col. 2004)
Harina de trigo	Co, Cr y Ni	(González, M. y col. 1999)
Leche en polvo, langosta, polietileno y lodos	**Cr**	(Resano, M. y col. 2004)
Lodos de depuradora	Co	(Conte, R. A. y de Loos-Vollebregt, M. T. C. 2000)
Lodos de depuradora	Cd, **Cr**, Ni y Pb	(Baralkiewicz, D. y Siepak, J. 2001)
Marisco	As	(Santos, C. y col. 2000)
Muestras biológicas	Cu	(Capelo, J. L. y col. 1999)
Muestras biológicas y sedimentos	Cd, Cu y Pb	(Lima, E. C. y col. 2000)
Polvo de nitruro de boro	Al, Ca, Cd, Co, Cu, Fe, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Si y Zn	(Krivan, V. y Rommelt, T. 1997)
Sedimentos marinos	Cd, Pb y Sn	(Bermejo Barrera, P. y col. 1994)
Sedimentos marinos	As, Cd, Hg, Pb y Sn	(Bermejo Barrera, P. y col. 1996)
Sedimentos marinos	**Cr**	(Pazos Capeáns, P. y col. 2004)
Sedimentos marinos	Cd, **Cr** y Pb	(Pereira, L. A. y col. 2006)
Suelos y sedimentos	Cd, Pb, Tl	(López García, I. y col. 1996)
Suelos y sedimentos certificados	Sb	(Cal Prieto, M. J. y col. 1999)
Suelos y sedimentos contaminados	As, Cd, **Cr**, Cu, Ni y Pb	(Klemm, W. y Bombach, G. 1995)
Suelos, sedimentos y lodos	Mo y V	(Campillo, N. y col. 2002)
Partículas atmosféricas	Cd, **Cr**, Cu, Ni y Pb	(Terzieva, V. y Arpadjan, S. 1998)
Suelos	**Cr** y Ni	(Dobrowolski, R. 1996)

2.1. Medio líquido y agentes estabilizantes

Se han estudiado los errores analíticos cometidos debido al proceso de sedimentación que sufre una suspensión antes de la medida y que dependen del tamaño de partícula, de la densidad del sólido y de la viscosidad del medio (Majidi, V. y Holcombe, J. A. 1990). En la preparación de suspensiones y para evitar este error, se han empleado muchos diluyentes que actúan como estabilizantes de la suspensión. Estos estabilizantes mejoran la precisión y la exactitud de las medidas. Su selección depende de la naturaleza de la matriz de la muestra y de las características del analito. Se utilizan comúnmente HNO_3, H_2O_2 o HF, pero no son comunes las disoluciones alcalinas, a excepción de los hidróxidos de alquilamonio (Cal Prieto, M. J. y col. 2002).

Uno de los puntos clave de esta técnica es lograr una suspensión estable. Para lograrlo se suelen emplear agentes estabilizantes, además de agitación magnética y/o mecánica, ultrasonidos, burbujeo de un gas (como el Ar) o predigestión (comúnmente con ácidos minerales como HNO_3, HCl) (Bendicho, C. y de Loos Vollebregt, M. T. C. 1991) o los reactivos químicos citados anteriormente.

La predigestión consiste en la adición de una pequeña cantidad de ácido para obtener una descomposición parcial y favorecer la liberación del analito a la fase líquida. Entre ellos, en algunas publicaciones han hecho uso de ácido fluorhídrico en la determinación metálica de suelos y sedimentos en suspensión, mejorando la extracción metálica de la matriz de silicatos (López García, I. y col. 1996).

Para evitar la deposición de las partículas puede aumentarse la viscosidad del medio con la adición de Viscalex (Stephen, S. C. y col. 1987), glicerol (Hoenig, M. y Vanhoeyweghen, P. 1986) o disolventes orgánicos de alta viscosidad (Bendicho, C. y de Loos Vollebregt, M. T. C. 1991). Estos últimos presentan algunos problemas con la reproducibilidad de pipeteo de la muestra por quedar material adherido al exterior del capilar o porque la inyección de la muestra sea incompleta (Miller Ihli, N. J. 1988; Stephen, S. C. y col. 1987). También se emplean como agentes estabilizantes compuestos que aumentan la dispersión como el Triton X-100 (Miller Ihli, N. J. 1988) u otros antiespumantes (Lynch, S. y Littlejohn, D. 1989). De este modo, Bermejo y col. han desarrollado un método para la determinación de As, Cd, Hg, Pb y Sn en

muestras de sedimento marino empleando Triton X-100 como estabilizante de la suspensión (Bermejo Barrera, P. y col. 1996).

Las características fisicoquímicas de las muestras sólidas determinan los reactivos más adecuados para el análisis en medio líquido. Destacan las sustancias hidratantes, dispersantes, espesantes, estabilizantes, sustancias tixotrópicas y los surfactantes. En muestras de suelos (Miller Ihli, N. J. y Baker, S. A. 2001), carbón (Silva, M. M. y col. 1999), alimentos vegetales (Lendinez, E. y col. 2001) o muestras clínicas (Granadillo, V. A. y col. 1994) se ha usado como surfactante Triton X-100. Este reactivo es el que se ha empleado en la parte experimental de este trabajo correspondiente al análisis de suspensiones de muestras sólidas.

2.2. Masa representativa

La concentración de suspensión es crítica en esta técnica, por lo que la masa de muestra tomada debe ser representativa de la muestra total y a su vez la alícuota inyectada en el dispositivo de atomización debe ser representativa. Para ello Miller-Ihli ya define crucial el establecer, más que la concentración, la relación óptima entre la masa de muestra sólida y el volumen de la suspensión final mediante la siguiente expresión (Miller Ihli, N. J. 1994):

$$M_a = \frac{V_s \times M_s}{V_o \times (1 - f_x)} + f_x \times M_s$$

M_a: masa de muestra representativa.
M_s: masa de muestra pesada (mg) para preparar la suspensión.
f_x: fracción de analito en disolución.
V_o: volumen de suspensión (µl) preparado.
V_s: volumen de suspensión (µl) inyectado en el horno.

Con esta expresión es posible establecer la proporción de material representativo necesario en la determinación analítica. De esta expresión se puede observar que si el analito se logra extraer total o parcialmente en la fase líquida, cuanto mayor es la masa de muestra y mayor es el volumen de diluyente, mayor es M_a y por tanto mayor es la representatividad de la alícuota inyectada. Sin embargo si no es posible la extracción, M_a se hace independiente de estos 2 parámetros.

En general no es recomendable expresar la concentración de suspensión en forma de porcentaje (% m/v). Es recomendable tener en cuenta el volumen de sólido por unidad de suspensión (V_m/V_s). Una relación de 0.25 es la aconsejada en bibliografía (Cal Prieto, M. J. y col. 2002), pero en su cálculo influye notablemente la densidad de la muestra.

En general, para establecer una masa de muestra y un volumen de diluyente adecuados para la preparación de la suspensión se considera el rango de respuesta lineal del analito y la concentración de analito en dichas muestras. En bajas concentraciones de analito se usan suspensiones lo más concentradas que sean posibles para obtener límites de detección y cuantificación bajos. Las relaciones m/v altas son también apropiadas para muestras a las que no se le puede disminuir el tamaño de partícula mediante el pulverizado. Las suspensiones concentradas muestran una reducción de la precisión porque existen dificultades durante el pipeteo. Una buena estabilidad de la suspensión es difícil de mantener especialmente con materiales de alta densidad (Krivan, V. y Rommelt, T. 1997). Al trabajar con suspensiones concentradas, con una gran cantidad de agente estabilizante pueden existir problemas de pipeteo. El aumento de la concentración de la suspensión conlleva a un aumento del efecto matriz y consecuentemente a un aumento de la señal de fondo. En este sentido valores m/v altos acortan el tiempo de vida de los tubos y los residuos son más resistentes (Cal Prieto, M. J. y col. 2002), por lo que se opta por una relación de compromiso.

Una de las mayores ventajas del análisis de suspensiones es la simplicidad en la dilución. La precisión de estos análisis disminuye cuando se trabaja con diluciones muy diluidas dado que en la inyección existe un número de partículas relativamente pequeño. A este respecto algunos autores recomiendan el uso de masas de muestra lo suficientemente altas (50 partículas, de 100 µm o de inferior tamaño, por cada 20 µl de suspensión inyectada en el horno) (Miller Ihli, N. J. 1994).

2.3. Tamaño de partícula

Otros factores a tener en cuenta son la densidad y tamaño da partícula, de donde se puede deducir el número de partículas depositadas en la cámara en el momento de la atomización. Conviene reducir el tamaño de partícula del sólido para facilitar la homogeneización de la suspensión y trabajar con alícuotas representativas de la muestra de sedimento, facilitando además su atomización. Se consigue reducir el tamaño de partícula con molinos de bolas (Stephen, S. C. y col. 1987), morteros de ágata (Lynch, S. y Littlejohn, D. 1989) o, como en nuestro caso, con perlas de zirconio (Bermejo Barrera, P. y col. 1994).

El procedimiento experimental para reducción del tamaño de partícula viene detallado en el apartado de preparación de la suspensión de la parte experimental de este capítulo.

El tamaño de partícula influye en la estabilización, deposición y eficiencia de atomización de la suspensión, y por tanto en la precisión y exactitud del método (Bendicho, C. y de Loos Vollebregt, M. T. C. 1991). El tamaño más adecuado dependerá de la homogeneidad de la muestra respecto al analito y de la densidad. En ETAAS no disponemos de sistemas de nebulización y el tiempo de residencia de la partícula sólida en el atomizador es mayor, por lo que el tamaño es menos crítico que en otras técnicas como FAAS o ICP (Kurfürst, U. 1998).

Para materiales relativamente blandos (atún, espinacas, pan, galletas, etc.) son factibles tamaños de partículas grandes (de hasta 300 µm), pero cuanto mayor es el tamaño da partícula más se castiga al recubrimiento pirolítico del tubo de grafito (Cal Prieto, M. J. y col. 2002). Con la pérdida de este recubrimiento disminuye la sensibilidad y aumenta la señal de fondo. Además, trabajar con tamaños de partícula grandes empeora la reproducibilidad debido a la falta de homogeneidad y disminuye la estabilidad de la alícuota inyectada. Cuando esto sucede y el tamaño de partícula ya es considerable, se aconseja cambiar el capilar de automuestreo aumentando el diámetro interno para evitar oclusiones durante el pipeteo (Miller Ihli, N. J. 1994). Al mismo tiempo, cuanto mayor es el tamaño de partícula, el analito se libera con mayor dificultad y los modificadores de matriz son menos eficaces. El efecto del modificador depende fundamentalmente del analito, de la naturaleza de la matriz de la muestra y de la fortaleza de sus enlaces.

En general la disminución del tamaño de partícula mejora la precisión y la exactitud. Para esta disminución existen 2 alternativas: moler o tamizar. En nuestro caso las muestras de sedimento son tamizadas separando la fracción < 63 µm. Esta es la fracción que se agita posteriormente junto con agua y perlas de circonio tal y como se relata en el procedimiento descrito en la parte experimental (Pazos Capeáns, P. y col. 2004). En definitiva el rango óptimo de tamaños de partícula dependerá de la composición de la muestra (Bendicho, C. y de Loos Vollebregt, M. T. C. 1991).

2.4. Distribución del analito

La extracción del analito se favorece con acidificación del medio. Destaca el uso de HNO_3 e incluso de HF cuando los materiales son ricos en silicatos, pero también se aplican en menor medida otros extractantes orgánicos e inorgánicos (Cal Prieto, M. J. y col. 2002). Aunque la precisión se mejora con la extracción, no es una condición esencial en la exactitud del análisis. De hecho no es necesaria una extracción del analito elevada para alcanzar sensibilidades buenas cuando la liberación de la matriz es relativamente fácil. Una extracción del analito siempre va acompañada de una extracción de concomitantes de la matriz. Esto no siempre interesa dado que la señal de fondo puede aumentar debido a absorciones moleculares en la suspensión. Existen trabajos en los que el uso de ácido nítrico no mejora la señal de absorbancia del metal estudiado en sedimentos. Este es el caso de Pb en sedimentos marinos (Bermejo Barrera, P. y col. 1994). Por ello, en el análisis de suspensiones no siempre es favorable una etapa de predigestión. Se desaconseja igualmente el empleo de ácidos relativamente concentrados como el ácido nítrico cuando su concentración supera el 2%, dado que dañan el tubo de grafito acortando sensiblemente su vida (Bermejo Barrera, P. y col. 1997).

2.5. Sistemas de homogeneización y estabilización de la suspensión

Es necesario un dispositivo apropiado de agitación para obtener una suspensión homogénea. Muchos de los progresos de la técnica de suspensiones está basada en el desarrollo de mecanismos de homogeneización efectivos junto con su automatización. Destacan los siguientes:

- Agitación mecánica –*mechanical shaking*- (Bermejo Barrera, P. y col. 1994).
- Agitación magnética -*magnetic stirring*- (Bermejo Barrera, P. y col. 1996; López García, I. y col. 2000).
- Burbujeo con gas -*gas bubbling*- (Cal Prieto, M. J. y col. 2002) o burbujeo con aire –*air bubbling*- (Pereira, L. A. y col. 2006).
- Mezcladores de vórtice -*vortex mixing*- (Miller Ihli, N. J. 1988).
- Agitación con ultrasonidos -*ultrasonic agitation*- (Epstein, M. S. y col. 1989; Miller Ihli, N. J. 1990).

En algunos casos también se emplean estos dispositivos para reducir el tamaño de partícula al mismo tiempo que se obtiene una suspensión homogénea.

El uso de una cierta cantidad de perlas, comúnmente fabricadas de Zr, agitadas durante un cierto tiempo en un bote junto con muestra y diluyente (ej. Triton X-100, Viscalex HV-30 o glicerol) favorece la homogeneización por molienda y mezclado (Bermejo Barrera, P. y col. 1994). Este procedimiento suele usarse también como etapa previa para otros dispositivos de homogeneización (Cal Prieto, M. J. y col. 2002).

Las agitaciones magnética y mecánica se han usado de forma generalizada, especialmente con las primeras aplicaciones de la preparación de suspensiones. Posteriormente se optó por la homogeneización mediante ultrasonidos (Epstein, M. S. y col. 1989; Laborda, F. y col. 2004; Miller Ihli, N. J. 1988; Santos, C. y col. 2000) obteniendo resultados más precisos y exactos. La técnica de ultrasonidos, además de ser más rápida, permite la automatización combinando la preparación de la suspensión y la inyección de la muestra en la cámara.

2.6. Modificadores de matriz para suspensiones en ETAAS

Al igual que cuando se trabaja con disoluciones acuosas existe una gran variedad de modificadores de matriz aplicables a las suspensiones de muestras sólidas.

Cuando se analizan suspensiones se introduce una gran cantidad de matriz en el atomizador por lo que se necesitan temperaturas de mineralización elevadas y el uso de modificadores de matriz. Los modificadores pueden actuar sobre el analito y sobre la matriz.

De hecho si los modificadores actúan en la etapa de atomización no importa la forma de adicionarlo. Es decir, es indiferente añadir el modificador durante la formación de la suspensión o después en los cubiletes para analizar en la cámara. Únicamente es crítica la adición cuando el modificador realiza su función sobre el analito cuando aún está asociado a la matriz.

El uso de modificadores de matriz permanentes (Bulska, E. y Jedral, W. 1995; Bulska, E. y col. 1998) a través de tubos recubiertos de carburos metálicos además de muestras líquidas también se pueden utilizar en suspensiones de muestras sólidas.

Existe una gran variedad de modificadores en suspensiones: $Cu(CO_3)_2$, $Ni(CO_3)_2$, $(NH_4)_2HPO_4$, $NH_4H_2PO_4$, $Ni(NO_3)_2$, $Pd(NO_3)_2$, $Mg(NO_3)_2$, HNO_3 o tubos recubiertos de W, Rh, Ir, Zr, etc. (Bendicho, C. y de Loos Vollebregt, M. T. C. 1991; Welz, B. y Sperling, M. R. 1999) Incluso en algunos casos la propia matriz actúa de modificador cambiando el comportamiento térmico del analito. Este es el caso de muestras con contenidos orgánicos elevados o con polvos de grafito (Cal Prieto, M. J. y col. 2002). Algunos de los mecanismos propuestos que justifican la modificación de estas matrices son las siguientes:

- Estabilización del analito por la matriz.
- Transformación de la matriz en carbón activo acelerando la reducción de óxidos.
- Formación de carburos de analito térmicamente estables permitiendo temperaturas de mineralización más elevadas sin pérdidas de analito.

Así como en disoluciones acuosas, existen muchos modificadores químicos aplicables a suspensiones. De hecho, los modificadores actúan tanto en el metal como en la matriz. En definitiva, con suspensiones los modificadores usados son exactamente los mismos que en muestras líquidas.

PARTE EXPERIMENTAL

1. Instrumental, material y reactivos de laboratorio

1.1. Instrumental

El instrumental común empleado durante la preparación de las muestras incluye una tamizadora mecánica (Retsch, Haan, Alemania), tamices de Nylon (CISA, Barcelona, España), un liofilizador (Labconco LYPH-LOCK6 modelo 77530, Kansas, USA) y una balanza electrónica de precisión analítica (Sartorius modelo BP121S, Goettingen, Alemania) para pesada de muestras y reactivos. En el laboratorio de preparativa y análisis se han empleado, para trabajos de este capitulo y de capítulos posteriores, micropipetas de volumen fijo y variable desde 50 a 100 µl (Kartell S. p. A., Nobiglio MI, Italia) y micropipetas de volumen variable desde 100 a 1000 µl (Socorex Calibra® modelo 822, Ecublens/Lausanne, Suiza).

Se ha empleado un agitador automático de brazo lateral Vibromatic (Selecta, Barcelona, España) para preparación de suspensiones acuosas de muestras sólidas y un agitador Vortex (Heidolph modelo Reax 2000, Schwabach, Alemania) para la estabilización de las suspensiones durante los análisis.

El instrumental de medida empleado consta de un espectrofotómetro de absorción atómica (Perkin Elmer modelo 1100B, Überlingen, Alemania) equipado con un automuestreador automático (Perkin Elmer modelo AS-70, Überlingen, Alemania), un horno (Perkin Elmer modelo HGA 700, Überlingen, Alemania) y una lámpara de cátodo hueco de cromo (Cathodeon, Cambridge, Reino Unido) operando a 12 mA, ancho de banda de 0.7 nm y longitud de onda de 357.9 nm. El equipo está provisto de un corrector de fondo de deuterio. Para la atomización electrotérmica se han usado tubos de grafito pirolítico con plataforma L´Vov (Perkin Elmer, Überlingen, Alemania).

1.2. Material

El material común a todos los capítulos de este trabajo, empleado para manipulación y almacenamiento de muestras y reactivos, se describe de forma breve a continuación. Se han usado cajas de polietileno para liofilización de muestras sólidas, botes y viales de polietileno para almacenar sedimentos liofilizados y tamizados (25, 100 y 200 ml de capacidad), botes de polietileno y polipropileno (1000, 250 y 100 ml

de capacidad) para disoluciones y eluyentes empleados en las distintas etapas preparativas o de análisis, y material preparativo de vidrio y cerámica básico (espátulas, matraces aforados de clase A, matraces erlenmeyer, pipetas aforadas y graduadas, probetas, etc.).

En la preparación de suspensiones de muestras sólidas se han empleado perlas de circonio esféricas (YSZ) estabilizadas con óxido de Itrio (5%) para molienda, de 3 mm de diámetro (Tosoh Corp., Tokio, Japón) y embudos de cerámica con plataforma integrada perforada (Haldenwanger Technische Keramic, Düsseldorf, Alemania) para la separación de las suspensiones una vez preparadas.

Todo el material empleado durante los muestreos y utilizado en los laboratorios de química preparativa e instrumental ha sido sometido al siguiente procedimiento de limpieza: (1) un lavado inicial del material con agua de grifo, seguido de un aclarado posterior, (2) tres lavados abundantes con agua Milli-Q®, (3) inmersión del material en recipientes con ácido nítrico del 10% durante 48 horas, (4) tres lavados abundantes con agua Milli-Q® para eliminar restos de ácido, (5) cuando ha sido oportuno, el material de vidrio y plástico se ha secado en estufa y sellado con parafilm® para evitar su contaminación en el laboratorio. Con el procedimiento de limpieza en ácido nítrico 10% se minimiza el riesgo de contaminación tanto en la etapa de muestreo y almacenamiento como en la etapa analítica (Hoenig, M. 2001).

1.3. Reactivos

Ácido nítrico suprapur (69.0-70.5%). BDH, Chemicals LTD, Poole, Reino Unido.

Argón, Ar N-50, S.E.O., 99.999% purity, Madrid, España. Usado durante la atomización como gas de purga y como refrigeración durante el programa electrotérmico de los análisis.

Disolución patrón de nitrato de cromo, disolución stock de 1 mg ml^{-1}. BDH, Poole, Reino Unido. Todos los patrones acuosos fueron preparados inmediatamente antes de su uso con agua Milli-Q®.

Material de referencia PACS-2. Sedimento marino, National Research Council Canada (NRCC), Ottawa, Ontario, Canadá.

Nitrato de magnesio suprapur, Merck, Darmstadt, Alemania.

Tritón X-100, polietilenglicol mono (p- 1,1,3,3-tetrametilbutilfenil) éter, para cromatografía gaseosa de Merck, Darmstadt, Alemania.

Todas las disoluciones empleadas han sido preparadas con agua ultrapura Milli-Q® de 18.2 MΩ cm de resistividad específica obtenida con un sistema purificador Milli-Q® (Millipore).

2. Muestreo, almacenamiento y pretratamiento de sedimentos

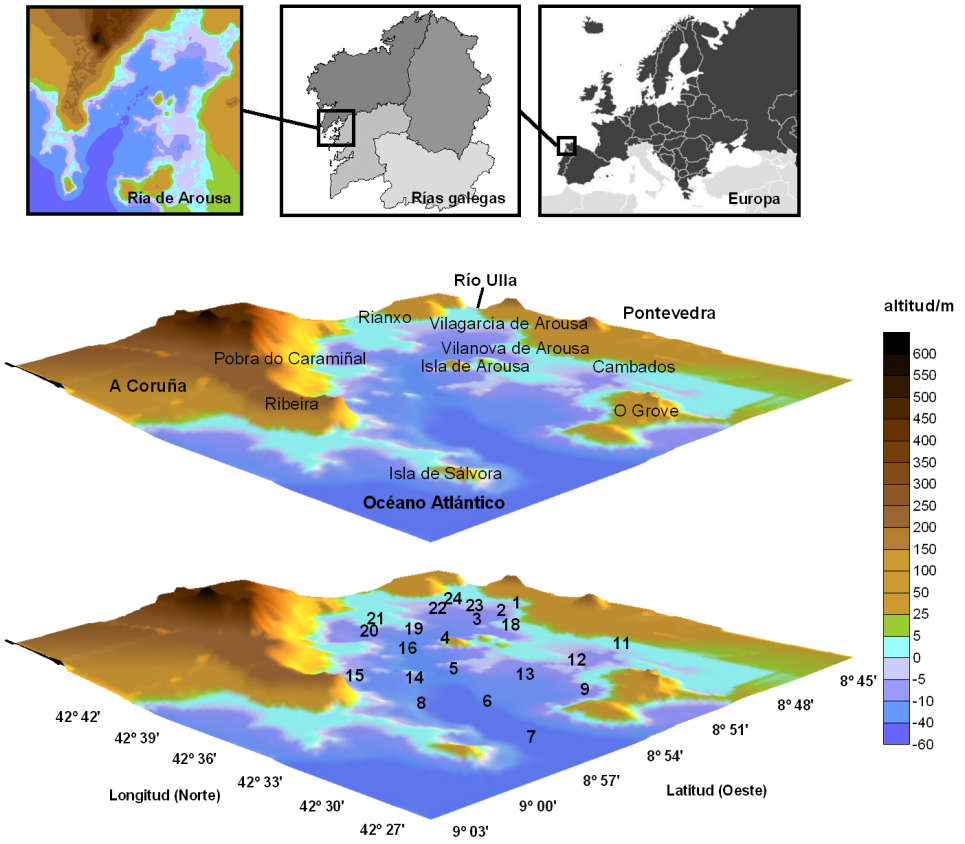

Figura 3- 2: Localización georeferenciada (latitud, longitud) y profundidad de las estaciones de muestreo de la Ría de Arousa. Noroeste de España, Océano Atlántico.

Recientemente se ha publicado una distribución detallada de sedimentos superficiales distribuidos a lo largo de la Ría de Arousa (Vilas, F. y col. 2005). La caracterización de los fondos en el estuario se fundamenta en su clasificación en función de tres tipos de sedimento: arena, grava y fango. La información publicada ha sido empleada para corroborar las características generales de los sedimentos muestreados en Arousa durante las cuatro campañas realizadas durante los años 2002 y 2003, correspondientes a veranos e inviernos. Se ha observado que las muestras analizadas estaban constituidas mayoritariamente por arenas o lodos. Adicionalmente, en muchos de los puntos de muestreo cercanos a bateas, las muestras presentaron fracciones elevadas de conchas de mejillón.

Tras una clasificación preliminar de los sedimentos, atendiendo a sus características físicas, se liofilizaron para mantener su composición original (Cornelis, R. 2005) y tamizaron todas las muestras para trabajar con fracciones representativas de los puntos muestreados en el estuario. La descripción de los dominios de textura descritos por Vilas que se corresponden con las estaciones muestreadas en este trabajo se recogen en la Tabla 3- 2.

Tabla 3- 2: Características de los sedimentos recolectados en Arousa.

	Datos descriptivos publicados (Vilas y col. 2005)	**Comentarios sobre las muestras recolectadas en Arousa**
1	F: Fango	
2	F(g): Fango con poca grava	Estación próxima a bateas.
3	F(g)/Fa(g): Fango con poca grava / Fango con arena y poca grava	
4	Agf: Arena con grava y fango	Estación próxima a bateas.
5	Fa(g): Fango con arena y poca grava	
6	Af(g): Arena con fango y poca grava	
7	Gaf: Grava con arena y fango	Rocas (no ha sido posible muestrear en ese punto en ninguna de las campañas).
8	Fg: Fango con grava	
9	Agf/Gaf: Arena con grava y fango / Grava con arena y fango	Estación próxima a bateas. Arena.
11	Gaf: Grava con arena y fango	
12	Agf: Arena con grava y fango	Arena.
13	Gaf: Grava con arena y fango	
14	Fa(g)/F(g): Fango con arena y poca grava / Fango con poca grava	
15	Gaf/Ag: Grava con arena y fango / Arena con grava	
16	Fg: Fango con grava	
18	F(g): Fango con poca grava	Estación próxima a bateas.
19	F(g)/Fa(g): fango con poca grava/Fango con arena y poca grava	
20	Fg: Fango con grava	
21	Fg/Fa(g): Fango con grava/ Fango con arena y poca grava	Estación próxima a bateas.
22	Fa(g): Fango con arena y poca grava	
23	Fg: Fango con grava	Estación próxima a bateas.
24	F: Fango	Fango fino. Estación próxima a área portuaria (Rianxo).

En este tipo de estudios ambientales el efecto del tamaño de partícula como variable del proceso se minimiza al separar la fracción fina de sedimento (Birch, G. F. y Taylor, S. E. 2000).

Tabla 3- 3: Datos georeferenciados y cronológicos de los muestreos realizados en la Ría de Arousa.

Nº de Muestreo	Fecha de muestreo			Estación del año			
1 (M1)	18/03/2002			Invierno			
2 (M2)	24/07/2002			Verano			
3 (M3)	07/02/2003			Invierno			
4 (M4)	08/07/2003			Verano			
Estación de muestreo	Latitud (N) /º ' "			Longitud (O) /º ' "			Profundidad / m
1	42	35	57	8	47	24	-7
2	42	35	37	8	49	36	-17
3	42	35	12	8	51	18	-25
4	42	34	30	8	53	54	-43
5	42	32	29	8	56	2	-53
6	42	29	60	8	57	0	-45
7	42	28	1	8	58	16	-60
8	42	31	22	8	58	18	-42
9	42	29	8	8	54	58	-20
11	42	30	51	8	50	3	-7
12	42	30	27	8	51	55	-19
13	42	30	55	8	54	47	-32
14	42	32	42	8	57	31	-37
15	42	33	20	8	58	39	-25
16	42	34	2	8	56	1	-33
18	42	35	37	8	50	34	-10
19	42	35	27	8	53	45	-35
20	42	36	14	8	55	35	-11
21	42	37	24	8	54	7	-16
22	42	36	54	8	50	47	-11
23	42	36	32	8	49	19	-11
24	42	37	29	8	48	55	-6

Por ello, el estudio de la concentración de cromo en sedimentos marinos de Arousa fue llevado a cabo con un tamaño de partícula normalizado. La fracción seleccionada para el estudio metálico fue la de sedimento de tamaño de partícula < 63 µm (Ure, A. M. y Davidson, C. M. 2002). Un diagrama que localiza las estaciones de muestreo de sedimentos marinos se recoge en la Figura 3- 2 y en la Tabla 3- 3, con los

respectivos datos cronológicos. Los sedimentos superficiales se muestrearon en la Ría de Arousa con una draga tipo cuchara, a bordo del Buque Oceanográfico Mytilus (ver Figura 3- 3).

Figura 3- 3: Muestreo de sedimento superficial a bordo del Buque Oceanográfico Mytilus realizado en la Ría de Arousa con una draga tipo cuchara.

No se han analizado muestras de sedimento de las estaciones 7, 10 y 17 por las razones que se indican a continuación. En primer lugar, no se han incluido en la Figura 3- 2 las estaciones que fueron inaccesibles al Buque Oceanográfico (estaciones 10 y 17). En segundo lugar, la estación 7 sí se incluye en la figura, pero en todas las campañas se ha encontrado áreas rocosas. Por último, debe tenerse en cuenta que, aunque la estación 23 está indicada en el mapa, no ha podido ser recolectada en la tercera campaña de muestreo.

A bordo del Buque Oceanográfico Mytilus y ayudados de una draga, se ha recogido sedimento superficial de cada estación, y se han tomado tres réplicas una vez recogida la draga del fondo. Todas las muestras de sedimento marino se han tomado con espátulas de polietileno para evitar contaminación metálica. Los sedimentos se almacenaron inmediatamente, tras su recolección, en botes de polietileno de cierre hermético a una temperatura de -22 ºC. El material de muestreo empleado había sido sometido previamente a un procedimiento de limpieza (ver descripción en apartado de material).

Las muestras se conservaron congeladas y se liofilizaron progresivamente. Se mantienen así las características iniciales de la muestra (Hoenig, M. 2001) y se facilita el tamizado posterior. Una vez eliminado totalmente el agua, se tamizaron para separar las fracciones de tamaño de partícula < 200 µm y < 63 µm. Durante la etapa de separación se ha empleado una torre de tamices de Nylon (200 y 63 µm) dispuestos en un separador mecánico (ver Figura 3- 4). Ambas fracciones se almacenaron en botes de polietileno a temperatura ambiente.

Figura 3- 4: Torre de tamices para el fraccionamiento automático de sedimentos liofilizados.

El esquema de trabajo se recoge en la Figura 3- 5.

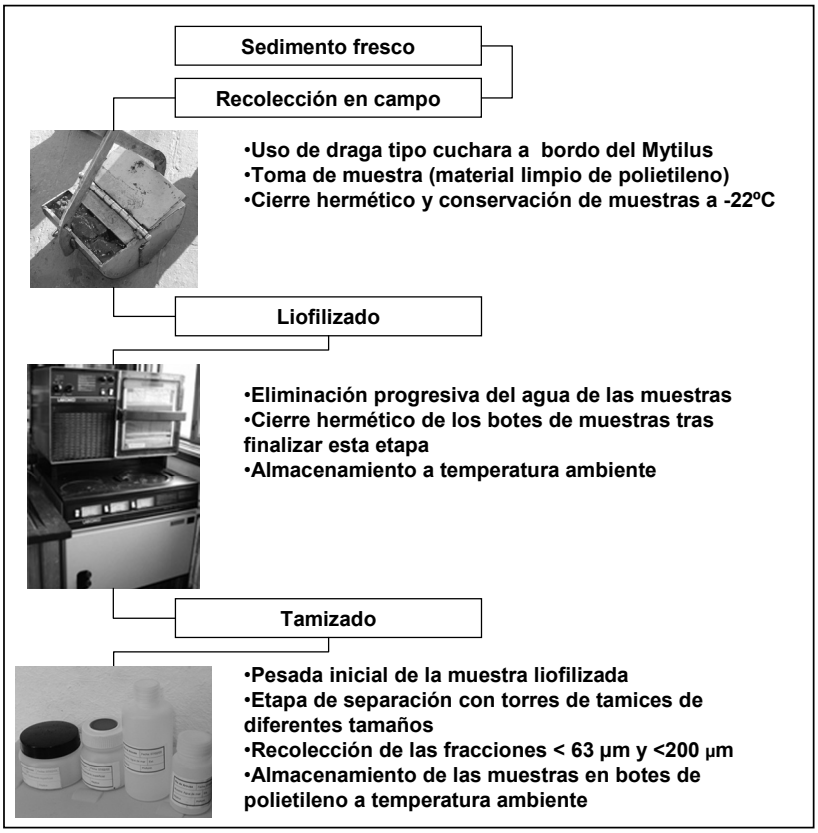

Figura 3- 5: Muestreo, almacenamiento y pretratamiento de sedimentos marinos de Arousa.

3. Procedimiento de preparación de suspensiones de sedimento

El sedimento liofilizado y tamizado ha sido sometido a un proceso preparativo previo a la medida espectroscópica de ETAAS.

Para optimizaciones y análisis de muestras se ha procedido como se describe a continuación. Se ha pesado en balanza analítica 0.1 g de cada réplica de sedimento marino liofilizado de tamaño de partícula < 63 µm. A cada muestra, introducida en un vial de polietileno, se le ha añadido 5 g de perlas de circonio y 3 ml de agua Milli-Q® para agitación mecánica durante 60 minutos. Durante esta etapa, y con la ayuda de un agitador mecánico de brazo lateral (ver Figura 3- 6), se ha conseguido reducir el tamaño de partícula a la vez que se ha generado una suspensión acuosa concentrada. Finalizada la agitación, las perlas de circonio se han separado y enjuagado, arrastrando los restos de la suspensión concentrada a un volumen fijo (10 ml† con agua Milli-Q®). La separación de las perlas se ha llevado a cabo en un embudo de cerámica de plataforma perforada.

Figura 3- 6: Agitador de brazo lateral para preparación simultánea de ocho suspensiones de sedimento marino.

El objetivo de este procedimiento ha sido la disminución del tamaño de partícula y la liberación parcial de cromo al medio acuoso antes de su análisis por ETAAS (Cal Prieto, M. J. y col. 2002).

Una vez preparada la suspensión de sedimento, a una porción de la misma se le ha añadido modificador de matriz, $Mg(NO_3)_2$, y surfactante, Tritón X-100, para conseguir unas concentraciones finales de 20 µg ml^{-1} y 0.1% respectivamente. El volumen final de esta porción, que se emplea para analizar en la cámara de grafito, es de 1 ml. La cantidad de surfactante ha sido optimizada en trabajos realizados con anterioridad por nuestro grupo de investigación (Bermejo Barrera, P. y col. 1994) y los resultados

† en muestras con mayor contenido en cromo la dilución ha sido mayor.

obtenidos para el uso de $Mg(NO_3)_2$ se recogen a continuación, en el apartado de optimización del programa electrotérmico.

Para el análisis de muestras se han tomado 50 µl de Tritón X-100 del 2% para obtener una concentración final en 1 ml de 0.1%. La cantidad de modificador empleada fue 100 µl de $Mg(NO_3)_2$ de 200 µg ml^{-1} para alcanzar una concentración final de 20 µg ml^{-1} en 1 ml. Se han cogido volúmenes variables de muestras de suspensión pretratadas con perlas de circonio, en función de las características de cada muestra. El volumen de suspensión se ha tenido en cuenta a la hora de estudiar calibrados y adiciones estándar.

La dilución final de las suspensiones en las etapas previas de optimización ha sido de 200 $\mu g_{sedimento}\ ml_{disolución}^{-1}$.

4. Optimización del programa electrotérmico

La optimización del programa electrotérmico ha tenido en cuenta el comportamiento de patrones acuosos y el comportamiento de suspensiones de sedimento variando las temperaturas de mineralización y atomización.

Se ha estudiado el comportamiento electrotérmico de ambos casos, patrones y suspensiones, dado que en este punto de desarrollo del método se desconoce si la matriz influye en la señal espectroscópica.

Las optimizaciones del programa electrotérmico con sedimento marino se han evaluado con 50 µl de suspensión de sedimento (descrito en el apartado 3), 50 µl de Tritón X-100 del 2% y 100 µl de $Mg(NO_3)_2$ de 200 µg ml^{-1}. Estas cantidades se llevaron a 1 ml con agua Milli-Q®, trabajando así con Tritón X-100 0.1% y $Mg(NO_3)_2$ 50 µg ml^{-1}.

Para la optimización de las curvas de mineralización y atomización con patrón acuoso, $Cr(NO_3)_3$, se ha llevado una cantidad de dicho patrón a un volumen final de 1 ml con las mismas cantidades de surfactante y modificador empleadas con la suspensión de sedimento marino.

4.1. Curvas de mineralización

Para obtener una destrucción de la matriz eficiente se aplicaron dos etapas de mineralización, una primera a 480ºC (Bermejo Barrera, P. y col. 1994) y la segunda cuya temperatura fue evaluada para un rango comprendido entre 1000ºC y 2000ºC. Esta doble etapa de mineralización aumenta la eficacia de destrucción de la matriz durante el proceso electrotérmico sin pérdida de analito.

Los datos de absorbancia corregida de patrón acuoso y suspensión con y sin modificador se recogen, a continuación (ver Figura 3- 7 y Figura 3- 8).

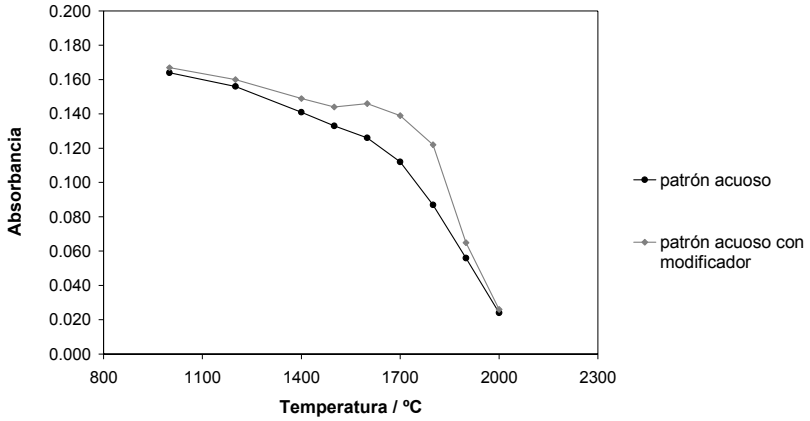

Figura 3- 7: Curvas de mineralización de patrón acuoso de $Cr(NO_3)_3$ 7 µg l^{-1} en ausencia y presencia de modificador de matriz [50 µg ml^{-1} de $Mg(NO_3)_2$].

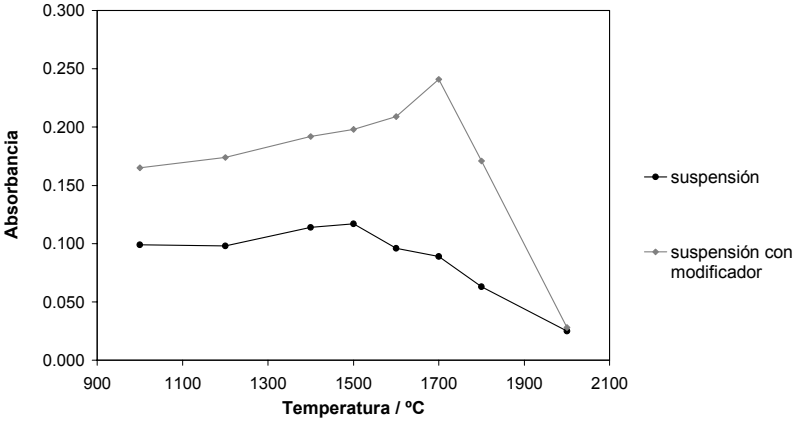

Figura 3- 8: Curvas de mineralización de suspensión de sedimento marino en ausencia y presencia de modificador de matriz [50 µg ml^{-1} de $Mg(NO_3)_2$].

Tanto para patrones acuosos como para suspensiones de sedimento marino, la temperatura óptima de la segunda etapa de mineralización es 1500 ºC en ausencia de modificador y 1700 ºC en su presencia. Por ello se ha decidido emplear modificador de matriz en la optimización de los restantes parámetros del programa de temperaturas.

4.2. Curvas de atomización

La temperatura de atomización ha sido estudiada entre 2000 ºC y 2700 ºC, para una temperatura de mineralización de 1700 ºC tanto con suspensiones como con patrones acuosos. Los resultados obtenidos se recogen en la Figura 3- 9.

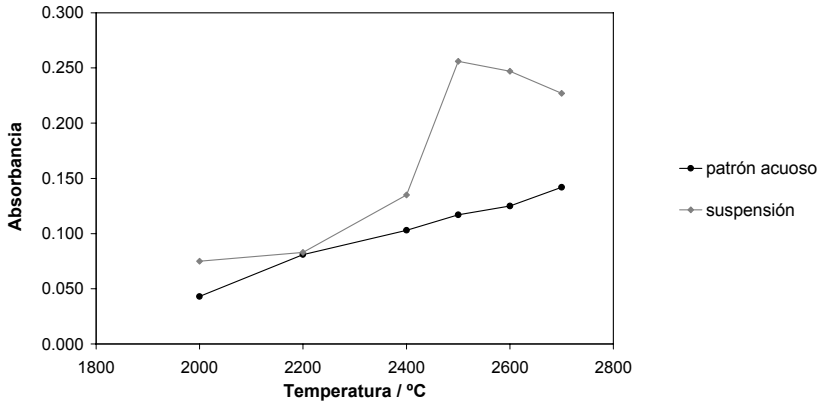

Figura 3- 9: Curvas de atomización de patrón acuoso [7µg l^{-1} $Cr(NO_3)_3$] y suspensión de sedimento marino con 50 µg ml^{-1} de $Mg(NO_3)_2$.

En ambos casos la temperatura óptima de atomización ha sido 2500 ºC, dado que a temperaturas superiores los picos obtenidos durante el proceso de atomización se distorsionan sensiblemente.

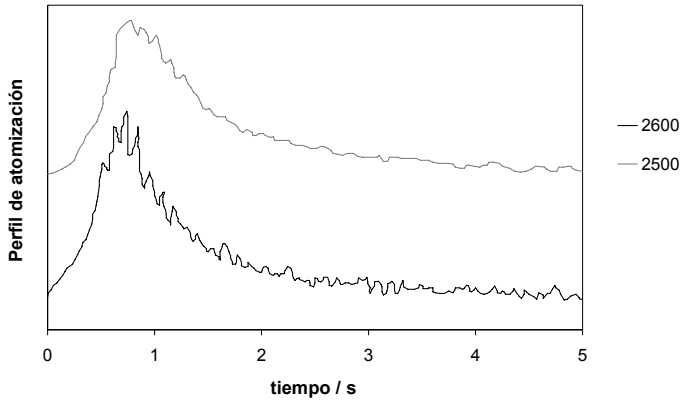

Figura 3- 10: Perfiles de picos de atomización de suspensión de sedimento con 50 µg ml^{-1} de $Mg(NO_3)_2$.

El cambio de perfil en la absorbancia corregida al aumentar la temperatura de atomización de una suspensión de sedimento marino puede apreciarse en la Figura 3- 10.

4.3. Optimización de la concentración de modificador de matriz

Se ha estudiado el efecto de $Mg(NO_3)_2$ como modificador de matriz en la determinación de cromo en suspensiones de sedimento marino y disoluciones acuosas del metal. Se preparó un rango de concentraciones de modificador desde 0 hasta 40 µg ml^{-1}. Los resultados se observan a continuación (ver Figura 3- 11).

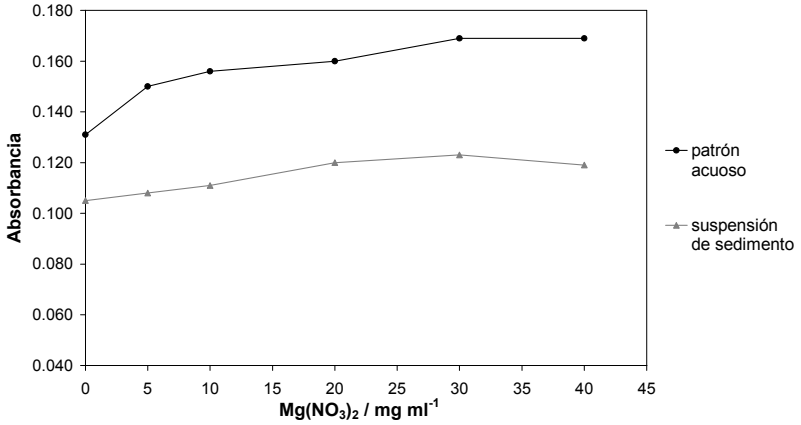

Figura 3- 11: Variación de absorbancia en la etapa de atomización del cromo con patrón acuoso [7 µg l^{-1} de $Cr(NO_3)_3$] y suspensión de sedimento marino variando la concentración de $Mg(NO_3)_2$.

Carlosena y col. en sus estudios ha encontrado que el $Mg(NO_3)_2$ es un modificador que estabiliza al cromo a temperaturas de mineralización en torno a 1500ºC (Carlosena, A. y col. 1998). La concentración óptima de modificador seleccionada fue de 20 µg ml^{-1}. Tanto con patrones acuosos como con suspensiones de sedimento marino, las concentraciones de modificador que superan este valor no mejoran la señal analítica del cromo, manteniéndose la absorbancia corregida prácticamente constante.

4.4. Programa optimizado

Una vez realizada la etapa preparativa de la suspensión de sedimento marino, se adoptaron los parámetros instrumentales indicados en la Tabla 3- 4 y la Figura 3- 12, tanto para el estudio de las características analíticas del método como para el análisis rutinario de muestras. El procedimiento de preparación de la suspensión se ha descrito en el apartado 3 de este capítulo.

Tabla 3- 4: Parámetros instrumentales empleados para la determinación de cromo por ETAAS.

ESPECTRÓMETRO				
Corriente de la lámpara			12 mA	
Rendija de paso			0.7 nm	
Volumen de inyección			20 µl	
Longitud de onda (λ)			357.9 nm	
Corrección de fondo			Lámpara de deuterio	
PROGRAMA ELECTROTÉRMICO				
Etapa	**Temperatura / ^{O}C**	**Rampa / s**	**Tiempo / s**	**Flujo de Ar /cm^3 min^{-1}**
Secado 1	100	10	20	300
Secado 2	200	25	25	300
Mineralización 1	480	10	10	300
Mineralización 2	1700	10	15	300
Atomización	2500	0	5	0 *
Limpieza	2600	1	2	300

* El flujo de Ar se interrumpe durante la etapa de atomización (5 segundos de registro de la señal).

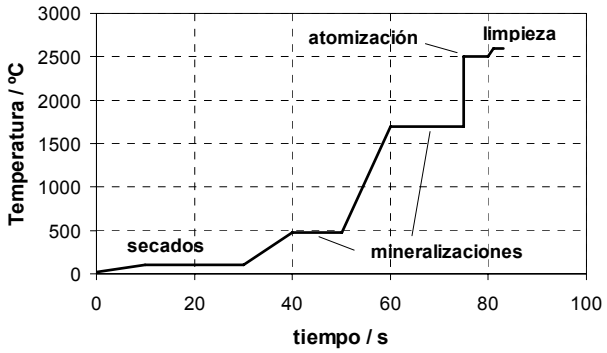

Figura 3- 12: Variación de temperatura del programa electrotérmico para análisis de cromo en suspensiones de sedimento marino.

Las suspensiones a las que se les aplicó este programa fueron medidas en disoluciones conteniendo Tritón X-100 0.1% y $Mg(NO_3)_2$ 20 µg ml^{-1}. Las disoluciones de modificador se han preparado a partir de una disolución patrón preparada de 1000 µg ml^{-1}.

5. Parámetros analíticos

Una vez optimizado el procedimiento de análisis de suspensiones de sedimento marino por ETAAS, se han estudiado las características analíticas del método.

En los siguientes apartados se ha evaluado el efecto matriz mediante rectas de calibrado y adición estándar, se ha estimado el límite de detección, límite de cuantificación y masa característica. También se ha estudiado la precisión y exactitud del método.

5.1. Rango lineal. Rectas de calibrado y adición estándar

En calibrados acuosos y adiciones estándar la relación lineal entre las concentraciones de cromo de disoluciones estándar (µg l^{-1}) y las señales de los picos de absorbancia se alcanza con concentraciones de hasta 10 µg l^{-1}. Sin embargo, con disoluciones de 5 µg l^{-1} de cromo inyectadas en el sistema de atomización electrotérmico, la sensibilidad ha resultado ser satisfactoria. Por ello se han empleado disoluciones de cromo de 5 µg l^{-1} como nivel máximo de calibrados y adiciones. Los puntos analizados en un calibrado acuoso fueron 0, 2, 3 y 5 µg l^{-1} con los volúmenes apropiados de $Mg(NO_3)_2$ (modificador) y Triton X-100 (surfactante). Las

concentraciones finales de modificador y surfactante han sido descritas en el apartado 4.3 de optimizaciones de este capítulo.

La adición estándar ha sido realizada con una suspensión de sedimento marino y patrones acuosos de cromo dentro del mismo rango utilizado en el calibrado acuoso. Las ecuaciones obtenidas se recogen en la Tabla 3- 5:

Tabla 3- 5: Rectas de calibrado acuoso y adición estándar de suspensión de sedimento marino.

	Recta de calibrado	Recta de adición estándar
Rango de concentraciones	0, 2, 3 y 5 µg l^{-1}	0, 2, 3 y 5 µg l^{-1}
Ecuación lineal	A= 0.0011 + 2.62 x 10^{-2} C	A= 0.0642+ 2.62 x 10^{-2} C
Coeficiente de correlación	r= 0.9977	r= 0.9992

Los patrones empleados en calibrados y adiciones son disoluciones acuosas preparadas diariamente a partir de una disolución de $Cr(NO_3)_3$ comercial y tras una dilución intermedia. La adición estándar se elaboró a partir de una suspensión de sedimento marino.

La recta de adición se ha medido con una suspensión de sedimento marino preparado en base al procedimiento descrito en el apartado 3 de este capítulo, y aplicando las condiciones recogidas en el apartado 4.4 (programa optimizado). En dichos apartados se indican las cantidades de modificador de matriz y surfactante empleados. Se han tomado en cada punto de la adición 50 µl de suspensión de sedimento junto con $Mg(NO_3)_2$, con Triton X-100 y las cantidades pertinentes de patrón de cromo.

En las ecuaciones de la Tabla 3- 5, A es la absorbancia y C la concentración de cromo en µg l^{-1}. Aplicando un test t (95% de nivel de significación) de comparación de pendientes (Blanco, M. y col. 1994), no se han observado diferencias significativas, lo que simplifica el análisis de este tipo de muestras, dado que las pendientes de calibrado y adición son comparables y es posible cuantificar con calibrados.

El análisis de muestras posterior ha sido realizado mediante calibrados acuosos.

5.2. Sensibilidad del método

Se ha estudiado la sensibilidad del método a través de tres parámetros: límite de detección (LOD), límite de cuantificación (LOQ) y masa característica (m_o) (Keith, L. H. y col. 1983).

El límite de detección se define como la concentración mínima estadísticamente distinguible de una señal de blanco. Para un nivel de confianza del 99% se calcula a partir de la siguiente expresión: LOD = 3 x SD / m, en donde SD es la desviación estándar de las medidas de blanco tomadas, y m la pendiente del calibrado o adición empleados en el cálculo. El límite de cuantificación (LOQ) es la concentración mínima que cuantificar con un nivel de confianza específico. Para un nivel de confianza del 99% el LOQ es 10 x SD / m.

Los límites de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ) obtenidos son 0.20 µg l^{-1} y 0.66 µg l^{-1} respectivamente. Los cálculos de los mismos se han realizado a partir de diez medidas de un blanco‡ de suspensión.

Los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) de una muestra de sedimento, de 0.1 g de masa, diluyendo la primera suspensión a 10 ml y cogiendo 25 µl para preparar un suspensión final con modificador y surfactante de 1 ml han sido respectivamente 0.80 y 2.65 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Estos límites pueden mejorarse empleando un mayor volumen de suspensión y preparando una suspensión final más concentrada junto con surfactante y modificador.
La masa característica, m_o, se define como la masa de analito, expresada en picogramos, que se necesita para registrar una señal de 0.0044 de absorbancia por ETAAS. El valor obtenido ha sido 3.5 ± 0.3 pg.

5.3. Precisión y exactitud

La matriz de la muestra y ciertos factores de origen instrumental influyen en la medida, y por tanto en la repetitividad (precisión de la inyección de una misma suspensión). Para su cálculo se han analizado diez réplicas de suspensión elaboradas a partir de una misma muestra de sedimento marino.

‡ Los blancos de suspensiones de sedimento se han elaborado agitando mecánicamente 3 ml de agua Milli-Q®, junto con 5 g de perlas de circonio, durante 60 minutos. El blanco se ha llevado a un volumen final de 10 ml. Para la medida por ETAAS se ha cogido 25 µl de ese blanco y llevado a 1 ml junto con las cantidades de Triton X-100 y $Mg(NO_3)_2$ descritas en el procedimiento experimental.

El resultado ha sido de 3.9% con una muestra de concentración de 6.3 μg l^{-1} de cromo.

La reproducibilidad del procedimiento completo ha sido evaluada mediante la medida de cinco suspensiones preparadas siguiendo el procedimiento completo a partir de una misma muestra de sedimento marino. La precisión del procedimiento total obtenida ha sido de 5.3%.

Para el estudio de la exactitud del método se ha analizado el material de referencia certificado PACS-2, cuyo contenido en cromo es de 90.7 ± 4.6 μg_{Cr} g^{-1}. El material de referencia y el blanco han sido medidos por triplicado, es decir, se han pesado y preparado tres suspensiones de material de referencia para su análisis.

El resultado obtenido, expresado como valor promedio ± desviación estándar ha sido de 91 ± 2 μg g^{-1}. Para la exactitud del método también se ha calculado la recuperación analítica, que varió entre 99, 102 y 98% para 2, 3 y 5 μg l^{-1} de cromo añadido. La recuperación analítica obtenida ha sido de 100 ± 2%.

6. Análisis de muestras

6.1. Análisis total de cromo en los sedimentos de Arousa

Tras finalizar las optimizaciones del método de análisis mediante suspensiones de sedimento marino y el estudio de sus características analíticas, se llevó a cabo la determinación de la concentración de cromo en sedimentos marinos procedentes de la Ría de Arousa.

La localización de las estaciones de muestreo se indica en la Figura 3- 2.

Los sedimentos marinos de Arousa fueron recolectados en las cuatro campañas durante el 2002 y el 2003. La doble recolección anual (verano e invierno) ha servido para estudiar posibles cambios estacionales en la concentración metálica total de los sedimentos marinos. En cada estación se recogieron tres muestras de sedimento marino para la determinación del contenido total de cromo, así como para otros estudios de especiación y biodisponibilidad descritos en capítulos posteriores de este trabajo.

La distribución de la concentración de cromo total en los sedimentos a lo largo del estuario ha sido representada en mapas de contorno en cada uno de los muestreos. En el cálculo de los contornos de la ría se ha aplicado el método de interpolación denominado 'kriging' de acuerdo con las recomendaciones para este tipo de aplicación medioambiental (Cressie, N. A. C. 1993). Los resultados del contenido total del metal se recogen a continuación en las tablas de los siguientes sub-apartados y en los mapas de cada muestreo, pudiendo observar así una variación temporal y espacial que sufre el metal (ver Figura 3- 13, Figura 3- 14, Figura 3- 15 y Figura 3- 16).

Los mapas de distribución obtenidos y los datos tabulados de los análisis se recogen a continuación por orden cronológico.

6.1.1. Sedimentos del muestreo de invierno de 2002

En este apartado se encuentran en la Figura 3- 13 y en la Tabla 3- 6 los resultados obtenidos para los análisis de cromo total en los sedimentos marinos recolectados en Arousa durante el muestreo de invierno de 2002.

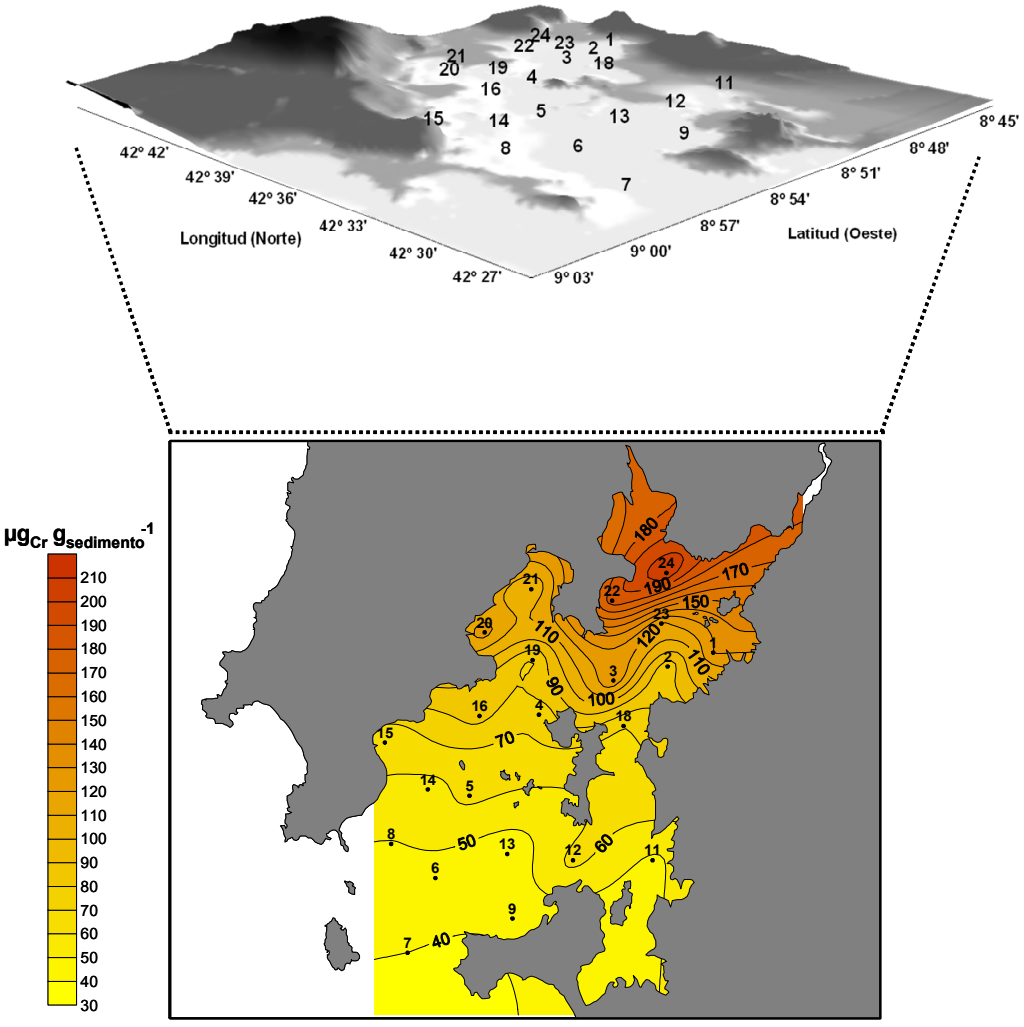

Figura 3- 13: Distribución de cromo total a lo largo de la Ría de Arousa en muestras recolectadas en la campaña de invierno de 2002 obtenida mediante análisis de suspensiones de sedimento por ETAAS.

Tabla 3- 6: Resultados de cromo total analizado en la fracción de sedimento < 63 µm durante el primer muestreo de la Ría de Arousa aplicando el procedimiento optimizado de análisis de suspensiones.

	Muestreo 1: invierno de 2002		
estación	**Cr / µg g^{-1}**	**SD / µg g^{-1}**	**CV / %**
1	131	14	10.4
2	82	5	6.0
3	130	7	5.4
4	72	5	6.9
5	63	6	9.9
6	47	2	4.2
8	49.6	1.2	2.4
9	41.5	1.6	3.9
11	48	4	8.2
12	63	3	4.6
13	43	5	12.8
14	56	4	7.1
15	61	3	4.8
16	84	3	3.7
18	70	4	6.2
19	78	3	4.3
20	125	10	8.3
21	99	3	3.4
22	187	15	8.2
23	118	5	4.2
24	209.5	1.4	0.7

En el primer muestreo se obtuvieron los valores de cromo total más bajos de las cuatro campañas llevadas a cabo en la Ría de Arousa.

La zona de mayor concentración se centra en la estación 24, próxima al puerto de Rianxo, superando los 200 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Le sigue en orden decreciente de concentración metálica la estación 22 (187 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) y las estaciones 1, 3, 20 y 23. Estas cuatro últimas estaciones ya presentan contenidos de cromo inferiores a 135 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Por tanto, el área de mayor contenido en cromo es la más interna y norte de la ría en donde las corrientes marinas probablemente surten un efecto menos intenso que en mar abierto.

Las estaciones de menor nivel metálico han sido las siguientes: 9, 13, 6, 11 y 8, nombradas por orden creciente de contenido metálico, con concentraciones inferiores a 50 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Le siguen las estaciones 14, 15, 5 y 12, también citadas por

orden creciente de contenido metálico, con valores en torno a 60 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Esta zona de menor concentración es la más próxima al Océano Atlántico y la más influenciada por las corrientes marinas.

Otro conjunto de estaciones son las siguientes: 21, 16, 2, 19, 4 y 18. Se han nombrado por orden decreciente de concentración y se sitúan con valores de cromo entre 100 y 70 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Este grupo de puntos de muestreo, que presentan valores metálicos intermedios, pueden localizarse geográficamente en el área central de la ría.

Una simple agrupación de las estaciones por áreas geográficas ha demostrado que en este muestreo la concentración máxima metálica se encuentra en la zona más interna y norte de la ría, sufriendo una dilución conforme nos acercamos al Océano Atlántico.

Se ha considerado el efecto de las corrientes marinas en la Ría de Arousa sobre los resultados de los análisis. La orientación y direcciones de entrada y salida de dichas corrientes apuntan a una dilución a favor del flujo de salida del agua fluvial, que se ve frenada por las corrientes de entrada en el estuario. Las direcciones de estas corrientes y el efecto protector de la isla de Sálvora se han comentado en el primer capítulo. Además, la posición de la isla de Arousa dentro de la ría protege la ribera sur de menor profundidad.

Comparando las orillas de la ría, la norte, además de ser la más profunda, es la de mayor contenido metálico y la sur, por el contrario, la menos contaminada y la de estaciones menos profundas. En relación con la distancia al Océano Atlántico, se observa que las corrientes de entrada en la ría favorecen la retención del metal en la zona interna. La dilución de cromo es acusada conforme nos distanciamos de esta área hasta llegar a concentraciones de cromo próximas a los valores publicados de fondo. Los niveles de cromo empleados como referencia de fondo han servido para cuantificar más adelante el factor de contaminación de sedimentos de la Ría de Arousa y la variación de estos factores de contaminación a lo largo del tiempo.

Los puntos de muestreo que han presentado una concentración de cromo menos homogénea han sido las estaciones 13 y 1 (CV >10%). En la primera de ellas se ha obtenido uno de los niveles de cromo más bajos (43 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) y en la segunda uno de los valores pertenecientes al grupo de mayor concentración (131 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). Si atendemos a los resultados de cromo en el resto de

estaciones vemos que las estaciones de mayor contenido metálico no son las muestras que mayor desviación estándar presentan y viceversa, que las estaciones de menor contenido no son las de menor desviación estándar en el análisis. Por ello, el coeficiente de variación ha reflejado básicamente la heterogeneidad existente en las muestras medioambientales tras normalizar el tamaño de partícula durante la operación de tamizado.

Se ha comentado en este apartado que la zona próxima al puerto de Rianxo (estación 24) ha presentado los mayores niveles de cromo. A este respecto también se puede decir que las estaciones próximas a otros puertos de mar como Pobra do Caramiñal, Cambados o Vilagarcía de Arousa presentan concentraciones variables y coherentes con su localización geográfica respecto a la ría (orilla norte o sur y distancia al Océano Atlántico). No existe en este muestreo una correlación directa entre la proximidad de la zona analizada a un puerto de mar próximo con el contenido metálico.

El valor mínimo analizado en los sedimentos de cromo ha sido de 41 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y la diferencia entre la estación de mayor y la de menor contenido ha sido de 168 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. En esta campaña se ha obtenido el mínimo rango de contenido metálico entre estaciones cuantificadas en los sedimentos de la Ría de Arousa.

Otra observación a tener en cuenta es la proximidad de la estación muestreada con bateas de mejillones. La Ría de Arousa es conocida por su producción mejillonera, que alcanza un porcentaje elevado en la producción mundial. Las estaciones de sedimento que se han situado muy próximas a este tipo de explotaciones acuícolas han sido las siguientes: 2, 4, 9, 18, 21 y 23. De ellas, la estación 9 ha presentado un menor contenido de metal (41 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) y el resto de estaciones han mostrado concentraciones variables entre 70 y 117 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. En este primer muestreo no ha influido la cercanía a bateas en la cantidad de cromo analizado en los sedimentos aún cuando cabía esperar que los depósitos procedentes de estas zonas (aporte de concha y restos biológicos de mejillón) pudieran aumentar los niveles de cromo a los sedimentos marinos. El olor de los sedimentos muestreados en estas proximidades es muy característico y se atribuye a los restos mencionados.

6.1.2. Sedimentos del muestreo de verano de 2002

A continuación, en la Figura 3- 14 y en la Tabla 3- 7 se recogen los resultados obtenidos para los análisis de cromo total en los sedimentos marinos recolectados en Arousa durante el muestreo de verano de 2002.

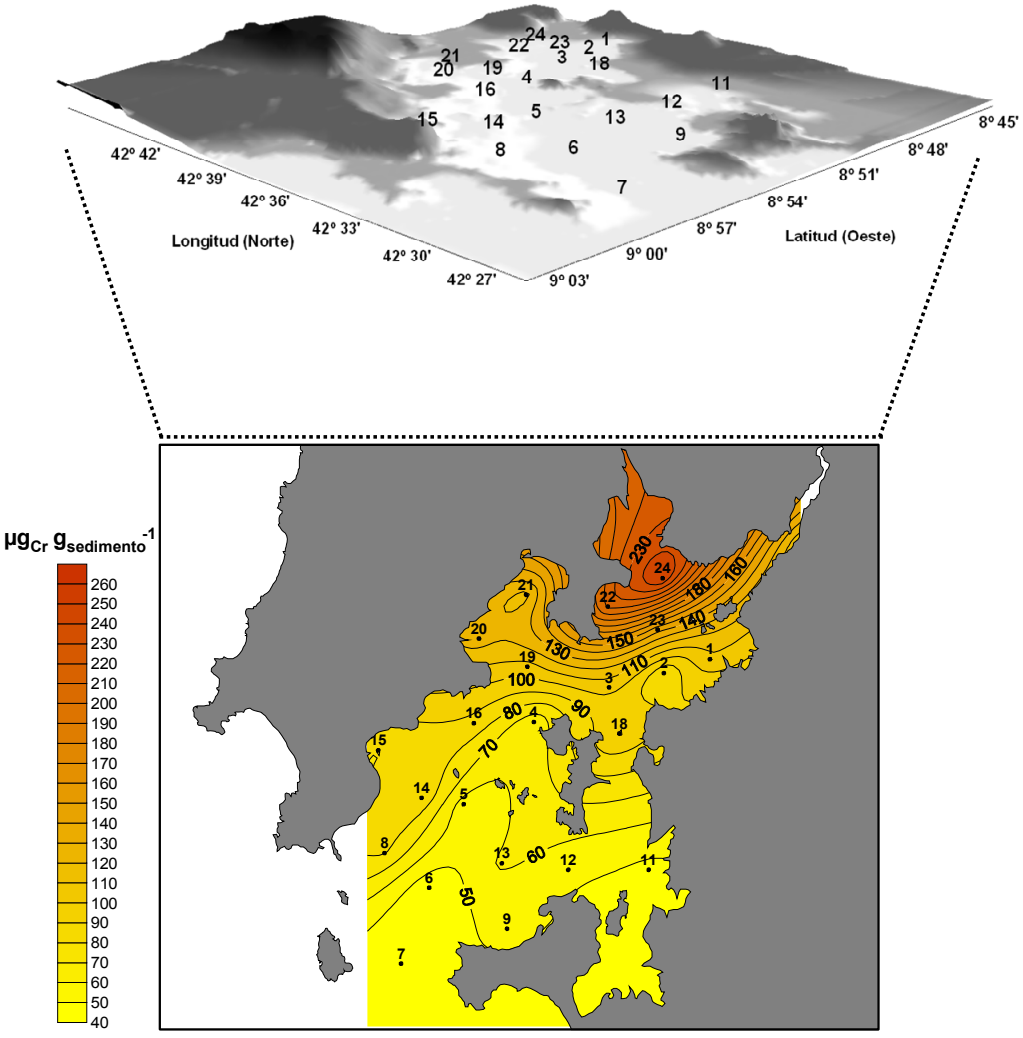

Figura 3- 14: Distribución de cromo total a lo largo de la Ría de Arousa en muestras recolectadas en la campaña de verano de 2002 obtenida mediante análisis de suspensiones de sedimento por ETAAS.

Tabla 3- 7: Resultados de cromo total analizado en la fracción de sedimento < 63 µm durante el segundo muestreo de la Ría de Arousa aplicando el procedimiento optimizado de análisis de suspensiones.

	Muestreo 2: verano de 2002		
estación	**Cr / µg g^{-1}**	**SD / µg g^{-1}**	**CV / %**
1	108	7	6.7
2	79	7	9.1
3	104	6	6.1
4	62	3	4.8
5	55	3	4.6
6	41.8	1.9	4.6
8	81	4	5.5
9	54.0	1.2	2.2
11	47.4	1.3	2.7
12	52	4	8.5
13	62	5	7.9
14	89	3	3.9
15	80	2	2.7
16	87	4	4.5
18	102	2	1.9
19	105	2	1.9
20	125	5	4.3
21	116	9	7.9
22	213	14	6.4
23	143	5	3.7
24	251	13	5.0

En los resultados obtenidos de las muestras de la segunda campaña, la zona de mayor concentración también se centra en la estación 24 con 250 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. El nivel de cromo en esta estación, respecto al anterior muestreo, ha aumentado un 20%.

Se sigue observando que la estación 22 es la segunda con mayor contenido metálico, con una concentración de cromo ligeramente superior a la primera campaña (213 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). En relación a la estación 24, la estación 22 ha aumentado su contenido de cromo en menor proporción (14%).

En general, en la campaña de verano de 2002 de Arousa se ha observado un incremento variable de metal en función de la estación analizada. Las estaciones que han superado el incremento de la estación 24 han sido por orden decreciente las siguientes: las estaciones 8, 14, 13, 18, aumentando en cromo desde un 63% hasta

un 45% respectivamente, y las estaciones 19, 15, 9 y 23 aumentando de un 35% a un 22%. Por el contrario, en las muestras de las estaciones 6, 5, 4, 1, 12 y 3 los niveles de cromo son inferiores al primer muestreo (descenso que supera el 10%).

En las muestras de esta campaña, el coeficiente de variación existente en los análisis de cada estación es relativamente bajo, considerando la naturaleza del tipo de muestras cuantificadas. Esto quiere decir que la heterogeneidad es mínima en las muestras medioambientales tras el normalizado del tamaño de partícula durante la operación de tamizado. Las muestras son en esta campaña, por tanto, homogéneas (CV < 10%).

Si atendemos a los resultados obtenidos por estaciones analizadas, de nuevo, la zona sur y más próxima al Océano Atlántico (estaciones 13, 5, 9, 12, 11 y 6, citadas por orden decreciente de concentración) es la de niveles de cromo más bajos. Los valores cuantificados en este grupo de muestras van desde 61 hasta 41 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Al igual que en el anterior muestreo, la zona de mayor contenido en cromo sigue siendo la que corresponde a la misma área situada en el interior de la ría hacia el norte (estaciones 24, 22, 23, 20, 21 y 1, citadas por orden decreciente de metal). En esta zona más interna la estación 2 parece presentar un comportamiento distinto a las estaciones que la rodean y muestra un contenido de cromo similar al área central de la ría.

Comparando las orillas de la ría, la norte sigue siendo la de mayor contenido metálico y la sur la menos contaminada. Esta disminución de concentraciones más acusada en la orilla sur que en la norte conforme avanzamos desde el interior de la ría hasta el Océano Atlántico se aprecia claramente en el avance de las líneas de concentración de la Figura 3- 14. Esta observación es común al primer muestreo (ver en la Figura 3- 13 el avance de las líneas de concentración de cromo diagonalmente en dirección al Océano Atlántico).

El valor mínimo analizado en los sedimentos de cromo ha permanecido prácticamente constante (41 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). La diferencia entre la estación de mayor y la de menor contenido en cromo en este muestreo ha crecido. Esta diferencia alcanza 208 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$.

El aumento de la concentración de cromo conforme disminuye la distancia a zonas de bateas de mejillones o áreas cercanas a puertos de mar se ha considerado inapreciable.

De las estaciones de sedimento próximas a bateas (estaciones 2, 4, 9, 18, 21 y 23), la estación 9 ha sido la que ha presentado de nuevo un menor contenido de metal (53 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) y el resto de estaciones ha resultado con concentraciones variables entre 62 y 143 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. En este muestreo sigue sin influir la cercanía a bateas en la cantidad de cromo analizado en los sedimentos y se ha mantenido globalmente la distribución de metal a lo largo de las distintas estaciones de la ría.

6.1.3. Sedimentos del muestreo de invierno de 2003

A continuación, en la Figura 3- 15 y en la Tabla 3- 8 se recogen los resultados obtenidos para los análisis de cromo total en los sedimentos marinos recolectados en Arousa durante el muestreo de invierno de 2003.

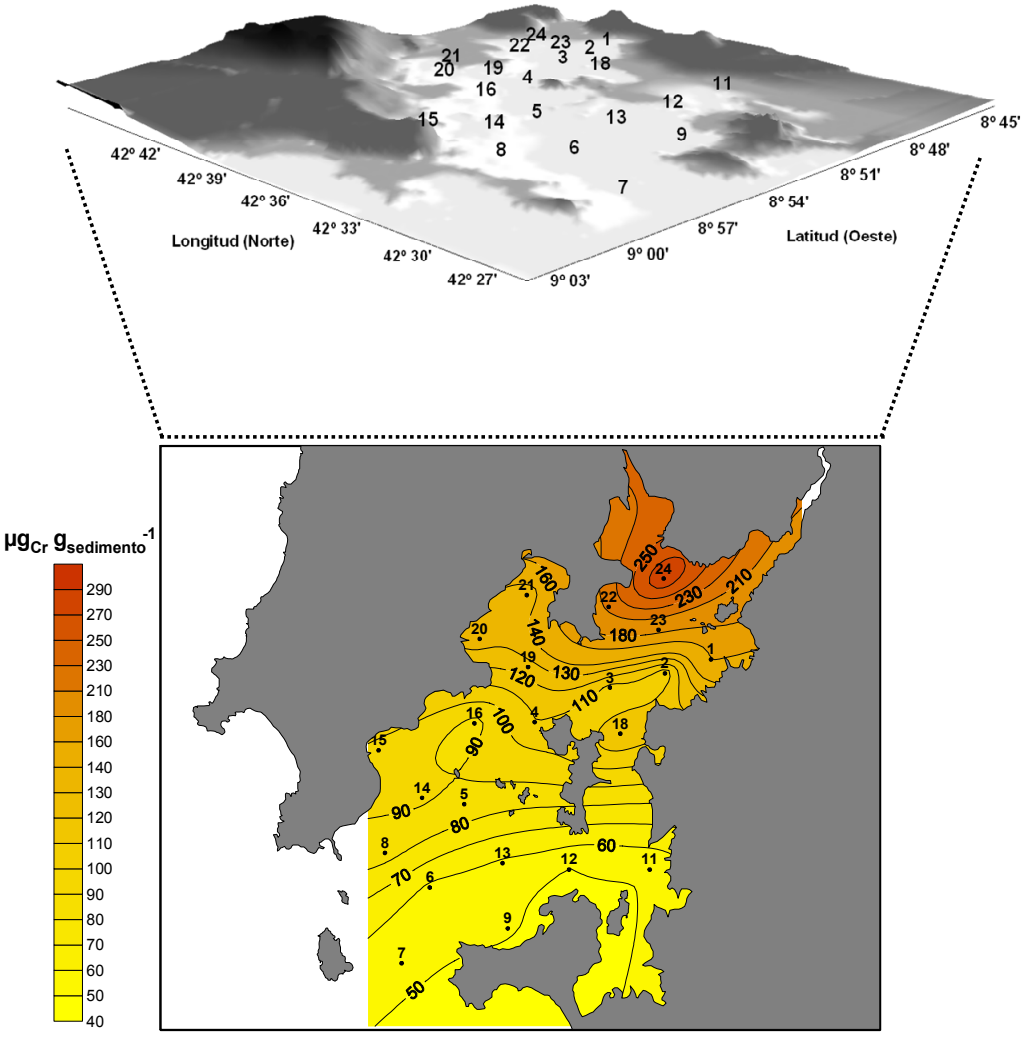

Figura 3- 15: Distribución de cromo total a lo largo de la Ría de Arousa en muestras recolectadas en la campaña de invierno de 2003 obtenida mediante análisis de suspensiones de sedimento por ETAAS.

Tabla 3- 8: Resultados de cromo total analizado en la fracción de sedimento < 63 µm durante el tercer muestreo de la Ría de Arousa aplicando el procedimiento optimizado de análisis de suspensiones.

	Muestreo 3: invierno de 2003		
estación	**Cr / µg g^{-1}**	**SD / µg g^{-1}**	**CV / %**
1	161	14	8.5
2	103	3	3.0
3	106	3	3.2
4	110	6	5.6
5	87	4	4.1
6	58	3	5.7
8	84	5	6.3
9	51	2	3.9
11	52	3	5.1
12	50	8	15.6
13	58	4	7.3
14	91	4	4.8
15	97	2	2.3
16	86.1	1.7	1.9
18	120	9	7.9
19	126	3	2.6
20	136	3	2.4
21	129.1	0.3	0.3
22	215	14	6.5
23	-	-	-
24	290	19	6.7

Esta ha sido la única campaña en donde no ha sido posible recoger sedimento de la estación 23 por problemas durante la misma.

Los resultados obtenidos muestran de nuevo que la zona de mayor concentración se centra en la estación 24, con 289 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. A excepción de la estación 23, que no ha podido ser analizada, el grupo de estaciones de mayor concentración son coincidentes con el grupo mencionado en el segundo muestreo: las estaciones 24, 22, 1, 20, 21 y 19 (ordenadas de forma decreciente de concentración desde 289 hasta 125 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$).

Las cuatro estaciones de menor contenido metálico vuelven a ser comunes al segundo muestreo. Estas son las siguientes estaciones: 6, 11, 9 y 12, citadas por orden decreciente de concentración y con valores entorno a 50 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$.

En las muestras de esta campaña, el coeficiente de variación existente en los análisis de cada estación es relativamente bajo, considerando la naturaleza del tipo de muestras cuantificadas. La excepción es la estación 12 con un coeficiente de un 15% y la concentración de cromo más baja de la campaña de invierno de 2003. La fracción de sedimento de esta estación con tamaño de partícula < 63 µm ha sido muy baja. Al existir una cantidad de muestra de esta fracción pequeña no cabe esperar una homogeneidad y representatividad elevada en dicha fracción.

El valor mínimo analizado en los sedimentos de cromo ha permanecido prácticamente constante (49 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). La diferencia entre la estación de mayor y la de menor contenido en cromo en este muestreo es de 239 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Esta diferencia, respecto a los anteriores muestreos ha seguido aumentado gradualmente (un rango de 168 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ en el primer muestreo y de 208 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ en el segundo muestreo).

Comparando de nuevo las orillas de la ría, la norte sigue siendo la de mayor contenido metálico y la sur la de menor contenido en cromo. Esta disminución de concentraciones más pronunciada en la orilla sur que en la norte conforme avanzamos desde el interior de la ría hasta el Océano Atlántico se aprecia claramente en el avance de las líneas de concentración de la Figura 3- 15 . Este comportamiento es común al primer y segundo muestreo. En conjunto se puede apreciar el avance de las líneas de concentración de cromo diagonalmente en dirección al Océano Atlántico y el aumento de la concentración de dichas líneas para cada posición de la ría conforme avanzamos en el tiempo (del primer muestreo al segundo y tercero).

De las estaciones de sedimento próximas a bateas de las que se ha extraído sedimento marino (estaciones 2, 4, 9, 18 y 21), la estación 9 ha sido la que ha presentado de nuevo un menor contenido de metal (49 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) e incluso con valores ligeramente inferiores a la segunda campaña. El resto de estaciones ha resultado con concentraciones variables entre 102 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ (en el segundo muestreo 62 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) y 129 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ (en el segundo muestreo 163 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). El valor mínimo de cromo ha aumentado en estas estaciones y el máximo ha disminuido. En este muestreo sigue sin influir la cercanía a bateas en la cantidad de cromo analizado en los sedimentos y se ha corroborado la distribución de metal a lo largo de las distintas estaciones de la ría como en campañas anteriores, aumentando en general el contenido total del metal en los sedimentos.

6.1.4. Sedimentos del muestreo de verano de 2003

A continuación, en la Figura 3- 16 y en la Tabla 3- 9 se recogen los resultados obtenidos para los análisis de cromo total en los sedimentos marinos recolectados en Arousa durante el muestreo de verano de 2003.

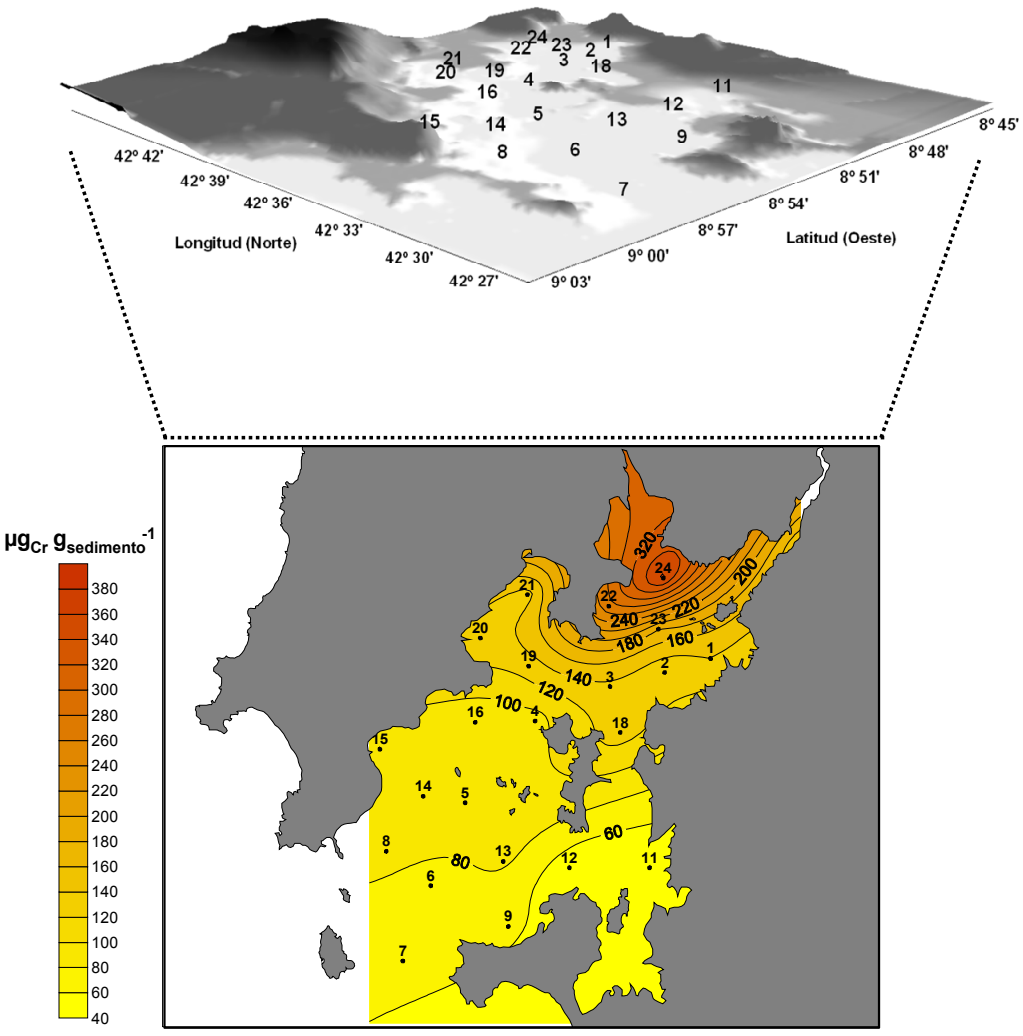

Figura 3- 16: Distribución de cromo total a lo largo de la Ría de Arousa en muestras recolectadas en la campaña de verano de 2003 obtenida mediante análisis de suspensiones de sedimento por ETAAS.

Tabla 3- 9: Resultados de cromo total analizado en la fracción de sedimento < 63 µm durante el cuarto muestreo de la Ría de Arousa aplicando el procedimiento optimizado de análisis de suspensiones.

	Muestreo 4: verano de 2003		
estación	**Cr / µg g^{-1}**	**SD / µg g^{-1}**	**CV / %**
1	140	15	10.8
2	123	8	6.2
3	136	5	3.8
4	92	3	3.1
5	93	4	4.1
6	69.7	1.0	1.4
8	87	3	3.1
9	67	5	7.9
11	41.9	1.4	3.3
12	45.4	0.3	0.7
13	83.7	1.0	1.2
14	85	4	4.1
15	87	3	3.6
16	86	3	3.3
18	130	8	6.3
19	129	5	3.9
20	138	3	2.4
21	131	4	2.7
22	273	27	9.9
23	180	13	7.1
24	365	47	12.8

En el cuarto de los muestreos se obtuvieron los valores de cromo total más elevados de las cuatro campañas llevadas a cabo en la Ría de Arousa. El crecimiento gradual en concentración de los sedimentos recolectados demuestra que este tipo de muestras actúan como sumidero metálico en el entorno medioambiental de la ría. La zona de mayor concentración se centra de nuevo en la estación 24 (365 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) con un aumento progresivo desde el inicio del estudio. De hecho el contenido de cromo de la estación 24 ha crecido un 26% respecto al tercer muestreo, un 45% respecto al segundo y un 75% respecto al primer muestreo.

En general el área con concentración metálica elevada ha crecido sensiblemente respecto a campañas anteriores (ver Figura 3- 16). Esta misma observación se discutirá al calcular el grado de contaminación por cromo de los sedimentos de Arousa y su evolución temporal en el apartado 6.2. Consecuentemente ha disminuido

la zona de menor contenido en cromo, manteniendo en general los valores más bajos en la zona sur, próxima al Océano Atlántico.

En los comentarios de los tres anteriores muestreos no se ha mencionado una característica detectada en la estación 12. Durante todas las campañas, en esta zona de la ría se ha recogido muestras de sedimento con características arenosas. Globalmente, y considerando los cuatro muestreos, la fracción de sedimento de tamaño de partícula < 63 μm de la estación 12 ha sido de 2.3 ± 0.3%. Este porcentaje se ha considerado relativamente bajo en comparación con otras muchas estaciones que superan el 40% de masa de este tamaño de partícula en relación a la masa de muestra de sedimento recolectada una vez liofilizada. Las características de los sedimentos de esta estación son acordes con su contenido metálico, relativamente bajo en todas las campañas y mínimo en la cuarta campaña (45 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) respecto a muestreos anteriores.

La zona de mayor concentración se centra en la estación 24, próxima al puerto de Rianxo, con los valores de cromo comentados. Le sigue en orden decreciente de concentración metálica las estaciones 22, 23, 1, 20, 3, 21, 18, 19 y 2. Este grupo de estaciones presenta contenidos de cromo que van desde 273 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ a 122 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Por tanto, el área de mayor contenido en cromo en la zona más interna y norte de la ría ha crecido en número de estaciones tanto en la tercera como en la cuarta campaña respecto a las dos primeras.

Las estaciones de menor nivel metálico han sido las siguientes: 13, 6, 9, 12 y 11 nombradas por orden decreciente de contenido metálico, con concentraciones que varían desde 83 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ hasta 41 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Este grupo de estaciones, a excepción de la estación 12 en el primer muestreo, es el conjunto de puntos de muestreo de menor contenido en cromo en todas las campañas. Si bien se debe apuntar que en ellas el contenido de cromo va aumentando con el tiempo, no ocurre así nuevamente en la estación 12.

El conjunto de estaciones con concentraciones intermedias ha sido el siguiente: 5, 4, 8, 15, 16 y 14. Esta área se aproxima más al Océano Atlántico y se sitúa próxima a la orilla norte de la ría. Sus concentraciones presentan un valor promedio de 88 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$.

Con esta nueva agrupación de estaciones se observa claramente el aumento de la concentración de cromo en los sedimentos y su transporte desde el interior de la ría

en dirección al Océano. La dilución metálica en los sedimentos ha disminuido con el tiempo.

El valor mínimo analizado en los sedimentos de cromo ha descendido a 41 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. La diferencia entre la estación de mayor y la de menor contenido en cromo en este muestreo es de 323 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$, el mayor rango obtenido de todas las campañas. Esta diferencia refleja que existen estaciones que apenas han aumentado de concentración de cromo, si bien no han llegado a disminuir su contenido, mientras que otras han aumentado notablemente. Este es el caso de las estaciones 12 y 24 respectivamente.

En las muestras de esta campaña, el coeficiente de variación existente en los análisis de cada estación es aceptable. Las estaciones menos homogéneas han sido la 1 (CV=11% y una concentración promedio de 140 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) y la 24 (CV=13% y una concentración promedio de 365 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$).

Las estaciones próximas a bateas de mejillones (2, 4, 9, 18 y 21) presentan concentraciones promedio entre 92 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y 130 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. En todos los muestreos se ha descartado, por tanto, un posible aporte de cromo procedente de los restos de mejillón que se postulaba inicialmente.

Respecto a los puertos de mar, la conclusión ha sido idéntica, sin correlación entre contenido metálico y distancia a los distintos puertos de mar. La única estación cercana a puerto que ha presentado un crecimiento de cromo ha sido la estación 24. Este crecimiento y sus distintos contenidos cuantificados a lo largo del tiempo han sido comentados en detalle.

6.2. Sedimentos procedentes del río Ulla previo a su desembocadura en el estuario

Con recolecciones previas a 1997 de sedimento intermareal el análisis de cromo total en una zona muestreada del río Ulla había dado un grado de contaminación severo para cromo y cobre. Los valores de cromo analizados mostraban valores entre 190 y 438 $\mu g_{Cr}\ g^{-1}$ (Carballeira, A. y col. 1997). Para completar los datos de cromo analizados en las distintas campañas de Arousa se ha tomado muestra en varias zonas del río Ulla, incluyendo un punto en el río Sar, uno de sus afluentes. Se ha muestreado sedimento perteneciente a esta zona a partir de la segunda campaña, en verano de 2002. El la Figura 3- 17 se indican los lugares en donde se ha recogido sedimento y su posición relativa a la Ría de Arousa.

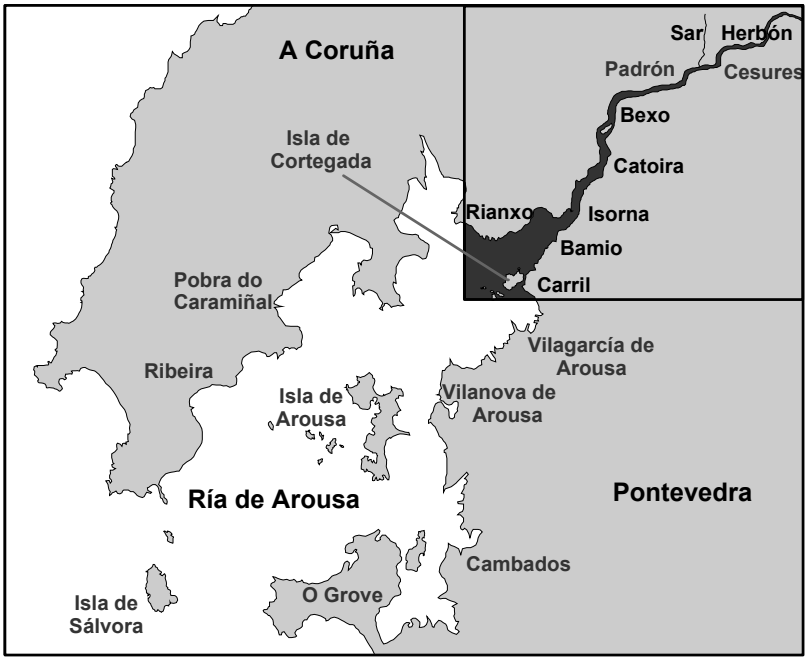

Figura 3- 17: Localización de la zona de muestreo de sedimento del río Ulla, previa a su desembocadura en la Ría de Arousa.

Se ha determinado el contenido de cromo de las muestras de las que ha sido posible obtener la fracción de sedimento de tamaño de partícula < 63 µm. Los resultados se recogen en la Figura 3- 18 de tal forma que las estaciones aparecen ordenadas en el

eje horizontal desde la zona más próxima al nacimiento del río Ulla (Sar) hasta la más próxima a la frontera entre el río Ulla y la Ría de Arousa (Rianxo). Muchos de los sedimentos tras el proceso de liofilización y tamizado no han aportado una mínima cantidad de muestra de este tamaño de partícula para su análisis mediante suspensiones por ETAAS.

Las muestras de sedimento fluvial que más se acercan al valor de fondo empleado como referencia han sido las más alejadas del estuario, en el río Sar. La concentración de metal obtenida en el tercer muestreo ha sido de 54 ± 9 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y en el cuarto de 69 ± 3 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Son valores relativamente bajos en comparación a los obtenidos a lo largo de la ría.

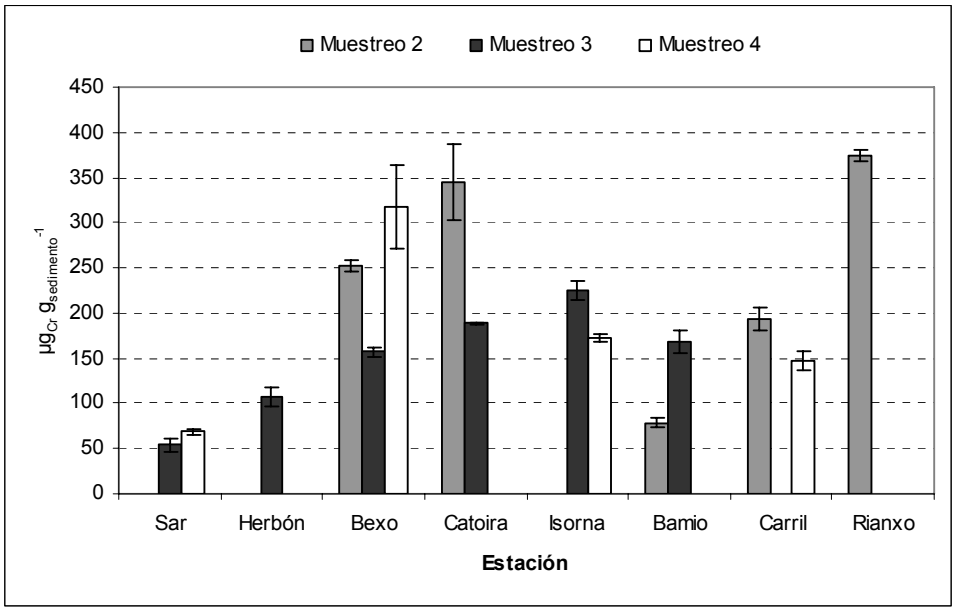

Figura 3- 18: Concentración de cromo de la fracción de sedimento < 63 µm de muestras del río Ulla.

La heterogeneidad de las muestras se refleja en el coeficiente de variación obtenido tras el análisis de las suspensiones de sedimento recolectadas, liofilizadas y tamizadas. Las estaciones que mayor coeficiente de variación han presentado son las siguientes: Sar en el tercer muestreo (13.8%), Bexo en el cuarto muestreo (14.6%) y Catoira en el segundo muestreo (12.1%). Este mayor coeficiente de variación se

puede apreciar a simple vista en las desviaciones estándar de los análisis recogidos en la Figura 3- 18.

Las fracciones de sedimento de tamaño de partícula < 63 µm con características más arenosas han sido sometidas a un procedimiento de preparación más largo para una mejor homogeneización. Esto es, el método preparativo con perlas de circonio, descrito en el apartado 3 de este capítulo, se ha ampliado a dos horas.

Los resultados de estos análisis son poco indicativos y no existe un crecimiento de metal gradual conforme nos acercamos al inicio del estuario y fin de los límites fluviales. Cabía esperar este crecimiento dado que la zona de mayor concentración de metal detectada se sitúa próxima a un área influenciada por actividad antropogénica. Aunque las muestras de Sar son las de menor contenido en cromo y las de Rianxo las de mayor contenido, existen estaciones intermedias con concentraciones muy variables entre campañas y con una gran heterogeneidad.

6.3. Factores de contaminación, distribución y transporte de cromo a lo largo de la Ría de Arousa

Los niveles de contaminación no son fácilmente evaluables. Directivas como las publicadas por el Parlamento Europeo o la Comisión OSPAR ('Oslo y París') para la protección del ambiente marino del Atlántico Norte, o directivas como la European Waste-Water han estudiado factores que evalúen criterios ecotoxicológicos en diversos medios (agua, sedimentos, peces y mejillones). Junto con estos criterios ecotoxicológicos se han tratado referencias de fondo de concentraciones de contaminantes tales como el cromo.

Este apartado se ha enfocado al estudio del grado de contaminación de cromo en Arousa en función de una concentración de fondo de referencia. La concentración de fondo (CF) se suele considerar como la concentración de un contaminante que se encuentra en una zona remota y basándose en datos contemporáneos, o bien la concentración seleccionada tras un estudio histórico y por tanto en ausencia de contaminación. Por ello, la concentración denominada de fondo se corresponde con el valor que se estima de concentración de un lugar concreto (en sedimentos, agua o biota) cuando se acerca a esos valores de fondo ya mencionados en el primer capítulo de este trabajo. Para cromo en sedimentos marinos y considerando que Arousa es un estuario heterogéneo, el valor de fondo establecido por Carral mediante análisis modal (Carral, E. y col. 1995) ha sido de 32 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Este valor publicado se ha tomado de referencia para determinar el grado de contaminación existente en los niveles de cromo obtenidos en los muestreos de sedimentos de la Ría de Arousa.

El grado de contaminación (GC) se ha estimado aplicando la relación entre la concentración real (CR) encontrada y la concentración de fondo (CF) en los sedimentos superficiales recolectados (GC=CR/CF). Los grados de contaminación considerados han sido los siguientes (Carballeira, A. y col. 2000):

- Cero o despreciable para $GC < 1$.
- Moderado para $1 \leq GC < 3$.
- Severo para $3 \leq GC < 6$.
- Muy severo cuando $GC \geq 6$.

Los resultados del grado de contaminación de cromo obtenido se recogen en la Figura 3- 19. Se ha observado un comportamiento general de grado de contaminación clasificable en tres grupos de estaciones: las de contaminación moderada (mayoritaria en casi todos los muestreos), las de contaminación severa y las de contaminación muy severa (estaciones 22 y 24).

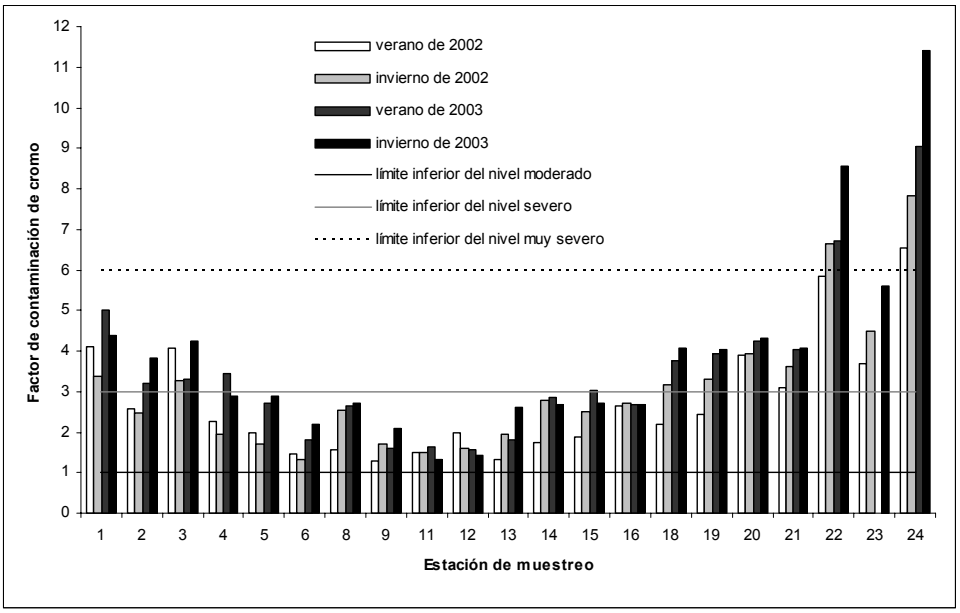

Figura 3- 19: Factores de contaminación de cromo en los sedimentos de la Ría de Arousa muestreados en las cuatro campañas.

En ninguno de los muestreos analizados se ha detectado un grado de contaminación despreciable (GC <1), destacando, por otra parte, el porcentaje de estaciones que próximos a la concentración de fondo (CF) se establecen en un grado de contaminación moderado (1 ≤ GC < 3). La variación en el número de estaciones que se establece en cualquiera de los tres grados de contaminación (moderado, severo o muy severo) se recoge en la Tabla 3- 10 en forma de porcentajes.

El grado de contaminación considerado moderado es mayoritario en el primer, segundo y cuarto muestreo. Sin embargo en la tercera campaña este porcentaje se iguala entre las estaciones de grado moderado y grado severo con un 45%.

Tabla 3- 10: Porcentaje de estaciones que se encuentran en los distintos grados de contaminación (GC) definidos por la concentración de fondo (CF) de cromo en sedimentos de los cuatro muestreos de Arousa.

	Primer muestreo	Segundo muestreo	Tercer muestreo	Cuarto muestreo
GC moderado	67%	57%	45%	52%
GC severo	29%	33%	45%	38%
GC muy severo	5%	10%	10%	10%

Los mayores cambios en grado de contaminación se observan entre las dos primeras campañas de análisis de sedimentos de Arousa (ver Figura 3- 19).

Por otra parte, aunque del segundo al cuarto muestreo el porcentaje de estaciones en grado de contaminación muy severo es el mismo, el valor obtenido se aleja notablemente de GC=6.0. Un claro ejemplo es la estación 24, la más contaminada. La evolución del grado de contaminación en esta estación es la siguiente: partiendo de un GC=6.5 en el muestreo 1, alcanza un GC=7.8 en el muestreo 2, un GC=9.0 en el muestreo 3 y finalmente un GC=11.4 en el muestreo 4.

Las estaciones 2-16 presentan en general contaminación moderada en todas las campañas (excluyendo de este grupo la estación 3). Las estaciones 18-23 presentan contaminación severa, y las estaciones 22 y 24 presentan contaminación muy severa. Estas dos últimas estaciones se sitúan en la zona norte e interna del estuario.

Se han detectado cambios elevados en el grado de contaminación (GC) en las estaciones 18 y 19 de la primera campaña a las siguientes. Las estaciones 21, 23 y 24 también han experimentado una subida sensible en el grado de contaminación, pero de forma más gradual a lo largo de las cuatro campañas.

La estación excepcional ha sido la 2, que geográficamente se encuentra entre las estaciones 1 y 3. Su grado de contaminación es sensiblemente inferior a estas dos últimas, y en las dos primeras campañas se sitúa en un grado de contaminación moderado, estando las estaciones 1 y 3 en grado severo.

Para una visualización más clara de la distribución del grado de contaminación de cromo en los sedimentos de las distintas estaciones recolectadas en Arousa, y para un estudio de su evolución temporal más sencillo, se ha procedido a representar el grado de contaminación de cromo de los sedimentos en mapas de distribución de la ría (ver resultados en la Figura 3- 20).

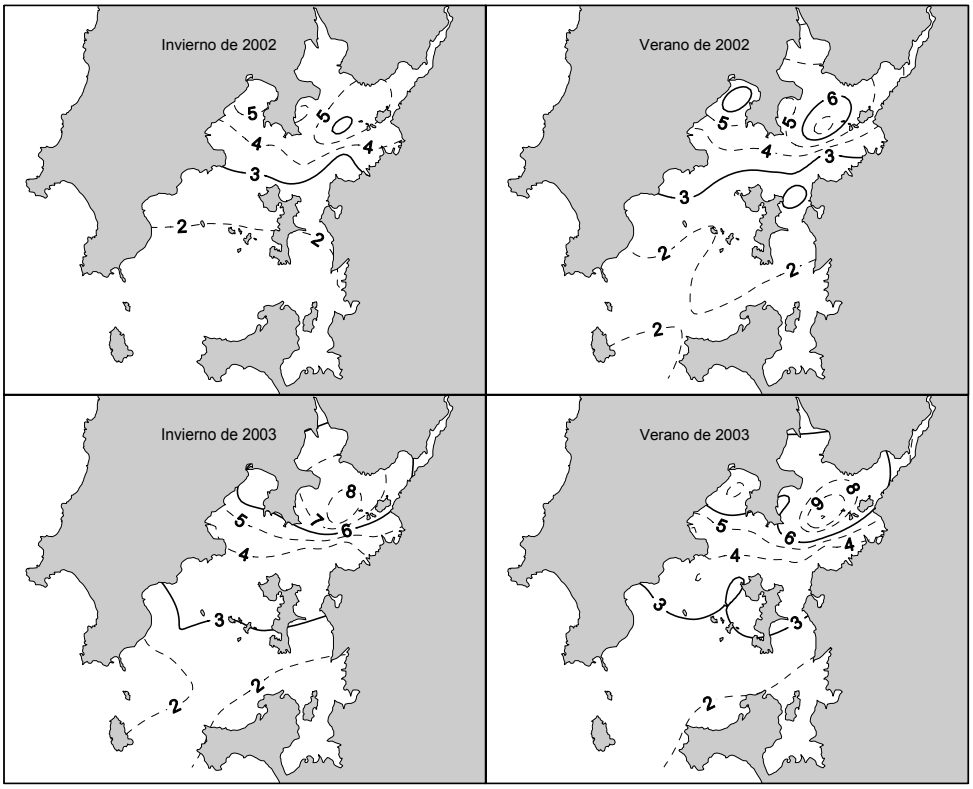

Figura 3- 20: Variación de la distribución espacial de los factores de contaminación de cromo a lo largo de los cuatro muestreos de sedimentos de Arousa.

En la Figura 3- 20 podemos apreciar trazos continuos y discontinuos que definen los distintos grados de contaminación cuantificados. Las líneas continuas delimitan los límites inferiores de los grados de contaminación moderado (línea 1), severo (línea 3) y muy severo (línea 6), y las líneas discontinuas definen grados intermedios de los tres primeros.

En el primer muestreo (invierno de 2002) el área delimitada por el límite inferior de grado de contaminación muy severo (línea 6) se sitúa rodeando la zona de la estación 24. En este mismo muestreo el límite inferior del grado de contaminación severo (línea 3) se sitúa en la zona interna de la ría y no llega a alcanzar la isla de Arousa en dirección al Atlántico.

En el segundo muestreo la línea 6 va aumentando la superficie que rodea a la estación 24, y aparecen dos nuevas zonas de valores de contaminación GC > 6 centradas en las estaciones 18 y 21. La línea 3 se desplaza hacia el Océano Atlántico

por la orilla norte de la ría hasta situarse a la altura de la isla de Arousa. Es evidente el aumento en el área de los grados de contaminación más elevados y la disminución de las zonas de la ría con grado de contaminación inferior.

En los últimos dos muestreos la línea 6 se sitúa en la práctica totalidad de la zona más interna y norte de la ría, y la línea 3 alcanza y llega prácticamente a rebasar la isla de Arousa por ambas orillas.

La evolución temporal de las líneas de grados de contaminación más elevadas en dirección al Océano Atlántico indica que la zona de sedimentos estudiada ha aumentado en contenido en cromo gradualmente. Los niveles más cercanos al valor de fondo de cromo se van acotando a las estaciones más próximas a la frontera exterior de la ría.

CONCLUSIONES

Se ha optimizado un método de determinación de cromo en suspensiones de sedimentos marinos para su determinación por ETAAS. El procedimiento de preparación de dichas suspensiones es rápido y simple. No ha sido necesario el uso de sustancias ácidas y corrosivas ni durante el procedimiento preparativo ni durante el procedimiento de análisis.

Para impedir la deposición de las suspensiones destinadas a inyectar en la cámara de grafito, se ha empleado Triton X-100 0.1% como agente surfactante. Experimentalmente se ha concluido que es suficiente con el uso de 20 μg ml^{-1} $Mg(NO_3)_2$ como modificador de matriz durante los análisis.

Las características analíticas obtenidas para el procedimiento completo de preparación y análisis de suspensiones de sedimento marino han sido satisfactorias. En calibrados y adiciones de suspensiones medidas por ETAAS no se han encontrado diferencias significativas entre sus pendientes, y la cuantificación de muestras se ha realizado mediante calibrados acuosos de patrones de cromo. Los límites de detección y cuantificación del procedimiento (0.80 y 2.65 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ respectivamente) y la masa característica (3.5 $\pm$ 0.3 pg) han definido la sensibilidad del método. La precisión obtenida inyectando reiteradamente una misma muestra de 6.3 μg l^{-1} de cromo (3.9%) o la precisión obtenida con el análisis de cinco suspensiones preparadas aplicando el procedimiento completo (5.3%) han sido aceptablemente bajas. También el estudio de la recuperación analítica (100 ± 2 %) o el análisis de un material de referencia certificado (PACS-2 con contenido analizado 91 ± 2 $\mu g_{Cr}\ g^{-1}$ y valor certificado 90.7 ± 4.6 $\mu g_{Cr}\ g^{-1}$) han mostrado que el procedimiento es preciso.

El análisis de cuatro muestreos medioambientales realizados en la Ría de Arousa ha demostrado la aplicabilidad del procedimiento para las determinaciones rutinarias en laboratorio. El pretratamiento de dichas muestras (liofilizado y tamizado) para su conservación y análisis posterior ha sido una etapa clave. La normalización del tamaño de partícula de las muestras estudiadas ha facilitado el estudio comparativo y la evolución temporal de cromo en sedimentos de la Ría de Arousa.

Ha quedado claro en este capítulo que el cromo aparece en el interior del estuario y se diluye en dirección a la costa atlántica. Atendiendo a los máximos niveles de cromo encontrados en los sedimentos y la zona de detección de los mismos, las corrientes marinas son las encargadas de diluir su concentración desde el punto de mayor contaminación y conforme nos acercamos al Océano Atlántico. Un comportamiento detectado durante el tiempo que se han recolectado muestras en Arousa es que los mínimos valores de cromo registrados permanecen inalterados en comparación con los máximos. El valor mínimo medio detectado en los cuatro muestreos se sitúa entorno a un valor promedio de 44 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$, mientras que el nivel máximo cuantificado parte de 209 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ en el primer muestreo y llega hasta 365 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ en el cuarto muestreo.

Aunque los análisis realizados en el río Ulla no son concluyentes, dada la heterogeneidad de las muestras, todo parece indicar que el área de mayor contenido de cromo es el puerto de Rianxo y las estaciones más próximas al mismo, como la 24. Río arriba la concentración metálica decrece al igual que también el cromo disminuye conforme nos acercamos al Océano Atlántico.

La variación geográfica y evolución temporal de los grados de contaminación por cromo cuantificados en la Ría de Arousa demuestran que los sedimentos son un sumidero del metal. Con el tiempo las estaciones han acrecentado su contenido de cromo y el área menos expuesta a este crecimiento ha sido la más próxima al Océano Atlántico con preferencia por la orilla sur.

BIBLIOGRAFÍA

Baralkiewicz, D. y J. Siepak. **2001**. Slurry sampling for electrothermal atomic absorption spectrometric determination of chromium, nickel, lead and cadmium in sewage sludge. **Analytica Chimica Acta** 437(1):11-16.

Belazi, A. U., C. M. Davidson, G. E. Keating y D. Littlejohn. **1995**. Determination and speciation of heavy-metals in sediments from the Cumbrian Coast, New England, UK. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 10(3):233-240.

Bendicho, C. y M. T. C. de Loos Vollebregt. **1991**. Solid sampling in electrothermal atomic-absorption spectrometry using commercial atomizers - a review. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 6(5):353-374.

Bermejo Barrera, P., C. Barciela Alonso, M. Aboal Somoza y A. Bermejo Barrera. **1994**. Slurry sampling for the determination of lead in marine-sediments by electrothermal atomic-absorption spectrometry using palladium-magnesium nitrate as a chemical modifier. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 9(3):469-475.

Bermejo Barrera, P., M. C. Barciela Alonso, J. Moreda Piñeiro, C. González Sixto y A. Bermejo Barrera. **1996**. Determination of trace metals (As, Cd, Hg, Pb and Sn) in marine sediment slurry samples by electrothermal atomic absorption spectrometry using palladium as a chemical modifier. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy** 51(9-10):1235-1244.

Bermejo Barrera, P., A. Moreda Piñeiro, J. Moreda Piñeiro y A. Bermejo Barrera. **1997**. Determination of nickel in human scalp hair by slurry sampling - electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta** 349(1-3):319-325.

Bermejo Barrera, P., A. Moreda Piñeiro, J. Moreda Piñeiro y A. Bermejo Barrera. **1998**. Comparative study on the use of Ir, W and Zr-coated graphite tubes for the determination of chromium in slurries of human scalp hair by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry** 360(6):712-716.

Birch, G. F. y S. E. Taylor. **2000**. The use of size-normalised procedures in the analysis of organic contaminants in estuarine sediments. **Hydrobiologia** 431(2-3):129-133.

Blanco, M., R. Boqué, R. Cela, J. Coello, S. Maspoch, M. C. Ortíz, J. Riba, F. X. Rius, A. Ruíz, L. A. Sarabia y X. Tomàs. **1994**. Avances en Quimiometría práctica. Universidad de Santiago de Compostela.

Bulska, E. y W. Jedral. **1995**. Application of palladium-plating and rhodium-plating of the graphite-furnace in electrothermal atomic-absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 10(1):49-53.

Bulska, E., K. Liebert Ilkowska y A. Hulanicki. **1998**. Optimization of electrochemical deposition of noble metals for permanent modification in graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy** 53(6-8):1057-1062.

Cal Prieto, M. J., A. Carlosena, J. M. Andrade, S. Muniategui, P. López Mahía, E. Fernández y D. Prada. **1999**. Development of an analytical scheme for the direct determination of antimony in geological materials by automated ultrasonic slurry sampling-ETAAS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 14(4):703-710.

Cal Prieto, M. J., M. Felipe Sotelo, A. Carlosena, J. M. Andrade, P. López Mahía, S. Muniategui y D. Prada. **2002**. Slurry sampling for direct analysis of solid materials by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS). A literature review from 1990 to 2000. **Talanta** 56(1):1-51.

Campillo, N., I. López García, P. Vinas, I. Arnau Jerez y M. Hernández Córdoba. **2002**. Determination of vanadium, molybdenum and chromium in soils, sediments and sludges by electrothermal atomic absorption spectrometry with slurry sample introduction. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 17(10):1429-1433.

Capelo, J. L., A. V. Filgueiras, I. Lavilla y C. Bendicho. **1999**. Solid-liquid extraction of copper from slurried samples using high intensity probe sonication for electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta** 50(4):905-911.

Carballeira, A., E. Carral, X. Puente y R. Villares. **2000**. Regional-scale monitoring of coastal contamination. Nutrients and heavy metals in estuarine sediments and organisms on the coast of Galicia (northwest Spain). **International Journal of Environment and Pollution** 13(1-6):534-572.

Carballeira, A., E. Carral, X. M. Puente y R. Villares. **1997**. Estado de conservación de la costa de Galicia: nutrientes y metales pesados en sedimentos y organismos intermareales. Universidade de Santiago de Compostela.

Carlosena, A., P. López Mahía, S. Muniategui, E. Fernández y D. Prada. **1998**. Determination of chromium in nitric acid extracts of soils by flame and electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 13(12):1361-1368.

Carral, E., X. Puente, R. Villares y A. Carballeira. **1995**. Background heavy-metal levels in estuarine sediments and organisms in Galicia (Northwest Spain) as determined by modal-analysis. **Science of the Total Environment** 172(2-3):175-188.

Conte, R. A. y M. T. C. de Loos-Vollebregt. **2000**. Determination of cobalt in sewage sludge using ultrasonic slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry** 367(8):722-726.

Cornelis, R. **2005**. Handbook of elemental speciation II: species in the environment, food, medicine & occupational health. J. Wiley.

Cressie, N. A. C. **1993**. Statistics for spatial data. Wiley.

Davidson, C. M., R. P. Thomas, S. E. McVey, R. Perala, D. Littlejohn y A. M. Ure. **1994**. Evaluation of a sequential extraction procedure for the speciation of heavy-metals in sediments. **Analytica Chimica Acta** 291(3):277-286.

Dobrowolski, R. **1996**. Determination of Ni and Cr in soils by slurry graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy** 51(2):221-227.

Epstein, M. S., G. R. Carnrick, W. Slavin y N. J. Miller Ihli. **1989**. Automated slurry sample introduction for analysis of a river sediment by graphite-furnace atomic-absorption spectrometry. **Analytical Chemistry** 61(13):1414-1419.

Felipe Sotelo, M., A. Carlosena, J. M. Andrade, M. J. Cal Prieto, E. Fernández y D. Prada. **2005**. Slurry-based procedures to determine chromium, nickel and vanadium in complex matrices by ETAAS. **Microchemical Journal** 81(2):217-224.

González, M., M. Gallego y M. Valcárcel. **1999**. Determination of nickel, chromium and cobalt in wheat flour using slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta** 48(5):1051-1060.

Granadillo, V. A., L. P. Demachado y R. A. Romero. **1994**. Determination of total chromium in whole-blood, blood components, bone, and urine by fast furnace program electrothermal atomization AAS and using neither analyte isoformation nor background correction. **Analytical Chemistry** 66(21):3624-3631.

Hoare, H. C. y R. A. Mostyn. **1967**. Emission spectrometry of solutions and powders with a high-frequency plasma source. **Analytical Chemistry** 39(10):1153-1155.

Hoenig, M. **2001**. Preparation steps in environmental trace element analysis - facts and traps. **Talanta** 54(6):1021-1038.

Hoenig, M. y P. Vanhoeyweghen. **1986**. Alternative to solid sampling for trace-metal determination by platform electrothermal atomic-absorption spectrometry - direct dispensing of powdered samples suspended in liquid-medium. **Analytical Chemistry** 58(13):2614-2617.

Keith, L. H., W. Crummett, J. Deegan, R. A. Libby, J. K. Taylor y G. Wentler. **1983**. Principles of Environmental-Analysis. **Analytical Chemistry** 55(14):2210-2218.

Klemm, W. y G. Bombach. **1995**. Trace-element determination in contaminated sediments and soils by ultrasonic slurry sampling and Zeeman graphite-furnace atomic-

absorption spectrometry. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry** 353(1):12-15.

Krivan, V. y T. Rommelt. **1997**. Determination of impurities in boron nitride powder by slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 12(2):137-141.

Kurfürst, U. **1998**. Solid sample analysis: direct and slurry sampling using GF-AAS and ETV-ICP. Springer.

Laborda, F., M. P. Gorriz y J. R. Castillo. **2004**. Slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry as screening method for chromium in compost. **Talanta** 64(3):631-636.

Lendinez, E., M. L. Lorenzo, C. Cabrera y M. C. López. **2001**. Chromium in basic foods of the Spanish diet: seafood, cereals, vegetables, olive oils and dairy products. **Science of the Total Environment** 278(1-3):183-189.

Lima, E. C., F. Barbosa, F. J. Krug, M. M. Silva y M. G. R. Vale. **2000**. Comparison of ultrasound-assisted extraction, slurry sampling and microwave-assisted digestion for cadmium, copper and lead determination in biological and sediment samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 15(8):995-1000.

López García, I., M. Sánchez Merlos y M. Hernández Cordoba. **1996**. Slurry sampling for the determination of lead, cadmium and thallium in soils and sediments by electrothermal atomic absorption spectrometry with fast-heating programs. **Analytica Chimica Acta** 328(1):19-25.

López García, I., P. Vinas, J. Arroyo Cortez y M. Hernández Córdoba. **2000**. Rapid determination of lead and cadmium in sewage sludge samples using electrothermal atomic absorption spectrometry with slurry sample introduction. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry** 367(8):727-732.

Lucker, E., K. Failing y T. Schmidt. **2000**. Determination of analytical limits in solid sampling ETAAS: a new approach towards the characterization of analytical quality in rapid methods. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry** 366(2):137-141.

Lynch, S. y D. Littlejohn. **1989**. Palladium as a chemical modifier for the determination of lead in food slurries by electrothermal atomization atomic-absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 4(2):157-161.

Majidi, V. y J. A. Holcombe. **1990**. Error analysis for sampling of slurries - sedimentation errors. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy** 45(7):753-761.

Miller Ihli, N. J. **1988**. Slurry sample preparation for simultaneous multi-element graphite-furnace atomic-absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 3(1):73-81.

Miller Ihli, N. J. **1990**. Slurry sampling for graphite-furnace atomic-absorption spectrometry. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry** 337(3):271-274.

Miller Ihli, N. J. **1997**. Slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry: results from the second phase of an international collaborative study. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 12(2):205-212.

Miller Ihli, N. J. **1994**. Influence of slurry preparation on the accuracy of ultrasonic slurry electrothermal atomic-absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 9(10):1129-1134.

Miller Ihli, N. J. y S. A. Baker. **2001**. Microhomogeneity assessments using ultrasonic slurry sampling coupled with electrothermal vaporization isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy** 56(9):1673-1686.

Nichols, J. A., R. D. Jones y R. Woodriff. **1978**. Background reduction during direct atomization of solid biological samples in atomic-absorption spectrometry. **Analytical Chemistry** 50(14):2071-2076.

Pazos Capeáns, P., M. C. Barciela Alonso, A. Bermejo Barrera y P. Bermejo Barrera. **2004**. Chromium in marine sediment samples from the Ria de Arousa (Galicia, NW of Spain): analysis of the total content in slurries by ETAAS. **Analytica Chimica Acta** 524(1-2):121-126.

Pereira, L. A., I. Amorim y J. B. B. da Silva. **2006**. Determination of cadmium, chromium and lead in marine sediment slurry samples by electrothermal atomic absorption spectrometry using permanent modifiers. **Talanta** 68(3):771-775.

Quevauviller, P., E. A. Maier y B. Griepink. **1995**. Quality assurance for environmental analysis: method evaluation within the Measurements and Testing Programme (BCR). Elsevier.

Resano, M., E. García-Ruiz, F. Vanhaecke, C. Crespo y M. A. Belarra. **2004**. Evaluation of solid sampling-electrothermal vaporization-inductively coupled plasma mass spectrometry and solid sampling-graphite furnace atomic absorption spectrometry for the direct determination of Cr in various materials using solution-based calibration approaches. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 19(8):958-965.

Rettberg, T. M. y J. A. Holcombe. **1986**. Direct analysis of solids by graphite-furnace atomic-absorption spectrometry using a 2nd surface atomizer. **Analytical Chemistry** 58(7):1462-1467.

Salin, E. D. y G. Horlick. **1979**. Direct sample insertion device for inductively coupled plasma emission spectrometry. **Analytical Chemistry** 51(13):2284-2286.

Santos, C., F. Álava Moreno, I. Lavilla y C. Bendicho. **2000**. Total As in seafood as determined by transverse heated electrothermal atomic absorption spectrometry-longitudinal Zeeman background correction: an evaluation of automated ultrasonic slurry sampling, ultrasound-assisted extraction and microwave-assisted digestion methods. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 15(8):987-994.

Schalscha, E. B., P. Escudero y I. Ahumada. **1999**. Concentration and fractionation of Cu, Cr, Ni and Zn in montmorillonitic and allophanic soils: comparison of two different extraction methods. **Agrochimica** 43(3-4):126-136.

Silva, M. M., M. Goreti, R. Vale y E. B. Caramao. **1999**. Slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry: determination of trace metals in mineral coal. **Talanta** 50(5):1035-1043.

Stephen, S. C., J. M. Ottaway y D. Littlejohn. **1987**. Slurry atomization of foodstuffs in electrothermal atomic-absorption spectrometry. **Fresenius Zeitschrift Fur Analytische Chemie** 328(4-5):346-353.

Terzieva, V. y S. Arpadjan. **1998**. Determination of metals in atmospheric particulates by electrothermal atomic absorption spectrometry with organic slurry sample introduction. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 13(8):815-817.

Ure, A. M. y C. M. Davidson. **2002**. Chemical speciation in the environment. Blackwell Science.

Usero, J., M. Gamero, J. Morillo y I. Gracia. **1998**. Comparative study of three sequential extraction procedures for metals in marine sediments. **Environment International** 24(4):487-496.

Vale, M. G. R., N. Oleszczuk y W. N. L. dos Santos. **2006**. Current status of direct solid sampling for electrothermal atomic absorption spectrometry - a critical review of the development between 1995 and 2005. **Applied Spectroscopy Reviews** 41(4):377-400.

Vilas, F., A. M. Bernabeu y G. Méndez. **2005**. Sediment distribution pattern in the Rias Baixas (NW Spain): main facies and hydrodynamic dependence. **Journal of Marine Systems** 54(1-4):261-276.

Welz, B. y M. R. Sperling. **1999**. Atomic absorption spectrometry. Wiley-VCH.

LISTADO DE TABLAS

Tabla 3- 1: Determinación de metales en suspensiones de muestras sólidas. 74

Tabla 3- 2: Características de los sedimentos recolectados en Arousa. 87

Tabla 3- 3: Datos georeferenciados y cronológicos de los muestreos realizados en la Ría de Arousa..... 88

Tabla 3- 4: Parámetros instrumentales empleados para la determinación de cromo por ETAAS. 96

Tabla 3- 5: Rectas de calibrado acuoso y adición estándar de suspensión de sedimento marino..... 98

Tabla 3- 6: Resultados de cromo total analizado en la fracción de sedimento < 63 µm durante el primer muestreo de la Ría de Arousa aplicando el procedimiento optimizado de análisis de suspensiones. 103

Tabla 3- 7: Resultados de cromo total analizado en la fracción de sedimento < 63 µm durante el segundo muestreo de la Ría de Arousa aplicando el procedimiento optimizado de análisis de suspensiones..... 107

Tabla 3- 8: Resultados de cromo total analizado en la fracción de sedimento < 63 µm durante el tercer muestreo de la Ría de Arousa aplicando el procedimiento optimizado de análisis de suspensiones. 111

Tabla 3- 9: Resultados de cromo total analizado en la fracción de sedimento < 63 µm durante el cuarto muestreo de la Ría de Arousa aplicando el procedimiento optimizado de análisis de suspensiones. 114

Tabla 3- 10: Porcentaje de estaciones que se encuentran en los distintos grados de contaminación (GC) definidos por la concentración de fondo (CF) de cromo en sedimentos de los cuatro muestreos de Arousa. 122

LISTADO DE FIGURAS

Los datos empleados en las figuras de este capítulo y que no se contemplan numéricamente se recogen tabulados en el Anexo I.

Figura 3- 1: Dispositivos de atomización electrotérmica empleados en análisis de muestras sólidas y suspensiones de muestras sólidas. 72

Figura 3- 2: Localización georeferenciada (latitud, longitud) y profundidad de las estaciones de muestreo de la Ría de Arousa. Noroeste de España, Océano Atlántico. 86

Figura 3- 3: Muestreo de sedimento superficial a bordo del Buque Oceanográfico Mytilus realizado en la Ría de Arousa con una draga tipo cuchara. 89

Figura 3- 4: Torre de tamices para el fraccionamiento automático de sedimentos liofilizados. 90

Figura 3- 5: Muestreo, almacenamiento y pretratamiento de sedimentos marinos de Arousa. 90

Figura 3- 6: Agitador de brazo lateral para preparación simultánea de ocho suspensiones de sedimento marino. 91

Figura 3- 7: Curvas de mineralización de patrón acuoso de $Cr(NO_3)_3$ 7 µg l^{-1} en ausencia y presencia de modificador de matriz [50 µg ml^{-1} de $Mg(NO_3)_2$]. 93

Figura 3- 8: Curvas de mineralización de suspensión de sedimento marino en ausencia y presencia de modificador de matriz [50 µg ml^{-1} de $Mg(NO_3)_2$]. 93

Figura 3- 9: Curvas de atomización de patrón acuoso [7µg l^{-1} $Cr(NO_3)_3$] y suspensión de sedimento marino con 50 µg ml^{-1} de $Mg(NO_3)_2$. 94

Figura 3- 10: Perfiles de picos de atomización de suspensión de sedimento con 50 µg ml^{-1} de $Mg(NO_3)_2$. 95

Figura 3- 11: Variación de absorbancia en la etapa de atomización del cromo con patrón acuoso [7 µg l^{-1} de $Cr(NO_3)_3$] y suspensión de sedimento marino variando la concentración de $Mg(NO_3)_2$. 95

Figura 3- 12: Variación de temperatura del programa electrotérmico para análisis de cromo en suspensiones de sedimento marino. 97

Figura 3- 13: Distribución de cromo total a lo largo de la Ría de Arousa en muestras recolectadas en la campaña de invierno de 2002 obtenida mediante análisis de suspensiones de sedimento por ETAAS. 102

Figura 3- 14: Distribución de cromo total a lo largo de la Ría de Arousa en muestras recolectadas en la campaña de verano de 2002 obtenida mediante análisis de suspensiones de sedimento por ETAAS. 106

Figura 3- 15: Distribución de cromo total a lo largo de la Ría de Arousa en muestras recolectadas en la campaña de invierno de 2003 obtenida mediante análisis de suspensiones de sedimento por ETAAS. 110

Figura 3- 16: Distribución de cromo total a lo largo de la Ría de Arousa en muestras recolectadas en la campaña de verano de 2003 obtenida mediante análisis de suspensiones de sedimento por ETAAS. 113

Figura 3- 17: Localización de la zona de muestreo de sedimento del río Ulla, previa a su desembocadura en la Ría de Arousa. 117

Figura 3- 18: Concentración de cromo de la fracción de sedimento < 63 µm de muestras del río Ulla. 118

Figura 3- 19: Factores de contaminación de cromo en los sedimentos de la Ría de Arousa muestreados en las cuatro campañas. 121

Figura 3- 20: Variación de la distribución espacial de los factores de contaminación de cromo a lo largo de los cuatro muestreos de sedimentos de Arousa. 123

CAPÍTULO 4

Extracción secuencial de cromo en sedimentos marinos de Arousa

INTRODUCCIÓN 141

1. Extracciones simples 141
2. Extracciones secuenciales 143
3. Aceleración del procedimiento de extracción 146
3.1. Extracción asistida por energía de ultrasonidos 146
3.2. Extracción asistida por energía de microondas 147

PARTE EXPERIMENTAL 149

1. Instrumental, material y reactivos de laboratorio 149
1.1. Instrumental 149
1.2. Material 149
1.3. Reactivos 150
2. Procedimiento de extracción secuencial 151
3. Optimización del programa electrotérmico 153
3.1. Curvas de mineralización 153
3.2. Curvas de atomización 155
3.3. Concentración de modificador de matriz 157
3.4. Programa optimizado 159
4. Aceleración de las extracciones con energía de microondas 160
5. Parámetros analíticos 164
5.1. Rango lineal. Rectas de calibrado y adición estándar 164
5.2. Sensibilidad del método 165
5.3. Precisión y exactitud 166
6. Análisis de muestras 168
6.1. Resultados de la fracción 'ácida soluble' en los cuatro muestreos de la Ría de Arousa 169
6.1.1. Sedimentos del muestreo de invierno de 2002 170
6.1.2. Sedimentos del muestreo de verano de 2002 175
6.1.3. Sedimentos del muestreo de invierno de 2003 179
6.1.4. Sedimentos del muestreo de verano de 2003 183
6.2. Resultados de la fracción 'reducible' en los cuatro muestreos de la Ría de Arousa 188
6.2.1. Sedimentos del muestreo de invierno de 2002 189
6.2.2. Sedimentos del muestreo de verano de 2002 193
6.2.3. Sedimentos del muestreo de invierno de 2003 197
6.2.4. Sedimentos del muestreo de verano de 2003 201
6.3. Resultados de la fracción 'oxidable' en los cuatro muestreos de la Ría de Arousa 205
6.3.1. Sedimentos del muestreo de invierno de 2002 206
6.3.2. Sedimentos del muestreo de verano de 2002 210
6.3.3. Sedimentos del muestreo de invierno de 2003 214
6.3.4. Sedimentos del muestreo de verano de 2003 218

CONCLUSIONES 223

BIBLIOGRAFÍA 229

LISTADO DE TABLAS 233

LISTADO DE FIGURAS 235

INTRODUCCIÓN

Los sedimentos han suscitado interés en el análisis de cromo junto con otros muchos metales pesados en ríos (Baruah, N. K. y col. 1996; Chakraborty, R. y col. 1995; Davidson, C. M. y col. 1994; Tessier, A. y col. 1979; Thomas, R. P. y col. 1994), zonas intermareales de costas (Belazi, A. U. y col. 1995), marismas (Gauthreaux, K. y col. 1998), en la boca de estuarios (Usero, J. y col. 1998), o en lagos (Sahuquillo, A. y col. 1999), en donde suele existir una alta actividad industrial y/o consumo de aguas y fauna acuícola importante (peces, algas y mariscos).

En la especiación química de cromo, además de otros metales, se han intentado explicar los procesos de remobilización en sedimentos. Estudios realizados como los de Baruah y col. concluyen que el comportamiento geoquímico de los metales traza se evalúan bien con estudios de especiación y que además son indicativos de su biodisponibilidad potencial (Baruah, N. K. y col. 1996). Entre otras destacan las siguientes conclusiones:

- La fracción carbonatada y sus iones intercambiables están débilmente enlazados y pueden equilibrarse con la fase acuosa, por tanto es la fracción más biodisponible.
- Los óxidos de Fe-Mn y la materia orgánica son fundamentalmente un sumidero de metales y su liberación depende fundamentalmente del potencial redox y del pH.
- La fracción residual no está disponible.

Los sedimentos son un sumidero de contaminantes, especialmente en el caso de metales, y un posible foco de peligrosidad e intercambio en los ambientes acuáticos. Además, la mayoría de los autores obtienen buenos resultados con estudios de especiación de los mismos. Estos trabajos son interesantes para el análisis de la biodisponibilidad potencial en sedimentos.

1. Extracciones simples

La determinación de especies químicas es con frecuencia complicada debido a la composición y heterogeneidad de las muestras. Algunos estudios medioambientales han desarrollado métodos de determinación en los cuales el metal se debe extraer

mediante procedimientos operacionales definidos por una de las especies químicas del metal. La distribución del metal y las fases asociadas al mismo en los sedimentos suelen involucrar la aplicación de procedimientos de extracción química. Para estudiar la distribución de metales pesados en sus diferentes fracciones tanto en suelos como en sedimentos se han aplicado varias técnicas de extracción, tanto con los procedimientos simples como secuenciales mencionados (Quevauviller, P. 1998; Rauret, G. 1998).

En sedimentos no contaminados los metales traza forman especies relativamente inmóviles, mientras que en sedimentos contaminados son más móviles y generalmente se enlazan a las interfases del sedimento.

Las extracciones simples suelen escoger como evaluación un mecanismo en particular de liberación, como por ejemplo la desorción por incremento de concentración salina del medio o la complejación por competición con otros agentes orgánicos (Das, A. K. y col. 1995; Marqués, M. J. y col. 1998). Los tipos de extracción, tanto para suelos como para sedimentos, están restringidos a un reducido grupo de elementos además de depender de la composición de los mismos (calizas, silicatos, etc.).

Las fases más relevantes en la adsorción de metales pesados son óxidos, sulfuros y materia orgánica. Tanto en suelos como en sedimentos los metales intercambiables se desplazan selectivamente con extractantes suaves, realizando normalmente un fraccionamiento mediante una extracción secuencial. Las fracciones obtenidas corresponden generalmente a metales intercambiables, metales asociados a carbonatos, metales liberados en condiciones reductoras (tales como los enlazados a óxidos hidratados de Fe y Mn), metales enlazados a componentes oxidables (como materia orgánica y sulfuros) y una fracción residual (correspondiente ya a la estructuras mineralógicas del material de origen).

Debido a la necesidad de establecer esquemas comunes en Europa para metales traza extraíbles en suelos y sedimentos la Bureau Community of Reference (BCR) desarrolló varios proyectos desde 1987 enfocados tanto a extracciones simples como secuenciales (Quevauviller, P. 1998; Quevauviller, P. y col. 1993a; Quevauviller, P. y col. 1993b; Rauret, G. 1998; Ure, A. M. y col. 1993). Los extractantes simples más comunes se recogen en la Tabla 4- 1.

Tabla 4- 1: Métodos de extracción simples más comunes.

GRUPO	AGENTE EXTRACTANTE
Extracción ácida	HNO_3 0.43-2 mol l^{-1}
	Agua regia
	HCl 0.1-1 mol l^{-1}
	HOAc 0.1 mol l^{-1}
	HCl 0.1 mol l^{-1} + H_2SO_4 0.0125 mol l^{-1}
Agentes quelatantes	AEDT 0.01-0.05 mol l^{-1} a diferentes pHs
	ADTP 0.0005 mol l^{-1} + TEA 0.1 mol l^{-1}
	$CaCl_2$ 0.01 mol l^{-1}
	HOAc 0.02 mol l^{-1}
	NH_4F 0.015 mol l^{-1}
	HNO_3 0.013 mol l^{-1}
	AEDT 0.001 mol l^{-1}
Disolución de sales tamponadas	NH_4-HOAc; tamponados a pH 7, 1 mol l^{-1}
	NH_4-HOAc; tamponados a pH 4.8, 1 mol l^{-1}
Disolución de sales no tamponadas	$CaCl_2$ 0.05 mol l^{-1}
	$CaCl_2$ 0.01 mol l^{-1}
	$NaNO_3$ 0.1 mol l^{-1}
	NH_4NO_3 0.1 mol l^{-1}
	$AlCl_3$ 0.3 mol l^{-1}
	$BaCl_2$ 0.1 mol l^{-1}

2. Extracciones secuenciales

Cuando se aplican esquemas de extracción secuencial, en cada etapa la muestra se expone a la acción de un extractante que disuelve un componente específico junto con el metal asociado a este componente. Estas fracciones permiten el estudio de la biodisponibilidad y el comportamiento de los metales asociados a los sedimentos cuando estos sufren cambios de salinidad, pH o potencial redox. Tessier y col. publicaron en 1979 un esquema de extracción secuencial en donde consideraban 5 fracciones a extraer: metales intercambiables, enlazados a carbonatos, enlazados a óxidos de Fe y Mn, enlazados a materia orgánica y fracción residual (Tessier, A. y col. 1979). Este procedimiento se ha aplicado a sedimentos marinos (Usero, J. y col. 1998), sedimentos y lodos (López Sánchez, J. F. y col. 1996) o suelos (Schalscha, E. B. y col. 1999). Pero Tessier ya había indicado que la precisión y exactitud de los procedimientos de extracción secuencial dependen de la heterogeneidad inherente de los sedimentos (Tessier, A. y col. 1979), aumentando el riesgo de readsorción y redistribución metálica durante los procesos extractivos (Gómez Ariza, J. L. y col.

1999). A mayor número de etapas extractivas, mayor riesgo. Para minimizar el riesgo de readsorción y redistribución metálica no se ha optado inicialmente por seleccionar el procedimiento de extracción secuencial en cinco etapas de Tessier, inclinándonos por un procedimiento secuencial con menos etapas.

Los cinco pasos del proceso de extracción de Tessier se recogen en la Tabla 4- 2, indicando en ella los extractantes utilizados y las correspondientes fases enlazadas a la muestra sólida que se extraen.

Tabla 4- 2: Método de extracción de A. Tessier (1979).

PASO	EXTRACTANTE	FASE EXTRAIDA
1	$MgCl_2$ 1mol l^{-1} pH 7, 1 h	Intercambiable (iones intercambiables)
2	NaOAc 1 mol l^{-1}, pH 5 (HOAc), 5 h	Iones asociados a carbonatos
3	$NH_2OH.HCl$ 0.04 mol l^{-1} HOAc 25% (v/v), 6 h, 96°C	Óxidos de Fe/Mn
4	H_2O_2 8.8 mol l^{-1} (se corresponde con una disolución comercial del 30%), pH 2 (HNO_3); extracción con NH_4OAc 3.2 mol l^{-1} en 20% HNO_3 (v/v), 0.5 h	Orgánica y sulfuros
5	$HF/HClO_4$	Residual y silicatos (metales enlazados al mineral)

Tras la revisión de extracciones simples y secuenciales basadas en la propuesta por Tessier y otros esquemas de extracción secuencial posteriores (Das, A. K. y col. 1995), la BCR propuso en Sitges (España, 1992) un nuevo procedimiento de extracción (Gauthreaux, K. y col. 1998; Rauret, G. 1998; Schalscha, E. B. y col. 1999; Thomas, R. P. y col. 1994; Ure, A. M. y col. 1993; Usero, J. y col. 1998). Algunos de los procedimientos de extracción secuencial se recogen en la Tabla 4- 3, la Tabla 4- 4 y la Tabla 4- 5.

Tabla 4- 3: Método de extracción de M. Meguellatti (1983).

PASO	EXTRACTANTE	FASE EXTRAIDA
1	$BaCl_2$ 1mol l^{-1} pH 7	Intercambiable
2	H_2O_2 8.8 mol l^{-1} + HNO_3	Orgánica y sulfuros
3	NaOAc 1 mol l^{-1} pH 5	Carbonatada
4	$NH_2OH.HCl$ 0.1 mol l^{-1} 25% HOAc	Óxidos de Fe/Mn
5	Incineración/HF/HCl	Residual y silicatos

Tabla 4- 4: Método abreviado de extracción de W. Salomons y U. Föster (1984).

PASO	EXTRACTANTE	FASE EXTRAIDA
1	$NH_2OH.HCl$ 0.1 mol l^{-1}	Ácida 'reducible'
2	H_2O_2 8.8 mol l^{-1}; NaOAc concentrado	Orgánica
3	$HF/HClO_4$	Residual y silicatos

Tabla 4- 5: Método de M. Kersten y U. Föster (1986).

PASO	EXTRACTANTE	FASE EXTRAIDA
1	NH_4OAc 1 mol l^{-1}, pH 7, 2h	Intercambiable
2	NaOAc 1 mol l^{-1}, pH 5 (HOAc o con HNO_3), 5h	Carbonatos
3	$NH_2OH.HCl$ 0.1 mol l^{-1} en HNO_3 0.01 mol l^{-1}, pH 2, 12h	Fácilmente 'reducible' (óxidos de Mn)
4	Tampón de oxalato 0.1 mol l^{-1}, pH 3, 24h en la oscuridad	Moderadamente 'reducible' (óxidos amorfos de Fe)
5	H_2O_2 8.8 mol l^{-1} (se corresponde con una disolución comercial del 30%), pH 2 (HNO_3);2 h a 85^{0}C extracción con NH_4OAc 1 mol l^{-1} en 6% HNO_3 (v/v), 12h	Orgánica/sulfuros
6	HNO_3 concentrado y caliente	Residual (minerales)

En bibliografía se han recomendado preferentemente algunos de los procedimientos de extracción secuencial indicados (Ure, A. M. y Davidson, C. M. 2001; Usero, J. y col. 1998). De entre los de mayor aplicación se encuentran el método Tessier y el desarrollado por la Commission of the European Communities, Community Bureau of Reference (BCR) (Belazi, A. U. y col. 1995; Quevauviller, P. y col. 1995; Tessier, A. y col. 1979; Ure, A. M. y col. 1993).

Entre las aplicaciones del procedimiento BCR destacan las evaluaciones realizadas por Davidson y col. en las que obtiene valores aceptables en el análisis de metales como Cr, Cu, Mo, Ni, Pb, V y Mn en sedimentos de río (Davidson, C. M. y col. 1994; Thomas, R. P. y col. 1994).

De los trabajos de extracción secuencial descritos destacan los realizados para estudios comparativos entre diferentes procedimientos de extracción (Schalscha, E. B. y col. 1999; Ure, A. M. y col. 1993; Usero, J. y col. 1998), destacando en la mayoría de los estudios tanto la extracción secuencial propuesta por Tessier como por la BCR.

En este trabajo se ha decidido investigar las fracciones de cromo extraíbles por el procedimiento en tres etapas propuesto por la BCR por su mayor simplicidad, número

de etapas y la información obtenida de cada una de sus fracciones. EL esquema de extracción secuencial aplicado se comenta detalladamente en la parte experimental de este capítulo.

3. Aceleración del procedimiento de extracción

En el procedimiento de extracción secuencial propuesto por la BCR se obtienen tres fracciones usando CH_3COOH, $NH_2OH.HCl$ y H_2O_2-CH_3COONH_4 para la primera, segunda y tercera etapa extractiva respectivamente. Cada una de las etapas convencionales de extracción dura unas 16 horas y en ellas se agita el sedimento en contacto con el extractante para separar las fracciones 'intercambiable', 'reducible' y 'oxidable' respectivamente. Consecuentemente, el consumo de tiempo es una de las principales limitaciones de este tipo de procedimientos.

En los últimos años se han desarrollado diferentes estudios con la idea de reducir el tiempo de los procedimientos de extracción. En la bibliografía se encuentran publicados varios trabajos con este propósito, aplicando energía de ultrasonidos o energía de microondas (Ure, A. M. y Davidson, C. M. 2001).

3.1. Extracción asistida por energía de ultrasonidos

Se han publicado aceleraciones del procedimiento de BCR aplicando energía de ultrasonidos en baño (Davidson, C. M. y Delevoye, G. 2001) para la determinación de Cu, Fe, Mn y Zn en suelos y sedimentos. Con la misma técnica de ultrasonidos se ha acelerado el procedimiento de extracción de Tessier (Pérez Cid, B. y col. 1999a; Pérez Cid, B. y col. 1999b) y BCR (Pérez Cid, B. y col. 1998), disminuyendo considerablemente los tiempos de extracción para Cu, Cr, Ni, Pb y Zn. El problema fundamental en estos trabajos es la escasa sensibilidad obtenida por FAAS. Esta técnica de cuantificación no ha hecho posible la determinación de cromo en las dos primeras fracciones y consecuentemente la recuperación obtenida para la fracción 'oxidable' y la fracción 'residual' son muy bajas. Existen análisis de cromo por ETAAS en material de sedimento muestreado junto con material certificado CRM BCR 601 (Filgueiras, A. V. y col. 2002). Los resultados para cromo son muy interesantes a pesar del problema de la certificación de su contenido en dos de los tres extractos del protocolo de BCR. En este trabajo existe una reducción considerable en el tiempo de

extracción en sedimentos de río empleando un dispositivo de ultrasonidos. En otros trabajos también se reduce considerablemente el tiempo de extracción de BCR en baño de ultrasonidos a 20 minutos respectivamente para los extractos 1 y 2 (Ipolyi, I. y col. 2002). En este trabajo la tercera extracción debe modificarse ligeramente para que la digestión con peróxido de hidrógeno se adapte a la extracción en baño de ultrasonidos.

3.2. Extracción asistida por energía de microondas

El segundo modo citado de acelerar los procedimientos de extracción es mediante energía de microondas. Las técnicas de extracción secuencial aplicando este tipo de energía fueron investigadas inicialmente con la idea de estimular la liberación de forma rápida de metales en cada una de las etapas extractivas del método Tessier (Mahan, K. I. y col. 1987). Real y col. también emplearon energía de microondas para acelerar el procedimiento Tessier para Fe, Mn, Cu, Cr, Ni y Zn con una gran reducción en el tiempo de cada etapa extractiva (Real, C. y col. 1994). Otros autores también aplicaron energía de microondas para estudiar el contenido de Cu, Cr, Ni, Pd y Zn con tiempos de extracción de cada etapa del procedimiento Tessier inferiores a 1 minuto (Pérez Cid, B. P. y col. 2001a; Pérez Cid, B. P. y col. 2001b; Pérez Cid, B. P. y col. 2002; Pérez Cid, B. P. y col. 1999). De nuevo, en la mayoría de los trabajos el problema ha radicado en la baja sensibilidad de la técnica de determinación empleada (FAAS) que no hizo posible la determinación de cromo.

Tras unos estudios preliminares con resultados prometedores, se ha desarrollado un procedimiento BCR modificado acortando cada etapa extractiva con energía de microondas para acelerar la acción de los extractantes.

Los hornos microondas convencionales se han usado en otros trabajos. No hay constancia de problemas de extracción, no son peligrosos para el analista y no suelen presentar pérdidas de analito si la energía y el tiempo de exposición no son elevados (Das, A. K. y col. 1995; Mahan, K. I. y col. 1987; Pérez Cid, B. P. y col. 2001a).

El método ha sido desarrollado, comentado y empleado en la determinación de cromo en muestras de sedimento de Arousa en este capítulo.

PARTE EXPERIMENTAL

1. Instrumental, material y reactivos de laboratorio

1.1. Instrumental

En el laboratorio de preparativa y análisis se ha empleado el instrumental común mencionado en el capítulo 3.

En este capítulo, el instrumental utilizado durante la preparación de las muestras incluye una centrífuga (Centromix Selecta modelo 540, Abrera, España) para separación de extractos, un agitador automático de brazo lateral Vibromatic (Selecta modelo 384, Barcelona, España) para la separación de los extractos del procedimiento BCR clásico, y un agitador Vortex (Heidolph modelo Reax 2000, Schwabach, Alemania) para la homogeneización de disoluciones y muestras inyectadas en ETAAS.

El instrumental de medida empleado consta de un espectrofotómetro de absorción atómica (Perkin Elmer modelo 1100B, Überlingen, Alemania) equipado con un automuestreador automático (Perkin Elmer modelo AS-70, Überlingen, Alemania), un horno (Perkin Elmer modelo HGA 700, Überlingen, Alemania) y una lámpara de cátodo hueco de cromo (Cathodeon, Cambridge, Reino Unido) operando a 12 mA, ancho de banda de 0.7 nm y longitud de onda de 357.9 nm. El equipo está provisto de un corrector de fondo de deuterio. Para la atomización electrotérmica se han usado tubos de grafito pirolítico con plataforma L´Vov (Perkin Elmer, Überlingen, Alemania).

Para las aceleraciones de las extracciones secuenciales se ha utilizado un microondas convencional, y las digestiones con peróxido de hidrógeno se han llevado a cabo en un baño de arena (Trade Raypa modelo Hotplate PL-3920, Barcelona, España).

1.2. Material

El material empleado para manipulación y almacenamiento de muestras y reactivos se describe genéricamente en el capítulo 3. Adicionalmente se han usado tubos de

centrífuga de cierre hermético de polietileno (40 ml) para separación de extractos, y termómetros para el control de temperatura.

Todo el material empleado durante los muestreos y utilizado en los laboratorios de química preparativa e instrumental ha sido sometido a un procedimiento de limpieza, descrito en el apartado de material del capítulo 3.

1.3. Reactivos

Acetato amónico PA (Panreac, Barcelona, España).

Ácido acético de grado HPLC, 99.8% (Scharlau, Barcelona, España).

Ácido nítrico suprapur (69.0-70.5%). BDH, Chemicals LTD, Poole, Reino Unido.

Argón, Ar N-50, S.E.O., 99.999% en pureza, Madrid, España. Usado durante la atomización como gas de purga y como refrigeración durante el programa electrotérmico de los análisis.

Cloruro de hidroxilamina, suprapur (Merck, Darmstadt, Alemania).

Disolución patrón de nitrato de cromo, disolución stock de 1 mg ml^{-1}. BDH, Poole, Reino Unido. Todos los patrones acuosos fueron preparados inmediatamente antes de su uso con agua ultrapura Milli-Q®.

Material de referencia certificado CRM 601. Sedimento de lago, Comisión Europea, Bruselas, Bélgica.

Material de referencia certificado CRM 701. Sedimento de lago, Comisión Europea, Bruselas, Bélgica.

Nitrato de magnesio suprapur (Merck, Darmstadt, Alemania).

Peróxido de hidrógeno 33% (p/v) 110 vol. (Panreac, Barcelona, España).

Todas las disoluciones empleadas han sido preparadas con agua ultrapura Milli-Q® de 18.2 MΩ cm de resistividad específica obtenida con un sistema purificador Milli-Q® (Millipore).

2. Procedimiento de extracción secuencial

En los sedimentos, así como en otro tipo de muestras sólidas, el cromo presenta varias especies, formas o fases con características específicas. Con este trabajo se han considerado especies de cromo funcionalmente móviles e intercambiables, especies operacionalmente reducibles y aquellas oxidables en muestras de sedimentos marinos.

Tal y como se ha indicado en los apartados introductorios de este capítulo, se ha seleccionado para el estudio de fracciones potencialmente biodisponibles el procedimiento de extracción secuencial en tres etapas propuesto por la Community Bureau of Reference (BCR).

Durante el procedimiento de extracción secuencial aplicado (ver Tabla 4- 6) se utilizaron como extractantes: ácido acético diluido, cloruro de hidroxilamina y acetato amónico.

Tabla 4- 6: Procedimiento de extracción secuencial clásico de BCR aplicado a sedimentos marinos.

Etapa	Extracción	Modo de operación	Fracción obtenida
1	CH_3COOH 0.11 mol l^{-1}	Agitación mecánica durante 16 h	Fracción 'ácida soluble'
2	NH_2OH HCl 0.1 mol l^{-1} pH=2 (HNO_3),	Agitación mecánica durante 16 h	Fracción 'reducible'
3^A	H_2O_2 8.8 mol l^{-1}	Digestión durante 3 h en baño de arena	
3^B	NH_4Ac 1 mol l^{-1}, pH=2 (HNO_3),	Agitación mecánica durante 16 h	Fracción 'oxidable'

[A] etapa de digestión del tercer extracto, [B] etapa de extracción del tercer extracto.

El ácido acético es el responsable de extraer la fracción que se denominará en este trabajo 'ácida soluble'. Su carácter diluído y las condiciones suaves con las que se trabaja los hace apto como primer extractante. Esta primera etapa pretende no modificar las características del sedimento marino y asegurarse de que otras fracciones a estudiar posteriormente permanezcan inalteradas. La fracción extraída con ácido acético diluído se corresponde con los iones metálicos intercambiables en el medio acuoso y los carbonatos metálicos solubles.

Tras la primera extracción, el cloruro de hidroxilamina se encarga de separar y disolver la fracción de cromo 'reducible' del sedimento. Esta segunda fracción se corresponde con el cromo asociado a óxidos e hidróxidos de hierro y manganeso. Los extractos de hidroxilamina se han ajustado a pH 2 con una disolución diluída de ácido nítrico.

En tercer lugar, y tras una digestión con peróxido de hidrógeno, el acetato amónico es el responsable de extraer al metal asociado a sulfuros y materia orgánica. Esta tercera y última etapa es la más agresiva, dado que destruye las capas orgánicas de la muestra sólida. La tercera fracción obtenida es la denominada 'oxidable'. La disolución extractante de acetato amónico, al igual que la de hidroxilamina, ha sido ajustada con ácido nítrico a pH 2.

El esquema de trabajo llevado a cabo en el laboratorio se describe en la Figura 4- 1. El apartado de extracción empleando energía de microondas para acelerar el procedimiento en tres etapas clásico se describe con más detalle en un apartado posterior de optimizaciones.

Figura 4- 1: Tratamiento aplicado a la muestra de sedimento durante las extracciones secuenciales en tres etapas siguiendo el esquema BCR.

3. Optimización del programa electrotérmico

Para optimizar el programa electrotérmico, se ha usado una muestra de sedimento marino liofilizado con tamaño de partícula < 63 µm. Se ha aplicado el procedimiento clásico de extracción secuencial BCR en tres etapas (ver Tabla 4- 6 y Figura 4- 1) mediante agitación mecánica de las muestras en contacto con los respectivos extractantes. Los extractos obtenidos han sido empleados para la optimización de los tiempos y temperaturas del programa electrotérmico.

Las optimizaciones han sido estudiadas en ausencia y presencia de $Mg(NO_3)_2$ (50 µg l^{-1}) como modificador de matriz.

3.1. Curvas de mineralización

Las curvas de mineralización han sido estudiadas para los tres extractos (fracción 'ácida soluble', fracción 'reducible' y fracción 'oxidable') en un rango de temperaturas de 800-2000 ºC.

Los resultados se recogen en la Figura 4- 2, la Figura 4- 3, la Figura 4- 4 y la Figura 4- 5.

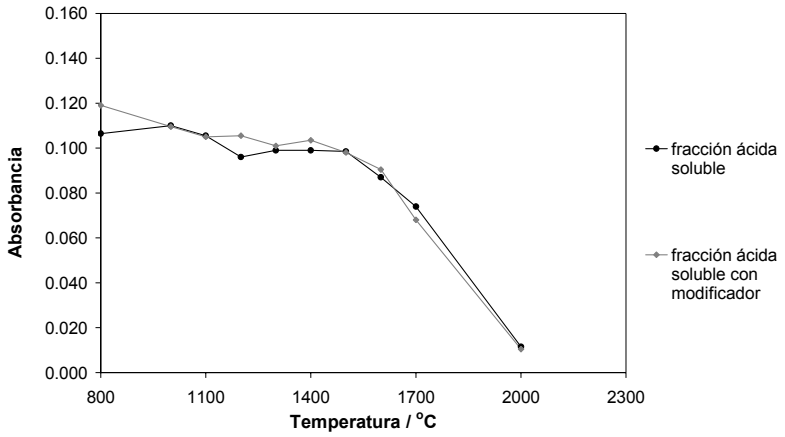

Figura 4- 2: Curvas de mineralización de la fracción 'ácida soluble' (extracto 1 de BCR) con y sin $Mg(NO_3)_2$ como modificador.

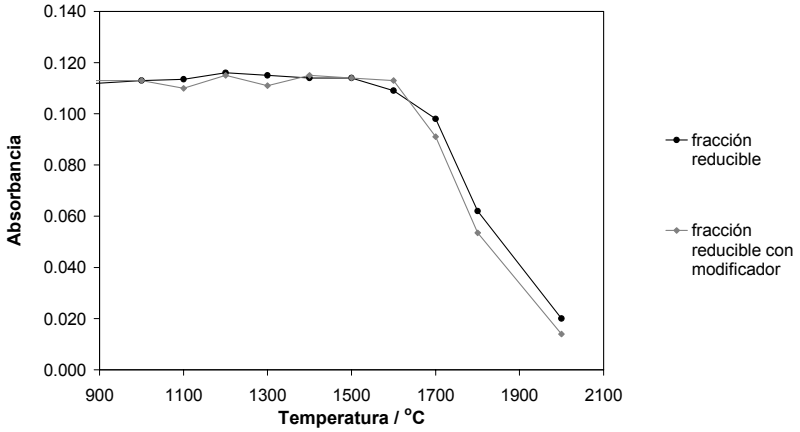

Figura 4- 3: Curvas de mineralización de la fracción 'reducible' (extracto 2 de BCR) con y sin $Mg(NO_3)_2$ como modificador.

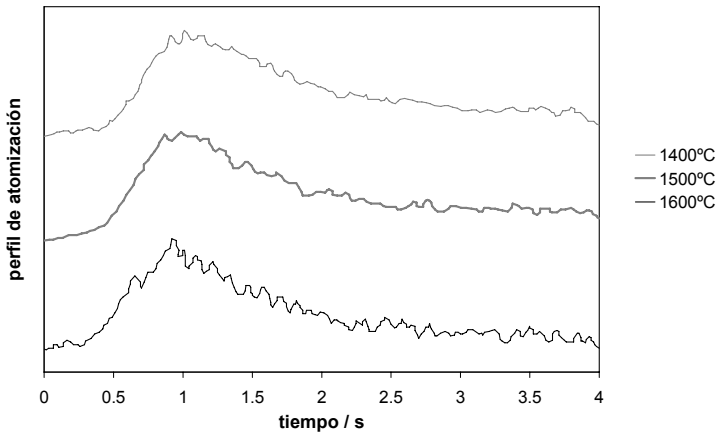

Figura 4- 4: Influencia de la temperatura de mineralización en el perfil del pico de absorbancia durante la atomización de un extracto de la fracción 'reducible' en presencia de $Mg(NO_3)_2$ como modificador.

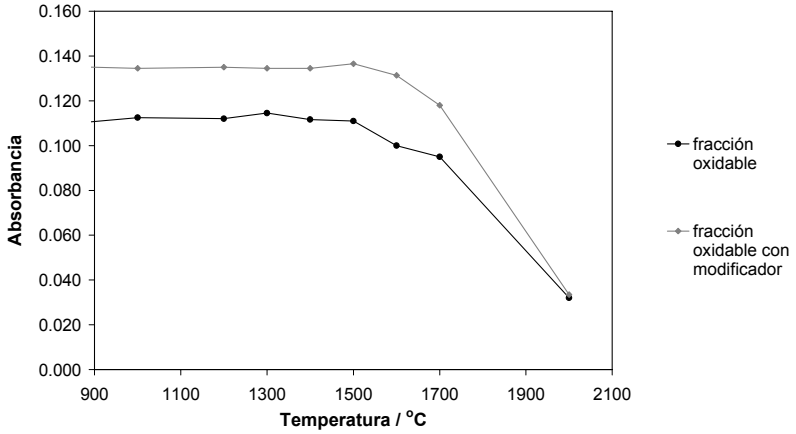

Figura 4- 5: Curvas de mineralización de la fracción 'oxidable' (extracto 3 de BCR) con y sin $Mg(NO_3)_2$ como modificador.

La temperatura óptima de mineralización encontrada para los extractos 1 (fracción 'ácida soluble') y 3 (fracción 'oxidable') del procedimiento de extracción (BCR) ha sido de 1500 ºC. En el caso del extracto 2 (fracción 'reducible') el valor de absorbancia integrada de pico permanece constante a temperaturas superiores a 1600 ºC, pero a partir de esta temperatura la distorsión de los picos registrados por ETAAS es considerable (ver Figura 4- 4). Se ha seleccionado para el extracto 2 la misma temperatura de mineralización que los extractos 1 y 3, evitando la distorsión de picos obtenidas a temperaturas superiores.

3.2. Curvas de atomización

El rango de temperaturas de atomización estudiadas ha sido de 2000 – 2600 ºC.

Los tres extractos han presentado una temperatura óptima de atomización a 2400ºC, y ninguno de ellos ha presentado mejoras en el registro de la señal cuando se ha usado modificador de matriz.

Las curvas de atomización, para una temperatura de mineralización de 1500 ºC, se recogen a continuación (ver Figura 4- 6, Figura 4- 7 y Figura 4- 8).

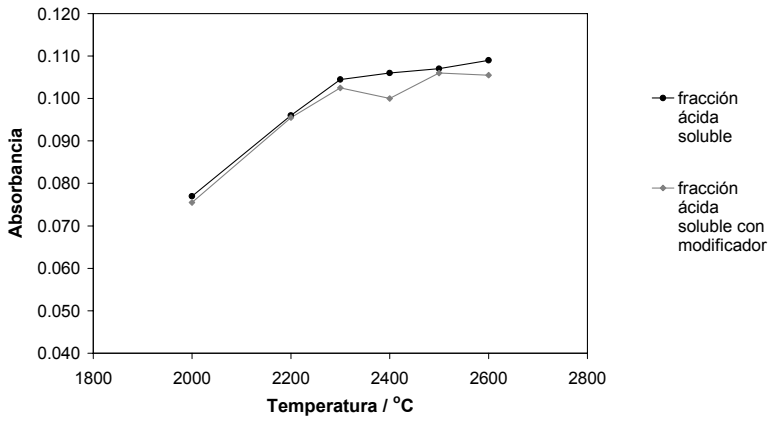

Figura 4- 6: Curvas de atomización de la fracción 'ácida soluble' (extracto 1 de BCR) con y sin $Mg(NO_3)_2$ como modificador a una temperatura de mineralización de 1500 ºC.

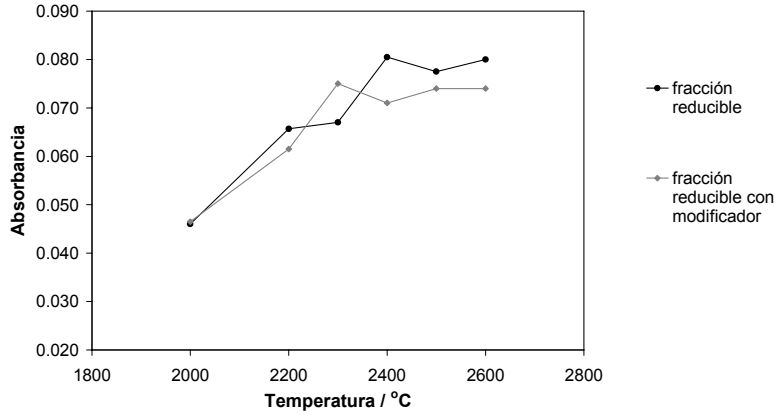

Figura 4- 7: Curvas de atomización de la fracción 'reducible' (extracto 2 de BCR) con y sin $Mg(NO_3)_2$ como modificador a una temperatura de mineralización de 1500 ºC.

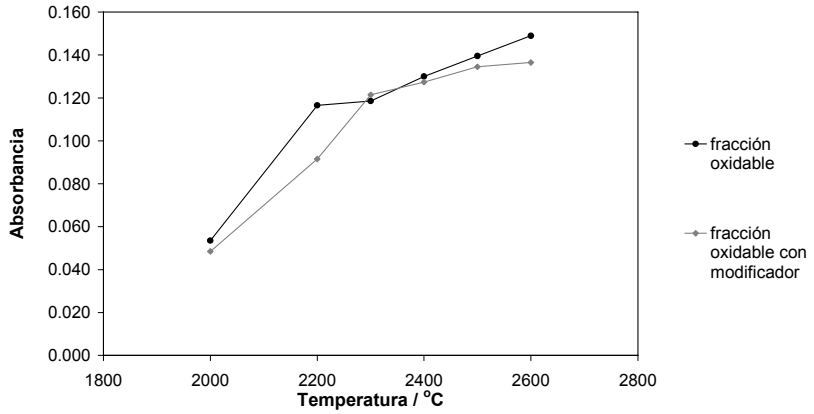

Figura 4- 8: Curvas de atomización de la fracción 'oxidable' (extracto 3 de BCR) con y sin $Mg(NO_3)_2$ como modificador a una temperatura de mineralización de 1500 ºC.

3.3. Concentración de modificador de matriz

Durante las optimizaciones del programa electrotérmico no se observaron diferencias significativas con la adición de $Mg(NO_3)_2$ como modificador de matriz. En este apartado se ha estudiado con mayor detalle el efecto de la cantidad de $Mg(NO_3)_2$ añadida en cada extracto.

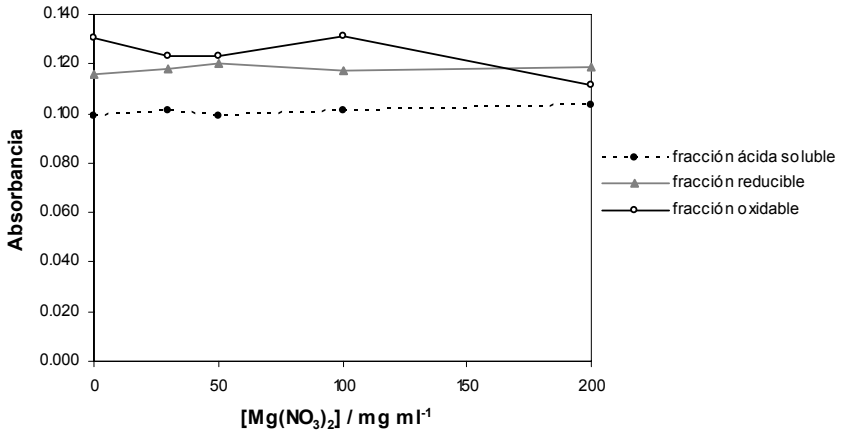

Figura 4- 9: Optimización de la concentración de modificador de matriz.

Las concentraciones añadidas de modificador, de 0 a 200 µg ml^{-1}, no han presentado diferencias significativas tanto en el valor de absorbancia (ver Figura 4- 9) como en el perfil del pico registrado durante la atomización (ver Figura 4- 10). Por ello las medidas por ETAAS para el estudio de las características analíticas y el análisis de muestras medioambientales han sido realizadas en ausencia de modificador de matriz.

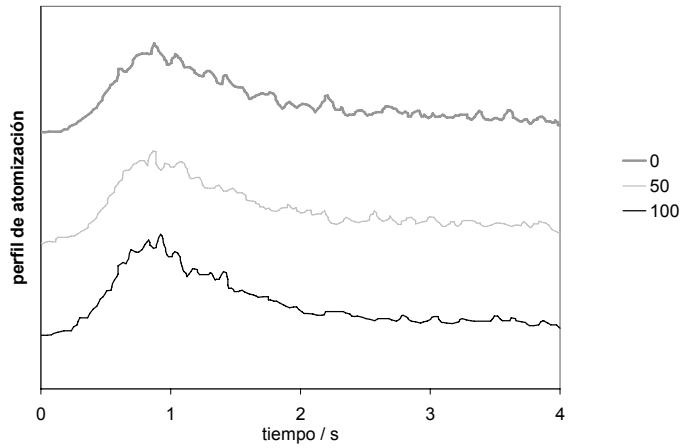

Figura 4- 10: Señales de absorbancia registradas en la etapa de atomización de la fracción 'oxidable' para distintas concentraciones de modificador de matriz [$Mg(NO_3)_2$ / µg ml^{-1}].

3.4. Programa optimizado

Una vez finalizadas las optimizaciones del programa electrotérmico, se adoptaron los parámetros instrumentales indicados en la Tabla 4- 7 y la Figura 4- 11, tanto para el estudio de las características analíticas del método como para análisis rutinario de los extractos (fracciones 'ácida soluble', 'reducible' y 'oxidable') en muestras de sedimento marino.

Tabla 4- 7: Parámetros instrumentales empleados para la determinación de cromo por ETAAS.

ESPECTRÓMETRO				
Corriente de la lámpara	12 mA			
Rendija de paso	0.7 nm			
Volumen de inyección	20 μl			
Longitud de onda (λ)	357.9 nm			
Corrección de fondo	Lámpara de deuterio			
PROGRAMA ELECTROTÉRMICO				
Etapa	**Temperatura / ^{o}C**	**Rampa / s**	**Tiempo / s**	**Flujo de Ar / cm^3 min^{-1}**
Secado	120	10	20	300
Mineralización	1500	10	20	300
Atomización	2400	0	4	0[¥]
Limpieza	2650	1	2	300

[¥] Registro de la señal de cromo durante la etapa de atomización.

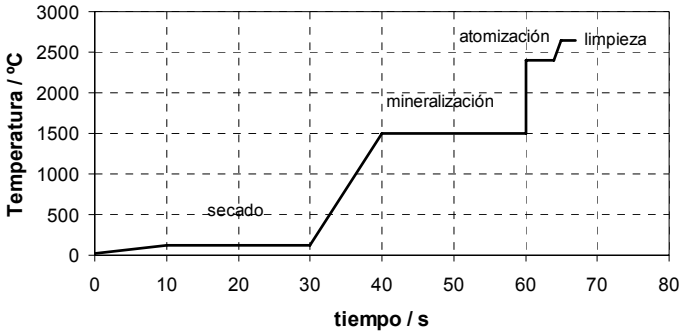

Figura 4- 11: Perfil del programa electrotérmico optimizado para la determinación de cromo en las fracciones 'ácida soluble', 'reducible' y 'oxidable' extraídas de sedimentos marinos.

4. Aceleración de las extracciones con energía de microondas

El procedimiento de extracción secuencial en tres etapas clásico (BCR) aplicando agitación mecánica requiere más de 50 horas para su ejecución completa. Cada una de las extracciones consume 16 horas, y la etapa de digestión con peróxido de hidrógeno otras tres horas.

La etapa de digestión con peróxido de hidrógeno se ha realizado en baño de arena y abierta al ambiente bajo campanas extractoras. La aceleración de la etapa digestiva ha sido problemática debido a la formación abundante de espumas y se ha optado por no modificarla para su acortamiento.

Se ha reducido el tiempo de extracción empleando energía de microondas para facilitar análisis rutinarios. Esta decisión ha sido justificada en los apartados de la introducción de este capítulo. Las condiciones aplicadas en los tres pasos de extracción han sido suaves, pretendiendo no modificar las características de la matriz de la muestra (Pazos Capeáns, P. y col. 2005).

Las variables estudiadas para la aceleración con microondas han sido la potencia y el tiempo de exposición. Se aplicaron tiempos de exposición entre 30 y 180 segundos para la primera extracción, entre 30 y 120 segundos para la segunda extracción, y entre 60 y 180 segundos para la tercera extracción. La potencia experimental aplicada ha sido de 66 W para las tres extracciones y adicionalmente 198 W para la tercera.

Con el estudio comparativo de las aceleraciones con energía de microondas se ha aplicado el procedimiento de extracción secuencial en tres etapas completo. Se han variado tiempos y potencias en la fracción 'ácida soluble' (extracto 1) como se ha indicado, y una vez se han obtenido los resultados comparables al procedimiento clásico de esta fracción, se ha procedido a lavar el sedimento residual y estudiar las potencias y tiempos adecuados para la siguiente fracción (extracto 2). Se ha procedido de igual modo para la extracción de la fracción 'oxidable' (extracto 3) que para las anteriores. Es decir, una vez optimizadas potencia y tiempo de la segunda extracción, se ha lavado el sedimento residual y se le ha aplicado las distintas potencias de microondas con el último de los extractantes. La aceleración de la tercera extracción ha sido estudiada una vez se ha destruido la matriz orgánica con peróxido de hidrógeno en el baño de arena (ver detalles en la Figura 4- 12).

La concentración de cromo en los tres extractos obtenidos durante las optimizaciones ha sido determinada por ETAAS aplicando las condiciones del apartado 3.4 de este capítulo (ver programa optimizado) y no se ha empleado modificador de matriz (ver apartado 3.3). Los resultados de la aceleración por microondas de cada uno de los extractos se muestran en la Tabla 4- 8.

Tabla 4- 8: Concentración de cromo encontrada en los extractos obtenidos aplicando el procedimiento BCR clásico y empleando energía de microondas.

	Fracción 'ácida soluble': extracción a 66 W	
Tiempo / s	**Cr / µg g^{-1}**	**SD / µg g^{-1}**
BCR*	0.164	0.004
30**	**0.164**	**0.006**
45	0.163	0.007
60	0.164	0.007
120	0.170	0.005
180	0.168	0.006
	Fracción 'reducible': extracción a 66 W	
Tiempo / s	**Cr / µg g^{-1}**	**SD / µg g^{-1}**
BCR*	0.14	0.04
30**	**0.14**	**0.03**
60	0.124	0.014
120	0.134	0.011
	Fracción 'oxidable': extracción a 66 W	
Tiempo / s	**Cr / µg g^{-1}**	**SD / µg g^{-1}**
BCR	4.0	0.4
60	3.0	0.3
120	2.62	0.19
180	3.0	0.5
	Fracción 'oxidable': extracción a 198 W	
Tiempo / s	**Cr / µg g^{-1}**	**SD / µg g^{-1}**
BCR*	4.0	0.4
60**	**4.1**	**0.5**
120	4.5	0.3
180	4.4	0.2

*valor de referencia obtenido aplicando la agitación mecánica convencional durante 16 horas.
**valores comparables con el procedimiento convencional BCR de referencia.

Las concentraciones de cromo obtenidas para el primer y segundo extracto a 66 W, y el tercer extracto a 198 W han sido comparadas con el resultado del método convencional aplicando un test t. No se han encontrado diferencias significativas a un

nivel de confianza del 95 % con los valores indicados en negrita (30 segundos a 66 W para las dos primeras extracciones y 60 segundos a 198 W para la tercera).

En este apartado, y con el esquema de extracción acelerado por microondas se han reducido los tiempos considerablemente (ver Figura 4- 12). El tiempo del procedimiento se ha reducido de 51 h (16 h × 3 con las extracciones y 3 h con la digestión) aplicado en el protocolo convencional, a 3 h y 2 min en el protocolo acelerado. Los resultados obtenidos por este método son comparables a los obtenidos de forma convencional, por lo que es aconsejable emplear el procedimiento acelerado para ahorrar tiempo.

Los experimentos en horno microondas fueron llevados a cabo usando tubos de centrífuga dado que no se aplicaron condiciones muy agresivas y no se ha observado pérdidas o ebullición de extractante.

El procedimiento modificado de extracción secuencial en tres etapas se describe a continuación.

En la primera etapa, se añaden 10 ml de ácido acético 0.11 mol l^{-1} a 0.25 g de sedimento marino en un tubo de centrífuga, y tras agitación manual durante unos segundos se introduce en el horno de microondas durante 30 segundos a una potencia de 66 W. La agitación manual previa a la etapa de microondas tiene la finalidad de poner todo el extractante en contacto con la muestra sólida. El tubo se extrae del horno, se centrifuga (3000 rpm durante 10 minutos) y el sobrenadante (fracción 'ácida soluble') se analiza por ETAAS. Tras la centrifugación se añade al residuo de sedimento 5 ml de agua Milli-Q®, se agita manualmente unos segundos y se procede a separar las aguas de lavado por centrifugación (3000 rpm durante 10 minutos) para eliminar de la muestra residual los restos de ácido acético diluido.

En la segunda etapa, se añaden 10 ml de cloruro de hidroxilamina 0.1 mol l^{-1} (pH 2 ajustado con ácido nítrico) al residuo sólido de la primera etapa. La extracción se realiza de igual modo al procedimiento descrito en la primera etapa (30 segundos a una potencia de 66 W). Tras la centrifugación, el sobrenadante (fracción 'reducible') se analizó por ETAAS.

Tras el lavado del sedimento (eliminación de restos de hidroxilamina) y separación de las aguas de lavado del residuo sólido, en la tercera etapa se ha procedido a digerir con peróxido de hidrógeno el sedimento residual de acuerdo con el esquema clásico de BCR (ver detalles en la Figura 4- 12). En esta última etapa se ha añadido al

residuo sólido 12.5 ml de acetato amónico 1.0 mol l^{-1} (pH 2 ajustado con ácido nítrico). La extracción en microondas se realiza también tras agitación manual durante unos segundos. Las condiciones de microondas que se ajustan al procedimiento clásico han sido aplicando calentamiento durante 1 minuto a 198 W.

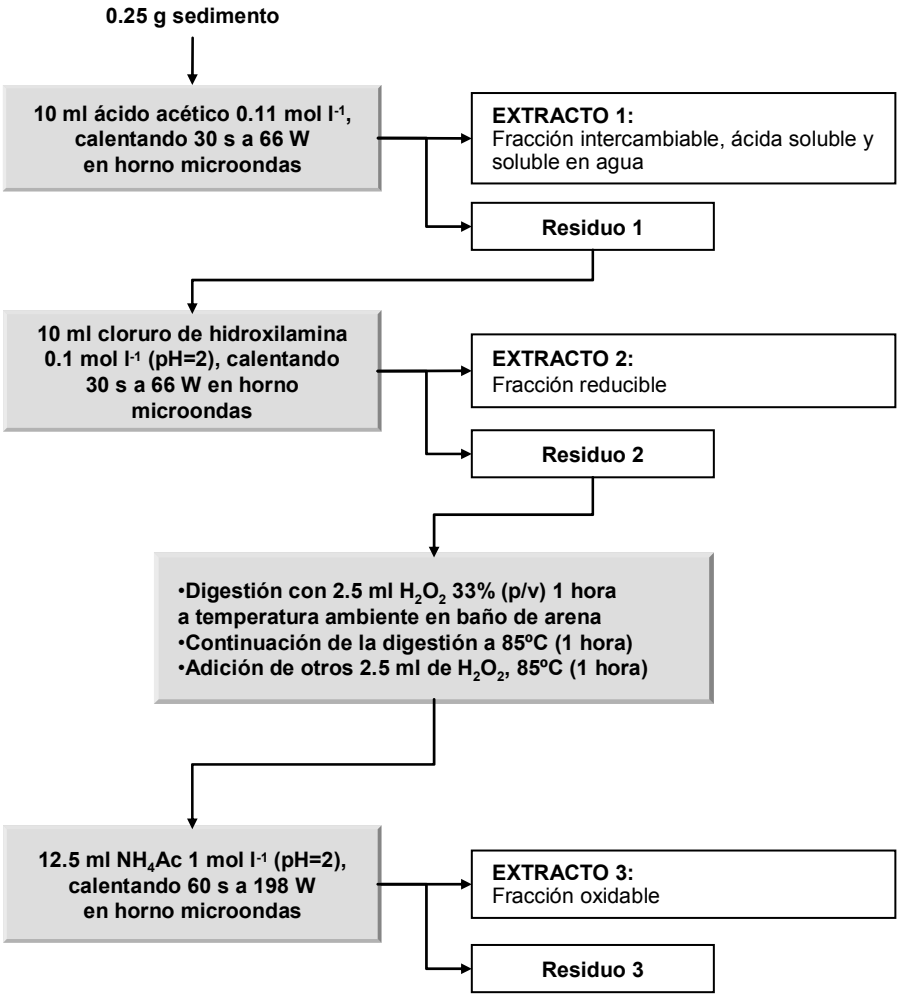

Figura 4- 12: Esquema de extracción secuencial acelerado por microondas.

5. Parámetros analíticos

5.1. Rango lineal. Rectas de calibrado y adición estándar

Trabajando en ETAAS, es sabido que las señales de los picos de absorbancia dependen de la vida del tubo de grafito pirolítico empleado durante los análisis.

Existe una relación lineal entre las medidas de absorbancia integrada de pico (A) y la concentración de cromo (μg l^{-1}). Tanto con disoluciones estándar como con extractos de muestras de sedimento el rango lineal abarca de 0 a valores superiores a 10.0 μg l^{-1}. Pero de acuerdo con los resultados registrados, hemos seleccionado un valor máximo de concentración de patrones acuosos de metal de 7.5 μg l^{-1} para la medida de rectas de calibrado y adición dado que presenta la suficiente sensibilidad.

Para obtener cada recta de calibrado acuoso, se han preparado patrones de concentraciones 0, 2.5, 5 y 7.5 μg l^{-1}. En el método de adición estándar también se empleó el mismo rango de concentraciones de cromo con los extractos obtenidos del procedimiento de extracción secuencial BCR desarrollado.

Las ecuaciones obtenidas se recogen en la Tabla 4- 9.

Tabla 4- 9: Rectas de calibrado acuoso y adición estándar de cada extracto de BCR procedente de un sedimento marino.

	Ecuación lineal*	**Coeficiente de correlación (r)**
Recta de calibrado	$A= 0.0007+ 1.75 \times 10^{-2} C$	0.9998
Adición‡ con fracción 'ácida soluble'	$A= 0.0331+ 1.82 \times 10^{-2} C$	0.9990
Adición‡ con fracción 'reducible'	$A= 0.0245+ 1.84 \times 10^{-2} C$	0.9986
Adición‡ con fracción 'oxidable'	$A= 0.0542+ 3.58 \times 10^{-2} C$	0.9994

*Los patrones empleados en calibrados y adiciones son disoluciones acuosas preparadas diariamente a partir de una disolución de $Cr(NO_3)_3$ comercial y tras una dilución intermedia de dicho patrón.
‡ La adición estándar se elaboró partiendo de 500 μl de extracto 1, 500 μl de extracto 2 o 100 μl de extracto 3, llevados a 1 ml e inyectados en el dispositivo de ETAAS.

En los ajustes lineales recogidos en la Tabla 4- 9, A representa la absorbancia obtenida en los picos de cromo y C su concentración en μg l^{-1}. Se han estudiado las pendientes de la recta de calibrado y las rectas de adición de cada extracto. Las medidas se han llevado a cabo en una misma sesión para cerciorarse de que el tubo de grafito pirolítico presentaba la misma sensibilidad.

Cada pendiente de adición estándar se comparó con la pendiente del calibrado acuoso aplicando un test t (con nivel de significación del 95%) (Blanco, M. y col. 1994). No se encontraron diferencias significativas en la adición de la fracción 'ácida soluble' ni en la 'reducible' pero si que existieron diferencias entre el calibrado acuoso y la adición de la fracción 'oxidable'. Los resultados estadísticos se han verificado con varias muestras de sedimento marino y sus respectivos calibrados y adiciones, por lo que se decidió emplear calibrados acuosos para las medidas de los dos primeros extractos de BCR. El tercer extracto (fracción 'oxidable'), al presentar efecto matriz, ha sido medido en muestras con adiciones estándar.

5.2. Sensibilidad del método

Se ha estudiado la sensibilidad del método a través de tres parámetros analíticos: límite de detección (LOD), límite de cuantificación (LOQ) y masa característica (m_o) (Keith, L. H. y col. 1983). Estos parámetros se han definido en el capítulo 3.

Los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) obtenidos son los que se recogen en la Tabla 4- 10. Los cálculos de los mismos se han realizado a partir de diez medidas de un blanco (n=10). Ha de considerarse que se ha partido de 0.25 g de sedimento y los volúmenes de extractantes empleados son 10 ml (extractante 1), 10 ml (extractante 2) y 12.5 ml (extractante 3).

Tabla 4- 10: Límites de detección y cuantificación de los extractos de BCR.

	LOD		LOQ	
	µg l^{-1}	µg g^{-1}	µg l^{-1}	µg g^{-1}
Fracción 'ácida soluble'	0.74	0.030	2.5	0.10
Fracción 'reducible'	0.82	0.033	2.7	0.11
Fracción 'oxidable'	0.29	0.015	1.0	0.048

Para la primera etapa extractiva del procedimiento, el blanco ha consistido en introducir en el horno microondas durante 30 segundos a 66 W 10 ml de ácido acético 0.11 mol l^{-1}. De este modo obtenemos el blanco de la fracción 'ácida soluble'.

Para la segunda etapa del procedimiento el blanco ha consistido en introducir en el horno microondas durante 30 segundos a 66 W 10 ml de cloruro de hidroxilamina 0.10 mol l^{-1} (pH 2 con ácido nítrico). En este caso obtenemos el blanco de la fracción 'reducible'.

Para la tercera etapa del procedimiento el blanco ha consistido en aplicar a los reactivos una digestión y una extracción consecutivas. Se ha sometido a 5 ml de peróxido de hidrógeno comercial a una digestión en dos etapas en baño de arena (85 ºC durante 3 horas, hasta sequedad) tal y como se describe en la Figura 4- 12. Tras esta digestión, en el mismo recipiente se han trasvasado 12.5 ml de acetato amónico 1 mol l^{-1} (pH 2 con ácido nítrico), que se ha sometido a 198 W durante 60 segundos en horno microondas. Se obtiene en este caso el blanco correspondiente a la fracción 'oxidable'.

La masa característica, m_o, se define como la masa de analito en picogramos que se necesita para registrar una señal de 0.0044 de absorbancia por ETAAS. El valor obtenido ha sido 3.0 $\pm$ 0.5 pg, 2.8 $\pm$ 0.5 pg y 3.0 $\pm$ 0.8 pg para el extracto 1, 2 y 3 respectivamente.

5.3. Precisión y exactitud

Se ha aplicado el procedimiento total a 5 submuestras de sedimento marino. Las concentraciones obtenidas son las siguientes: 0.191 ± 0.006 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ en el primer extracto, 0.126 ± 0.008 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ en el segundo extracto y 5.85 ± 0.16 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ en el tercer extracto.

La precisión obtenida ha sido de 3.3%, 6.2% y 2.7% para los extractos 1, 2 y 3 respectivamente, siendo la mejor repetibilidad la obtenida para los extractos 1 y 3.

Para estudiar la exactitud del método se han utilizado dos materiales certificados: CRM 601 y CRM 701 (ver resultados en la Tabla 4- 11).

El CRM 601 es un sedimento de lago que únicamente tiene certificada la concentración de cromo en el primer extracto (0.36 $\pm$ 0.04 µg g^{-1}). Este material de referencia ha sido sometido a la primera etapa de extracción secuencial BCR convencional (agitación mecánica durante 16 horas) y al procedimiento acelerado (energía de microondas). Los resultados obtenidos fueron 0.390 $\pm$ 0.018 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y 0.390 $\pm$ 0.015 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ respectivamente.

Empleando el CRM 701, otro sedimento de lago certificado, se ha estudiado el cromo extraíble en la primera y tercera etapa del procedimiento BCR. Para este material se ha seguido un procedimiento de extracción modificado al que no se aplica las condiciones clásicas de la segunda etapa (fracción 'reducible'). Los autores de este nuevo material certificado aplican en la extracción cloruro de hidroxilamina 0.5 mol l^{-1}

ajustando el pH a 1.5. Estas condiciones difieren claramente del esquema seguido en este trabajo (BCR clásico). Las concentraciones y los valores de pH del esquema propuesto inicialmente por la BCR se pueden ver en la Tabla 4- 6 y la Figura 4- 12.

Con estos resultados podemos concluir que el método desarrollado es preciso para la extracción 1 y 3, y que los resultados son comparables con el procedimiento BCR clásico.

La recuperación analítica obtenida al añadir cromo a las tres etapas ha resultado satisfactoria. Los valores obtenidos son de 98.8%, 92.9% y 102.3% para los extractos 1, 2 y 3 respectivamente. En los tres casos podemos concluir que las recuperaciones obtenidas son adecuadas.

Tabla 4- 11: Concentración de cromo (μg g^{-1}) de los materiales de referencia certificados (CRM) analizados aplicando las condiciones de aceleración optimizadas con energía de microondas.

	Fracción 'ácida soluble'	**Fracción 'oxidable'**
CRM 601	0.39 ± 0.02	
CRM 701	2.26 ± 0.04	136 ± 6
Valor de referencia	2.26 ± 0.16[a] 0.36 ± 0.04[b]	143 ± 7

[a]valor certificado de cromo (μg g^{-1}) en CRM 701 extraído en la primera etapa de BCR
[b]valor certificado de cromo (μg g^{-1}) en CRM 601 extraído en la primera etapa de BCR

6. Análisis de muestras

Se han finalizado las optimizaciones del método de aceleración del procedimiento de extracción secuencial en tres etapas propuesto por la BCR, las optimizaciones para la determinación de cromo en los extractos por ETAAS, y el estudio de las características analíticas del método. Después se ha llevado a cabo la determinación de la concentración de cromo en las fracciones 'ácida soluble', 'reducible' y 'oxidable' de los sedimentos marinos procedentes de la Ría de Arousa a los que se había analizado ya el contenido total de cromo. La localización de las estaciones de muestreo se detalla a continuación en cada mapa de distribución de todas las fracciones para cada uno de los muestreos.

Para más detalles del muestreo, almacenamiento y pretratamiento de los sedimentos estudiados, consultar las observaciones recogidas en el capítulo 3.

Las muestras, como se ha explicado con anterioridad, han sido recolectadas por triplicado en cada estación. Una vez liofilizadas y tamizadas, tres submuestras de cada sedimento marino (fracción de < 63 μm) han sido sometidas al procedimiento de extracción secuencial en tres etapas acelerado por microondas. En cada extracto obtenido se ha procedido a la cuantificación de la concentración de cromo mediante los programas electrotérmicos optimizados. Los resultados obtenidos (expresados como promedio ± desviación estándar) proceden de 6 submuestras analizadas por ETAAS de cada estación de Arousa (n = 6).

La distribución de la concentración de cromo a lo largo del estuario ha sido representada en mapas de contorno para cada uno de los muestreos y para cada una de las fracciones extraídas. Se ha aplicado el método de interpolación denominado 'kriging' de acuerdo con las recomendaciones para este tipo de aplicación medioambiental (Cressie, N. A. C. 1993), al igual que se hizo en los mapas calculados para el contenido total de cromo.

6.1. Resultados de la fracción 'ácida soluble' en los cuatro muestreos de la Ría de Arousa

En las tablas de resultados de este apartado los valores señalados con negrita son concentraciones que se encuentran entre el límite de detección y el límite de cuantificación (consultar LOD y LOQ de esta fracción en la Tabla 4- 10 de este capítulo).

Los sedimentos marinos de Arousa fueron recolectados en las cuatro campañas durante el 2002 y el 2003. La doble recolección anual (verano e invierno) ha servido para estudiar posibles cambios estacionales en la concentración metálica de la fracción 'ácida soluble' en los sedimentos marinos.

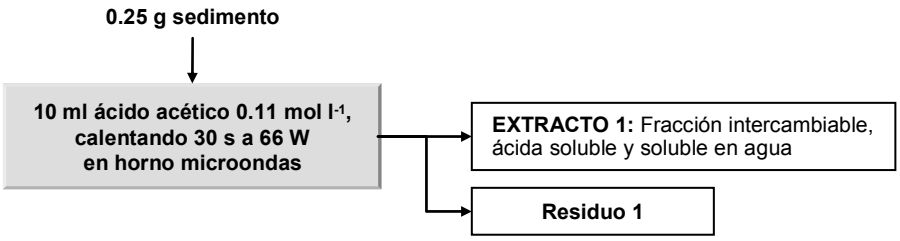

Figura 4- 13: Primer extracto analizado en el procedimiento de extracción secuencial acelerado por microondas de muestras de sedimentos de la Ría de Arousa.

En la Figura 4- 13 se observa la etapa extractiva llevada a cabo para la obtención de esta fracción de cromo. Una vez finalizada esta etapa, se ha separado cada extracto de su respectivo residuo sólido por centrifugación (10 minutos a 3000 rpm), y el residuo sólido ha sido lavado con 5 ml de agua Milli-Q®. Las aguas de lavado han sido separadas del sedimento con una nueva centrifugación en las mismas condiciones de separación del extracto.

Se ha cuantificado, por tanto, el cromo en los extractos de ácido acético diluido por ETAAS con el programa optimizado.

6.1.1. Sedimentos del muestreo de invierno de 2002

En este apartado se encuentran en la Figura 4- 14 y en la Tabla 4- 12 los resultados obtenidos para los análisis de la fracción 'ácida soluble' de cromo en los sedimentos marinos recolectados en Arousa durante el muestreo de invierno de 2002.

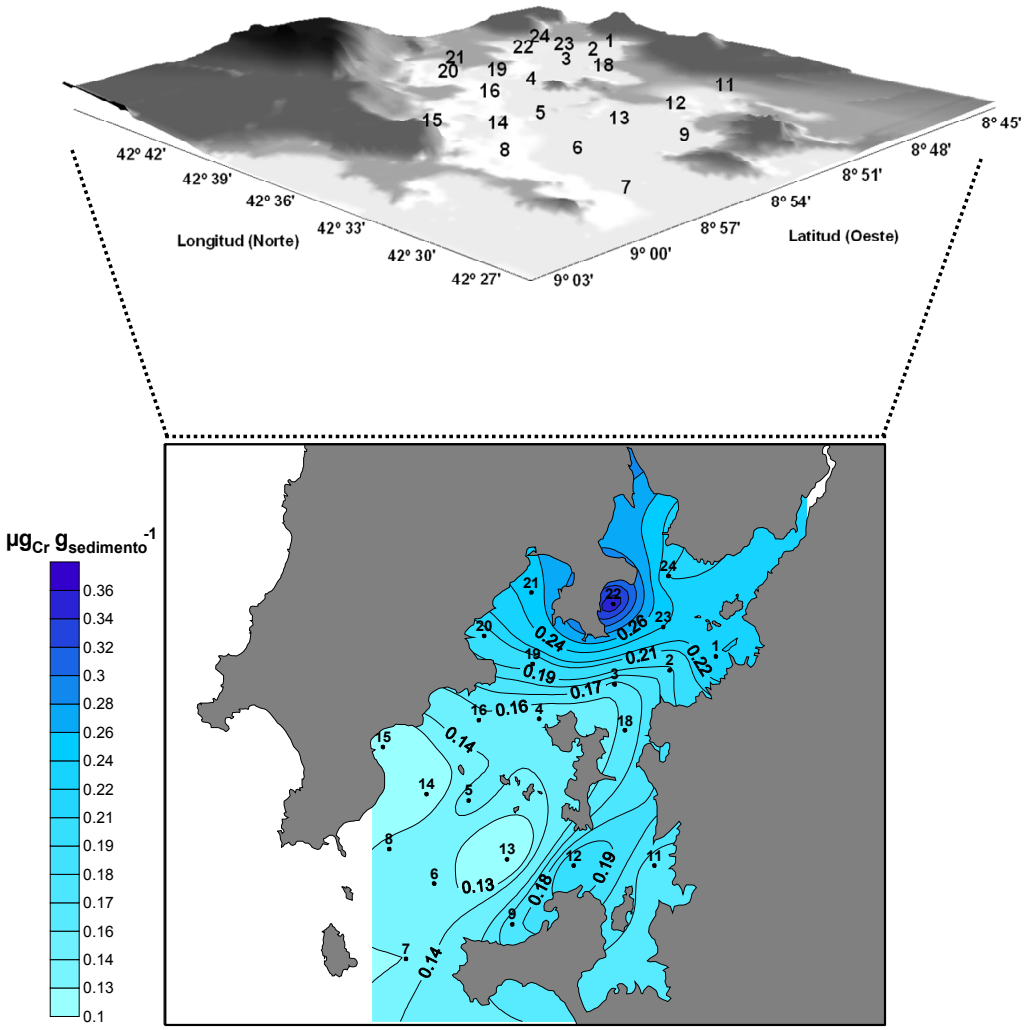

Figura 4- 14: Distribución de la fracción 'ácida soluble' de cromo del muestreo de invierno de 2002. Resultados de los análisis del primer muestreo.

Tabla 4- 12: Concentración de cromo medida en la fracción 'ácida soluble' de los sedimentos marinos recolectados en el primer muestreo.

	Muestreo 1: invierno de 2002		
estación	**Cr / μg g^{-1}**	**SD / μg g^{-1}**	**CV / %**
1	0.241	0.008	3.2
2	0.185	0.019	10.4
3	0.165	0.002	1.3
4	0.145	0.006	4.0
5	0.147	0.016	10.6
6	0.140	0.015	10.9
8	0.136	0.014	10.1
9	0.177	0.008	4.6
11	0.162	0.009	5.7
12	0.210	0.019	9.2
13	0.100	0.011	10.8
14	0.117	0.012	10.1
15	0.11	0.03	29.0
16	0.157	0.005	3.4
18	0.164	0.014	8.7
19	0.196	0.011	5.9
20	0.204	0.014	6.7
21	0.25	0.02	9.4
22	0.36	0.05	13.3
23	0.2401	0.0005	0.2
24	0.22	0.02	11.0

Como se puede comprobar en la Tabla 4- 12, todas las estaciones analizadas en este apartado han presentado un contenido de cromo en la fracción 'ácida soluble' superior al límite de cuantificación (0.10 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$).

En el primer muestreo se obtuvo el valor promedio de concentración metálica de esta fracción más bajo de los cuatro muestreos realizados en los sedimentos de Arousa (0.18 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). También aquí es donde la diferencia entre la estación de mayor concentración y la de menor concentración es mínima (0.26 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$).

En esta campaña la estación 24 no es, como ocurría con el contenido total de cromo, la de mayor contenido metálico en la fracción 'ácida soluble'. Se sitúa entre los puntos de muestreo de mayor concentración, por el siguiente orden, las estaciones 22, 21, 1, 23, 24, 12 y 20. Este grupo de estaciones se han citado por orden decreciente de

contenido metálico, desde 0.36 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ hasta 0.20 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ respectivamente para la primera y última estación citada.

El área de mayor contenido metálico se localiza en una zona interna de la ría. No pertenecen a este grupo las estaciones 2, 3 y 18, ya que han presentado un contenido intermedio. Estas tres estaciones citadas se sitúan próximas a la zona más interna del estuario. Por otra parte, la estación 12 muestra unos niveles relativamente elevados sin tener una proximidad geográfica con el área mencionada de mayor concentración de cromo.

Las estaciones de menor nivel metálico han sido las siguientes: 6, 8, 14, 15 y 13, nombradas por orden decreciente de contenido en cromo, con concentraciones iguales o inferiores a 0.14 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Esta zona de menor concentración es la más próxima al Océano Atlántico en la orilla norte de la ría, situada en las cercanías de la isla de Sálvora. No se puede incluir aquí la estación 7, dado que no se ha podido recolectar sedimento en ese punto de características rocosas.

Otro conjunto de estaciones son las siguientes: 19, 2, 9, 3, 18, 11, 16, 5 y 4. Se han nombrado por orden decreciente de concentración y se sitúan con valores de cromo entre 0.20 y 0.14 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Este grupo de puntos de muestreo, que presentan valores metálicos intermedios, puede localizarse geográficamente en un área central de la ría.

La zona de mayor contenido metálico se ha centrado en las proximidades a la estación 22 de la ría (ver Figura 4- 14). A lo largo del estuario, el contenido de cromo perteneciente a esta fracción es relativamente bajo, y su variación espacial no es tan clara como en el caso de los análisis totales (comentados en el capítulo 3). En general se sigue cumpliendo que la zona más externa de la ría, y más próxima al Océano Atlántico, es la de menor contenido metálico. A esto se añade que no existe un comportamiento diferenciado entre las orillas norte y sur de la ría. El área que rodea a la estación 22 ha resultado ser con diferencia superior en contenido metálico a cualquier otra estación por lo que se ha considerado como un caso aparte del resto de la ría.

Con diferencia, el punto de recogida de muestra en donde la fracción ‘ácida soluble’ se ha mostrado menos homogénea ha sido la estación 15 (29%). Esta estación ha sido la segunda de menor contenido en cromo, después de la estación 13

(0.10 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). Le siguen, con un coeficiente de variación sensiblemente inferior, las estaciones 22, 24, 6, 13 y 5 (13-11%).

La concentración de metal más elevada aparece en la zona interna y se va diluyendo conforme nos acercamos al Océano Atlántico. La orientación y direcciones de entrada y salida de las corrientes marinas apuntan a una dilución a favor del flujo de salida del agua fluvial, que se ve frenada por las corrientes de entrada al estuario. La posición central de la isla de Arousa no afecta a la distribución de cromo en la fracción 'ácida soluble' de los sedimentos marinos analizados en esta campaña. No es concluyente que exista alguna influencia debida a las corrientes marinas en la Ría de Arousa que afecten al contenido en cromo de los análisis de esta fracción. Ni comparando los niveles de cromo en ambas orillas de la ría, ni teniendo especial atención al canal de entrada, de mayor profundidad, se observa algún tipo de correlación del contenido de cromo en esta fracción con la profundidad de la zona muestreada.

Es decir, en relación con la distancia al Océano Atlántico se observa que las corrientes de entrada en la ría parecen favorecer la retención del metal en la zona interna. La dilución de cromo se sucede de forma gradual conforme nos distanciamos de esta área hasta llegar a concentraciones de cromo mínimas.

La zona más próxima a Rianxo (estación 24) no ha presentado los mayores niveles de cromo. Los máximos se han encontrado en una estación próxima (22) en la que no existe actividad portuaria cercana.

A este respecto también se puede decir que las estaciones próximas a otros puertos de mar como Ribeira, Pobra do Caramiñal, Cambados o Vilagarcía de Arousa presentan concentraciones variables. No existe en este muestreo una correlación directa entre la proximidad de la zona analizada a un puerto de mar próximo con el contenido metálico de la fracción 'ácida soluble'.

Otra observación a tener en cuenta es la proximidad de la estación muestreada con bateas de mejillones, como bien se ha comentado en el capítulo de análisis total de cromo en los sedimentos de Arousa. Las estaciones de sedimento que se han situado muy próximas a este tipo de explotaciones acuícolas (2, 4, 9, 18, 21 y 23) no han presentado un valor superior al resto de estaciones y su contenido ha sido variable. De ellas, la estación 4 ha presentado un menor nivel de cromo (0.14 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) y el resto de estaciones han mostrado concentraciones variables entre 0.16 y 0.25 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. En la fracción 'ácida soluble' de este primer muestreo, al

igual que para el contenido total de cromo, no ha influido la cercanía a bateas en la cantidad de cromo analizado en los sedimentos. Es decir, no existe un aporte de concha y restos de mejillón que aumenten el cromo de la fracción ‘ácida soluble’ de estas estaciones.

6.1.2. Sedimentos del muestreo de verano de 2002

En este apartado se encuentran en la Figura 4- 15 y en la Tabla 4- 13 los resultados obtenidos para los análisis de la fracción 'ácida soluble' de cromo en los sedimentos marinos recolectados en Arousa durante el muestreo de verano de 2002.

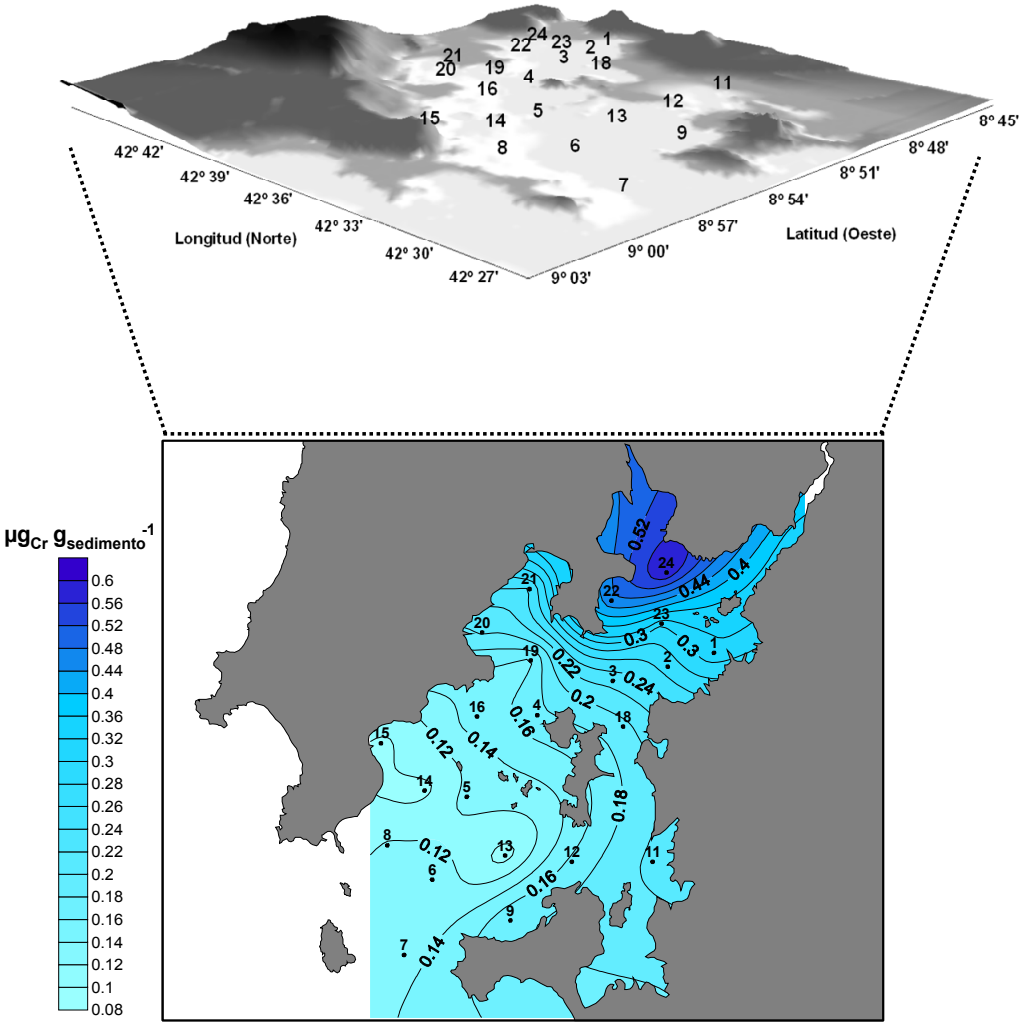

Figura 4- 15: Distribución de la fracción 'ácida soluble' de cromo del muestreo de verano de 2002. Resultados de los análisis del segundo muestreo.

Tabla 4- 13: Concentración de cromo medida en la fracción 'ácida soluble' de los sedimentos marinos recolectados en el segundo muestreo.

	Muestreo 2: verano de 2002		
estación	**Cr / µg g^{-1}**	**SD / µg g^{-1}**	**CV / %**
1	0.31	0.03	8.0
2	0.27	0.03	10.2
3	0.227	0.010	4.3
4	0.175	0.017	9.6
5	0.1249	0.0017	1.4
6	0.132	0.006	4.4
8	0.123	0.009	6.9
9	0.1788	0.0010	0.6
11	0.205	0.016	7.9
12	0.165	0.015	9.1
13	**0.091**	0.003	3.5
14	**0.095**	0.005	5.7
15	**0.095**	0.008	8.8
16	0.154	0.010	6.8
18	0.193	0.013	6.8
19	0.155	0.006	3.6
20	0.203	0.011	5.3
21	0.24	0.02	9.7
22	0.47	0.05	11.7
23	0.30	0.03	10.8
24	0.60	0.03	4.3

En el segundo muestreo se obtuvo un valor promedio de concentración de cromo en la fracción ‘acida soluble’ superior al muestreo anterior en sedimentos de Arousa (0.21 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). La diferencia entre la estación de mayor concentración y la de menor concentración es superior también a la obtenida en el primer muestreo, dado que las estaciones de mayor contenido en cromo crecen en concentración (rango de 0.50 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). El cambio de rango entre el primer y el segundo muestreo es el mayor detectado entre campañas consecutivas.

En la Tabla 4- 13 se puede observar que las estaciones 13, 14 y 15 han presentado un contenido metálico comprendido entre el límite de detección (0.03 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) y el límite de cuantificación (0.10 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). Esta es la campaña en donde no han sido cuantificables en la fracción ‘ácida soluble’ un mayor número de puntos de muestreo (tres estaciones en esta campaña frente a una en la cuarta campaña). El contenido en cromo disminuye hasta límites inferiores al de cuantificación, e incluso al

de detección en la fracción 'reducible' de varias de las campañas. No sucede así en la fracción 'oxidable' en donde todas las estaciones de todos los muestreos son cuantificables.

En esta campaña, y en las dos campañas posteriores, la estación 24 es la de mayor contenido en cromo, en este caso con 0.60 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Ha aumentado la concentración un 173 % en esta estación respecto a la campaña anterior (invierno de 2002).

En general, los puntos de mayor contenido en cromo han sido las estaciones 24, 22, 1, 23, 2, 21, 3, 11 y 20 con valores superiores a 0.20 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y citadas en orden decreciente de concentración. En este grupo de estaciones, en comparación con el anterior muestreo, ya no aparece la estación 12. Por el contrario, las estaciones 2, 3 y 11 han aumentado en cromo y han pasado a formar parte en este muestreo del grupo de puntos con contenido en cromo superior a 0.20 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$.

El área de mayor contenido metálico sigue siendo la zona más interna de la ría. Aunque de este grupo se desmarca en localización la estación 11, alejada del grupo geográficamente y situada en la zona central de la ría, próxima a la orilla sur.

Las estaciones de menor nivel metálico han sido las siguientes: 6, 5, 8, 15, 14 y 13, nombradas por orden decreciente de contenido metálico, con concentraciones inferiores a 0.14 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Esta zona de menor concentración, de nuevo es la más próxima al Océano Atlántico.

Otro conjunto de estaciones son las siguientes: 18, 9, 4, 12, 19 y 16. Se han nombrado por orden decreciente de concentración y se sitúan con valores de cromo entre 0.19 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y 0.15 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Este grupo de puntos de muestreo, que presentan valores metálicos intermedios, pueden localizarse geográficamente en un área central de la ría y a ambos lados de la isla de Arousa.

La zona de mayor contenido metálico se ha centrado en este segundo muestreo en las proximidades a la estación 24 de la ría (ver Figura 4- 15). Esta vez la concentración metálica deja de ser máxima en la estación 22, aunque ambas estaciones se encuentren relativamente cercanas. En general se sigue cumpliendo que la zona más externa de la ría, y más próxima al Océano Atlántico es la de menor contenido metálico. Pero, al igual que en la campaña de invierno de 2002, sigue sin existir un comportamiento diferenciado entre las orillas norte y sur del estuario.

El contenido de cromo en la fracción 'ácida soluble' de esta campaña ha sido homogéneo en prácticamente todas las estaciones analizadas. Los puntos con un coeficiente de variación más elevado, superando ligeramente el 10%, han sido las estaciones 22, 23 y 2.

La orientación y direcciones de entrada y salida de las corrientes de Arousa apuntan a una dilución de la concentración de cromo en la fracción 'ácida soluble' de los sedimentos a favor del flujo de salida del agua fluvial, que se ve frenada por las corrientes de entrada en el estuario, como en los resultados de la fracción 'ácida soluble' del anterior muestreo.

Las estaciones cercanas a puertos de mar como Rianxo, Pobra do Caramiñal, Cambados o Vilagarcía de Arousa presentan concentraciones variables. La zona próxima a Rianxo es la de mayor contenido en cromo mientras que otras zonas como Ribeira presentan valores metálicos inferiores al límite de cuantificación. No hay por tanto una correlación entre posición relativa a un puerto y concentración, ni estas zonas son las más contaminadas.

Las estaciones próximas a bateas presentan concentraciones entre 0.17 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y 0.30 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. De este grupo cercano a explotaciones acuícolas (2, 4, 9, 18, 21 y 23), algunas de las estaciones han sido clasificadas en el grupo de mayor contenido en cromo (2, 21 y 23), de contenido intermedio (4 y 18) o también en el grupo de menor nivel de cromo (8). Esta variabilidad indica de nuevo la inexistencia de correlación entre cercanía a bateas y aumento en el contenido en cromo.

6.1.3. Sedimentos del muestreo de invierno de 2003

En este apartado se encuentran en la Figura 4- 16 y en la Tabla 4- 14 los resultados obtenidos para los análisis de la fracción 'ácida soluble' de cromo en los sedimentos marinos recolectados en Arousa durante el muestreo de invierno de 2003.

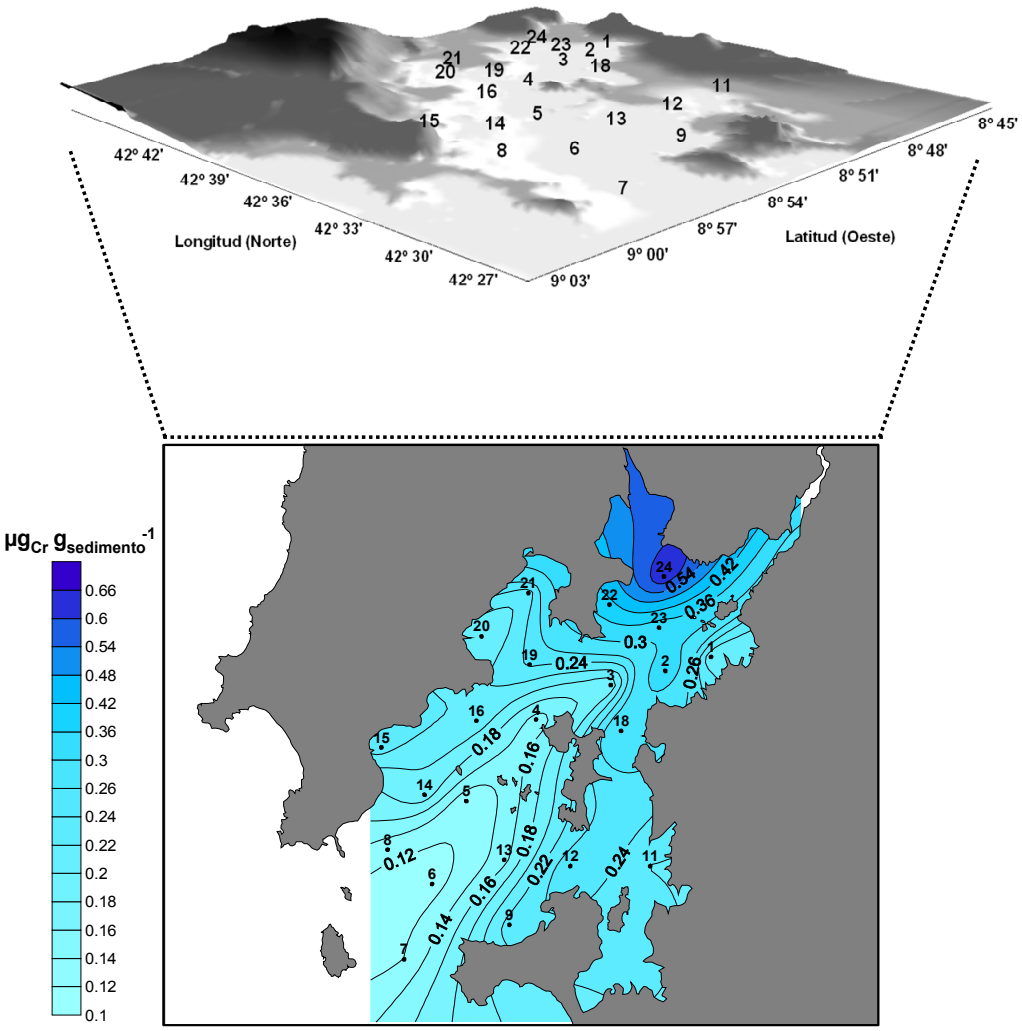

Figura 4- 16: Distribución de la fracción 'ácida soluble' de cromo del muestreo de invierno de 2003. Resultados de los análisis del tercer muestreo.

Tabla 4- 14: Concentración de cromo medida en la fracción 'ácida soluble' de los sedimentos marinos recolectados en el tercer muestreo.

	Muestreo 3: invierno de 2003		
estación	**Cr / µg g^{-1}**	**SD / µg g^{-1}**	**CV / %**
1	0.201	0.010	4.8
2	0.34	0.02	6.0
3	0.183	0.004	2.1
4	0.151	0.016	10.9
5	0.122	0.005	3.7
6	0.111	0.007	6.6
8	0.127	0.003	2.7
9	0.230	0.007	3.2
11	0.219	0.009	4.3
12	0.257	0.010	3.7
13	0.153	0.007	4.8
14	0.194	0.006	3.1
15	0.230	0.004	1.7
16	0.216	0.013	6.2
18	0.300	0.008	2.5
19	0.244	0.010	4.0
20	0.202	0.006	3.1
21	0.228	0.010	4.4
22	0.401	0.006	1.4
23	-	-	-
24	0.65	0.04	6.6

En el tercer muestreo se obtuvo un valor promedio de concentración de cromo en la fracción ‘acida soluble’ superior a los muestreos anteriores de los sedimentos de Arousa (0.24 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$), siendo este promedio el máximo de los cuatro muestreos. La diferencia entre la estación de mayor concentración y la de menor concentración es también la máxima encontrada en todas las campañas, dado que las estaciones de mayor contenido en cromo siguen creciendo en concentración (rango de 0.54 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$), pero disminuyen posteriormente en el último de los muestreos. El aumento de rango entre el segundo y tercer muestreo es ligeramente inferior al cambio de rango entre los dos anteriores.

Como se puede observar en la Tabla 4- 14, todas las estaciones analizadas han presentado una concentración de cromo superior al límite de cuantificación (0.10 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$).

En esta campaña, la estación 24 se mantiene con el mayor contenido en cromo, con 0.65 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Este valor es el máximo encontrado en las cuatro campañas analizadas. El aumento de concentración respecto al muestreo anterior es inferior al 9%.

En general, los puntos de mayor contenido en cromo han sido las estaciones 24, 22, 2, 18, 12, 19, 9, 15, 21, 11, 16, 20 y 1 con valores superiores a 0.20 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y citados en orden decreciente de concentración. Es decir, 12 estaciones de las 20 estudiadas (60%) presentaron en esta campaña valores superiores a 0.20 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. De este grupo de puntos de muestreo, las estaciones 24, 22, 2 y 18 igualan o superan 0.30 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$, teniendo en cuenta que la estación 18 no llegaba a 0.20 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ en las dos anteriores campañas. Tampoco han llegado a este valor (0.20) en campañas anteriores las estaciones 19, 9, 15 y 16. La estación 12, sin embargo, pasa de presentar un contenido metálico que va desde 0.21 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ en el primer muestreo, a 0.16 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ en el segundo muestreo y finalmente a 0.26 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ en el tercer muestreo. La variación en el nivel de cromo de la fracción más intercambiable de los sedimentos de esta estación (12) puede ser debida a las características arenosas de dichas muestras. Estas características se han comentado en las observaciones recogidas en los análisis de cromo total de esta estación en el capítulo 3 (contenido total de cromo).

En general, el área de mayor contenido metálico abarca gran parte de la Ría de Arousa, tanto hacia la zona interna como en la central del estuario.

Las zonas de menor nivel metálico han sido las estaciones 8, 5 y 6, nombradas por orden decreciente de contenido metálico, con concentraciones inferiores a 0.13 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Estas tres estaciones de menor contenido en cromo se encuentran próximas entre sí, en la zona exterior del estuario.

Otro conjunto de estaciones son las siguientes: 14, 3, 13 y 4. Se han nombrado por orden decreciente de concentración y se sitúan con valores de cromo entre 0.19 y 0.15 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Este grupo de puntos de muestreo, que presentan valores metálicos intermedios, pueden localizarse a ambos lados de la isla de Arousa en la zona central de la ría, pero no constituyen un grupo de estaciones cercanas entre sí.

El área de mayor contenido metálico se ha centrado en el tercer muestreo en las proximidades a la estación 24 de la ría (ver Figura 4- 16), al igual que en el segundo muestreo. En general se sigue cumpliendo que la zona más externa de la ría, y más

próxima al Océano Atlántico es la de menor contenido metálico, y, al igual que en la campaña de invierno de 2002, sigue sin existir un comportamiento diferenciado entre las orillas norte y sur del estuario.

El contenido de cromo en la fracción 'ácida soluble' de esta campaña ha sido homogéneo en todas las estaciones analizadas. El único punto con un coeficiente de variación más elevado, entorno al 11%, ha sido la estación 4.

La orientación y direcciones de entrada y salida de las corrientes de Arousa apuntan, de nuevo, a una dilución de la concentración de cromo en la fracción 'ácida soluble' de los sedimentos a favor del flujo de salida del agua procedente del Ulla, que se ve frenada por las corrientes de entrada en el estuario, como en los resultados de la fracción 'ácida soluble' del anterior muestreo. Esta dilución es sensiblemente mayor a lo largo del eje central de la ría (canal de entrada), y se puede observar por la curvatura que presentan las líneas de concentración de cromo a lo largo de dicho eje (ver Figura 4- 16). Este fenómeno no se observaba en el anterior muestreo.

Las estaciones cercanas a puertos de mar como Rianxo, Pobra do Caramiñal, Cambados o Vilagarcía de Arousa presentan concentraciones variables, pero ninguna de ellas alcanza valores inferiores a 0.20 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. La zona próxima a Rianxo es la de mayor contenido en cromo mientras que otras zonas como Vilagarcía de Arousa o Pobra do Caramiñal presentan valores metálicos inferiores a 0.20 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Se confirma de nuevo la falta de correlación entre la posición relativa a un puerto y su concentración.

Las estaciones próximas a bateas presentan concentraciones entre 0.15 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y 0.34 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. La concentración de la estación 4 respecto al anterior muestreo ha disminuido. De este grupo cercano a explotaciones acuícolas la mayoría de estaciones pertenecen al grupo de mayor contenido en cromo, a excepción de la estación 4. Esta última estación ha sido clasificada en el grupo de puntos de concentración intermedia. Aún así, y observando el contenido del resto de estaciones, no se puede concluir que exista una correlación entre una mayor concentración de cromo en sedimentos y su proximidad a bateas de mejillones.

6.1.4. Sedimentos del muestreo de verano de 2003

En ese apartado se encuentran en la Figura 4- 17 y en la Tabla 4- 15 los resultados obtenidos para los análisis de la fracción 'ácida soluble' de cromo en los sedimentos marinos recolectados en Arousa durante el muestreo de verano de 2003.

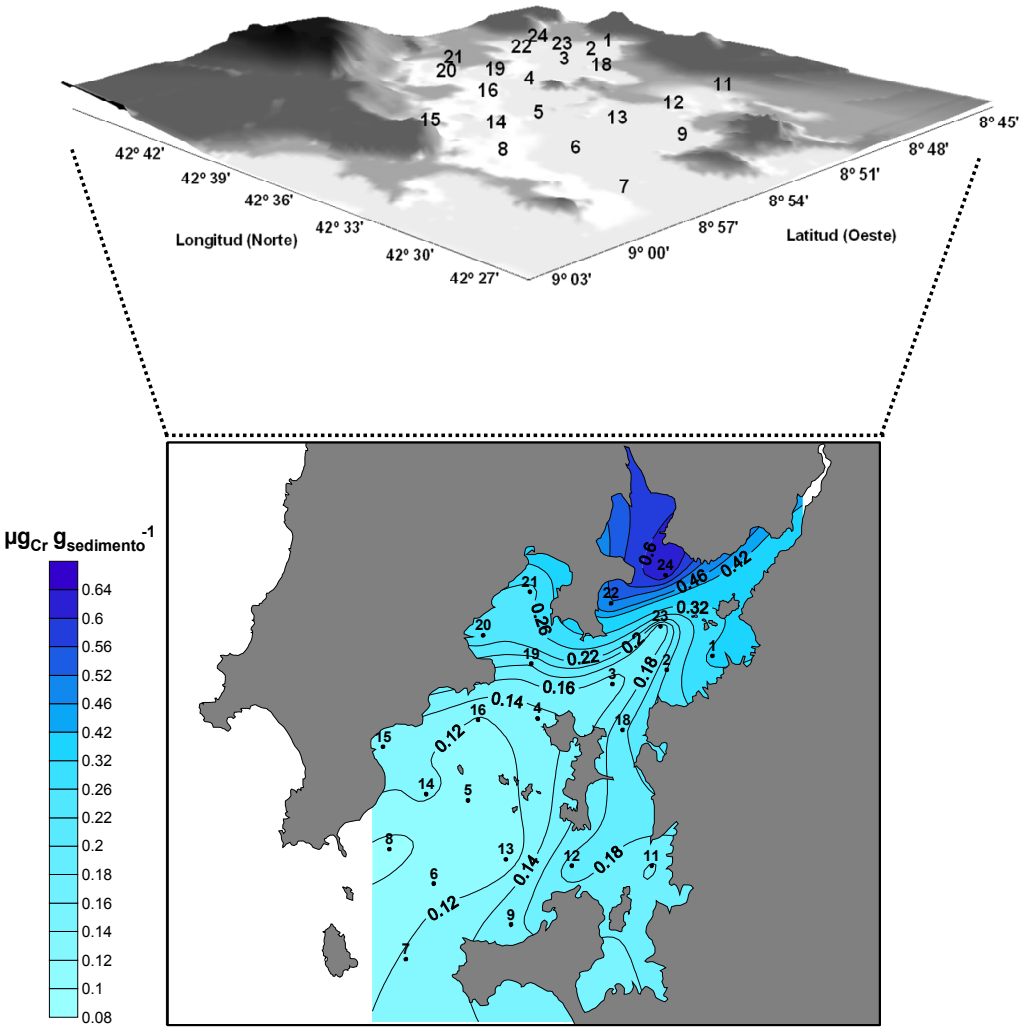

Figura 4- 17: Distribución de la fracción 'ácida soluble' de cromo del muestreo de verano de 2003. Resultados de los análisis del cuarto muestreo.

Tabla 4- 15: Concentración de cromo medida en la fracción 'ácida soluble' de los sedimentos marinos recolectados en el cuarto muestreo.

	Muestreo 4: verano de 2003		
estación	**Cr / µg g^{-1}**	**SD / µg g^{-1}**	**CV / %**
1	0.34	0.03	10.1
2	0.22	0.02	10.0
3	0.149	0.016	10.9
4	0.134	0.011	8.0
5	0.108	0.005	5.0
6	0.119	0.004	3.0
8	**0.092**	0.005	5.2
9	0.157	0.005	3.2
11	0.158	0.010	6.3
12	0.190	0.006	3.2
13	0.103	0.008	7.6
14	0.125	0.008	6.2
15	0.125	0.005	4.2
16	0.117	0.004	3.4
18	0.196	0.009	4.5
19	0.182	0.002	1.3
20	0.237	0.013	5.4
21	0.235	0.013	5.5
22	0.52	0.08	16.4
23	0.156	0.014	9.0
24	0.63	0.13	20.6

En el cuarto muestreo se obtuvo un valor promedio de concentración de cromo en la fracción ‘acida soluble’ ligeramente inferior al muestreo anterior en los sedimentos de Arousa analizados (0.20 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). La diferencia entre la estación de mayor concentración y la de menor concentración es también ligeramente inferior a la obtenida en el tercer muestreo (rango de 0.54 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$).

Como se puede observar en la Tabla 4- 15, únicamente la estación 8 ha presentado un contenido metálico comprendido entre el límite de detección (0.03 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) y el límite de cuantificación (0.10 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). Las restantes estaciones presentan valores de cromo superiores al límite de cuantificación.

En esta última campaña, la estación 24 se mantiene con el mayor contenido en cromo, con 0.63 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Este valor ha bajado respecto al encontrado en el tercer muestreo (menos del 3.1% de disminución).

En general, los puntos de mayor contenido en cromo han sido las estaciones 24, 22, 1, 20, 21 y 2 con valores superiores a 0.20 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y citados en orden decreciente de concentración. Respecto al anterior muestreo, han desaparecido las estaciones 18, 12, 19, 9, 15 y 11 de este grupo. Por otro lado, ha aparecido en este grupo, al aumentar su contenido en cromo, la estación 1 (con 0.34 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$).

En la tercera campaña el grupo de estaciones mencionadas (18, 12, 19, 9, 15 y 11) mostraban valores superiores a 0.20 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Estas estaciones, a excepción de la estación 11 en el segundo muestreo y la estación 12 en el primer muestreo, han presentado valores intermedios de concentración en todas las campañas salvo en la tercera, no superando 0.20 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$.

El área de mayor contenido metálico se sitúa de nuevo en la zona más interna de la ría, al igual que se había obtenido en el contenido total de cromo. Fuera de la agrupación geográfica realizada, la estación 9 se encuentra más próxima al Océano Atlántico, y no en la parte interna del estuario.

Las zonas de menor nivel metálico han sido las estaciones 4, 15, 14, 6, 16, 5, 13 y 8, nombradas por orden decreciente de contenido metálico, con concentraciones inferiores a 0.13 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Esta zona de menor concentración se sitúa en la zona centro-exterior de la ría, próxima a la orilla norte de Arousa.

Otro conjunto de estaciones son las siguientes: 18, 12, 19, 11, 9, 23 y 3. Se han nombrado por orden decreciente de concentración y se sitúan con valores de cromo entre 0.20 y 0.15 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Este grupo de puntos de muestreo, que presentan valores metálicos intermedios, se encuentra disperso a lo largo de la ría y no forman parte de una zona acotada de la misma.

El área de mayor contenido metálico se ha centrado en este muestreo en las proximidades de la estación 24 de la ría (ver Figura 4- 17), al igual que en los dos muestreos anteriores. En general, en todas las campañas, el contenido de cromo en la fracción 'ácida soluble' es inferior en la zona más externa de la ría y más próxima al Océano Atlántico. Al contrario que el contenido total de cromo analizado en todas las campañas, no se observa ni en esta campaña ni en las anteriores un comportamiento

diferenciado de esta fracción intercambiable (extracto 1 de BCR) entre las orillas norte y sur de Arousa.

Los puntos de recogida de muestra de esta campaña, en donde la fracción 'ácida soluble' ha sido menos homogénea, han sido las estaciones 22 y 24 (entre un 16-21% de CV), y se sitúan entorno a un 10% las estaciones 1, 2 y 3. El resto de estaciones presentan porcentajes inferiores.

La orientación y direcciones de entrada y salida de las corrientes de Arousa apuntan de nuevo a una dilución de la concentración de cromo en la fracción 'ácida soluble' de los sedimentos a favor del flujo de entrada en el estuario del agua fluvial, que se ve frenada por las corrientes de entrada oceánicas en el estuario, como en los resultados de la fracción 'ácida soluble' del anterior muestreo. Esta dilución sigue siendo mayor a lo largo del eje central de la ría (canal de entrada), y se puede observar por la curvatura que presentan las líneas de concentración de cromo a lo largo de dicho eje (ver Figura 4- 17). Este fenómeno se observaba más claramente en el anterior muestreo.

Las estaciones cercanas a puertos de mar como Rianxo, Pobra do Caramiñal, Cambados o Vilagarcía de Arousa presentan concentraciones variables, y ha disminuido el contenido en cromo en varias de las estaciones próximas a estos puertos (1, 15 y 24). La zona próxima a Rianxo sigue siendo la de mayor contenido en cromo (0.63 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) mientras que otras zonas como Ribeira presentan valores metálicos inferiores al límite de cuantificación (0.10 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). Se confirma definitivamente la falta de correlación entre la posición relativa a un puerto y su concentración en la fracción 'reducible', al igual que en el resto de muestreos.

Las estaciones próximas a bateas presentan concentraciones entre 0.93 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y valores inferiores al límite de detección (0.03 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). A excepción de la estación próxima a Ribeira (15), que ha disminuido en concentración, todas las estaciones próximas a puertos pertenecen al grupo de puntos que se han clasificado de contenido más elevado en cromo. Se ha descartado, tras el estudio de la fracción 'ácida soluble' de los cuatro muestreos, una correlación entre la concentración de cromo en esta fracción y su cercanía a zonas de explotación de mejillón.

El contenido de la fracción ‘ácida soluble’ ha sido variable entre muestreos, pero no se han observado máximos o mínimos en ciertas épocas del año. Globalmente la concentración de cromo ha ido aumentando con el transcurso del tiempo.

6.2. Resultados de la fracción 'reducible' en los cuatro muestreos de la Ría de Arousa

En las tablas de resultados de este apartado, las concentraciones inferiores a 0.033 µg g^{-1} en la fracción 'reducible' han sido indicadas como valores que no alcanzan el límite de detección. Los valores señalados en las mismas tablas con negrita son concentraciones que se encuentran entre el límite de detección y límite de cuantificación (consultar LOD y LOQ de esta fracción en la Tabla 4- 10).

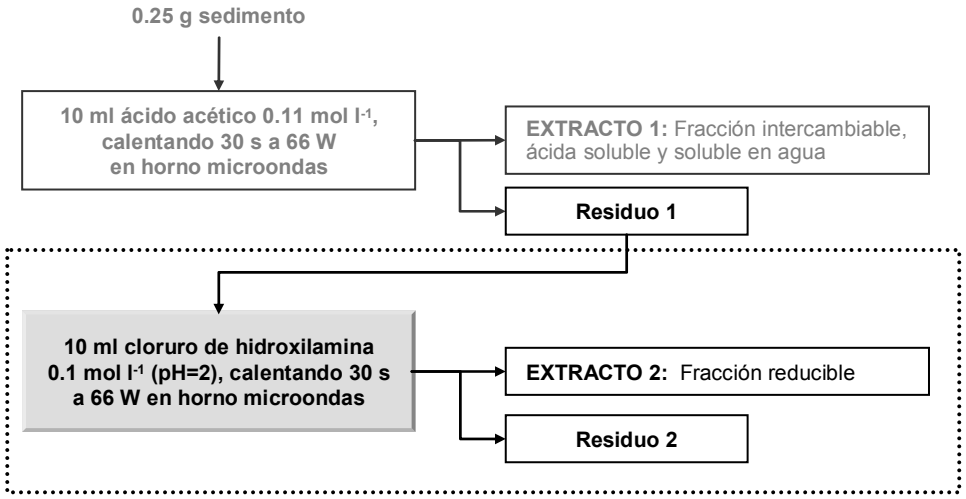

Figura 4- 18: Segundo extracto analizado en el procedimiento de extracción secuencial acelerado por microondas de muestras de sedimentos de la Ría de Arousa.

En la Figura 4- 18 se observa la etapa extractiva llevada a cabo para la obtención de esta fracción de cromo. Los detalles de la misma se recogen en el interior de un recuadro de línea punteada. Una vez finalizada esta etapa, se ha separado cada extracto de su respectivo residuo sólido por centrifugación (10 minutos a 3000 rpm) y el residuo sólido ha sido lavado con 5 ml de agua Milli-Q®. Las aguas de lavado han sido separadas del sedimento con una nueva centrifugación en las mismas condiciones de separación del extracto.

Se ha cuantificado, por tanto, el cromo en los extractos de cloruro de hidroxilamina por ETAAS con el programa optimizado.

6.2.1. Sedimentos del muestreo de invierno de 2002

En este apartado se encuentran en la Figura 4- 19 y en la Tabla 4- 16 los resultados obtenidos para los análisis de la fracción 'reducible' de cromo en los sedimentos marinos recolectados en Arousa durante el muestreo de invierno de 2002.

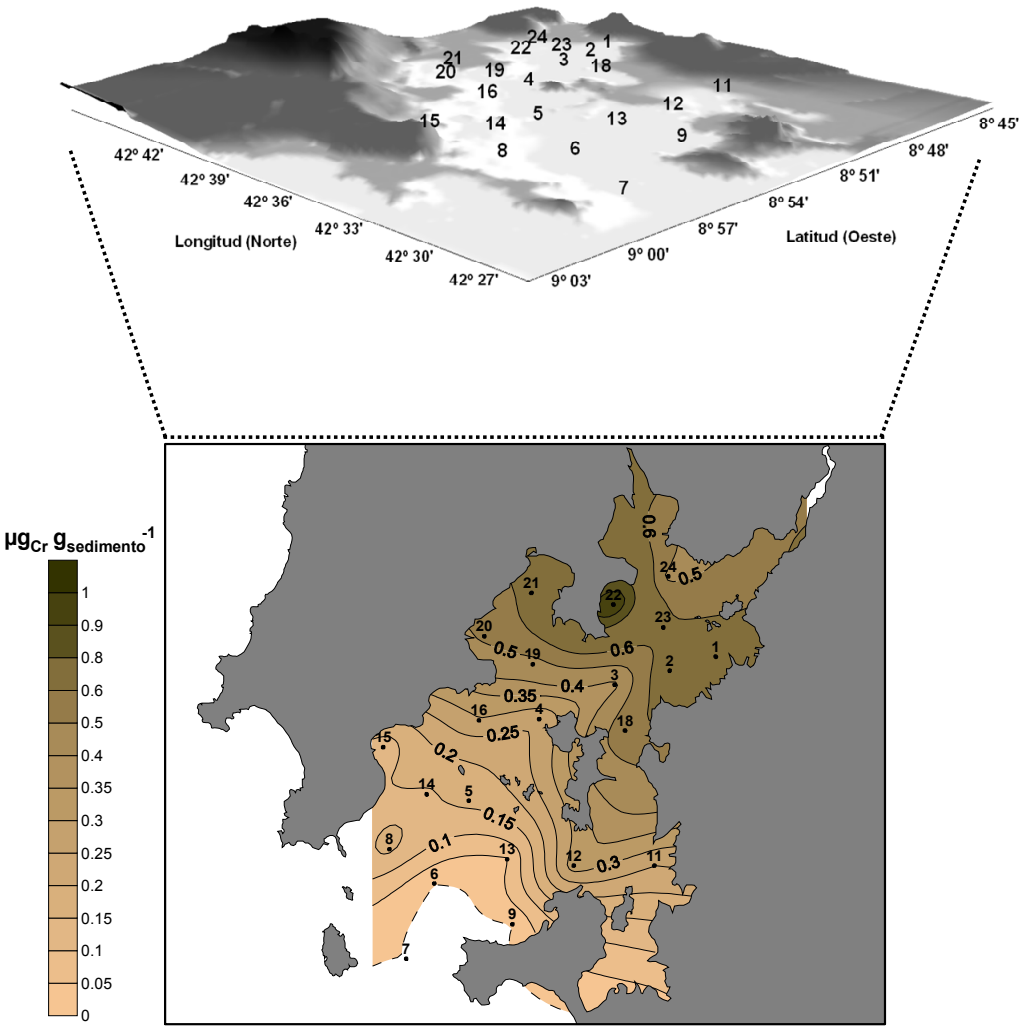

Figura 4- 19: Distribución de la fracción 'reducible' de cromo del muestreo de invierno de 2002. Resultados de los análisis del primer muestreo.

Tabla 4- 16: Concentración de cromo medida en la fracción 'reducible' de los sedimentos marinos recolectados en el primer muestreo.

	Muestreo 1: invierno de 2002		
estación	**Cr / µg g^{-1}**	**SD / µg g^{-1}**	**CV / %**
1	0.62	0.04	6.9
2	0.70	0.06	8.4
3	0.38	0.02	5.6
4	0.26	0.02	9.1
5	0.162	0.019	12.0
6	< 0.033 (LOD)		
8	0.161	0.014	9.0
9	< 0.033 (LOD)		
11	0.25	0.03	10.6
12	0.329	0.019	5.8
13	**0.046**	0.005	9.9
14	0.1426	0.0018	1.3
15	0.117	0.008	7.1
16	0.30	0.05	15.4
18	0.58	0.05	9.4
19	0.46	0.06	12.4
20	0.52	0.04	8.6
21	0.628	0.018	2.8
22	1.02	0.04	4.0
23	0.61	0.05	8.6
24	0.47	0.04	9.4

En el primer muestreo no es donde se obtuvo el valor promedio de concentración de cromo en la fracción ‘reducible’ más bajo de los cuatro muestreos realizados en los sedimentos de Arousa (0.41 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). Este valor es ligeramente inferior, aunque comparable, al promedio de estaciones obtenido en el segundo muestreo (0.40 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). Sin embargo es aquí donde la diferencia entre la estación de mayor concentración y la de menor concentración es mínima (0.97 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$).

Como se puede comprobar en la Tabla 4- 16, únicamente la estación 13 ha presentado un contenido metálico comprendido entre el límite de detección (0.03 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) y el límite de cuantificación (0.11 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). No se ha detectado cromo en la fracción ‘reducible’ de las estaciones 6 y 9.

Los puntos de recogida de muestra de esta campaña en donde la fracción 'reducible' ha sido menos homogénea se corresponden con las estaciones 16, 19, 5 y 11 (CV entre un 15-11%). El resto de estaciones presentan porcentajes inferiores.

En esta campaña la estación 24 no es la de mayor contenido metálico en la fracción 'reducible', al igual que había sucedido en la fracción 'ácida soluble'. Se sitúa entre las estaciones de mayor concentración los siguientes puntos: 22, 2, 21, 1, 23, 18 y 20. Este grupo de estaciones se han citado por orden decreciente de contenido metálico, desde 1.02 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ hasta 0.52 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ respectivamente para la primera y última estación. La mayor parte de estas estaciones pertenecen al grupo de mayor contenido metálico de la fracción 'ácida soluble' del primer muestreo. Es decir, se puede observar una cierta correlación entre fracciones 'ácida soluble' y 'reducible' para esta primera campaña.

En general, en la Figura 4- 19 se observa que el área de mayor contenido metálico se localiza en una zona interna de la ría.

Las estaciones de menor nivel metálico han sido las siguientes: 5, 8, 14, 15 y 13, nombradas por orden decreciente de contenido en cromo, con concentraciones inferiores a 0.20 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Por ese mismo orden, las estaciones 8, 14, 15 y 13 habían sido las de menor concentración de cromo en la fracción 'ácida soluble' de esta misma campaña. A este grupo también pertenecen las estaciones 6 y 9, dado que han presentado un contenido en cromo inferior al límite de detección. Todas estas estaciones tienen en común el área geográfica en donde se localizan. Esta zona de menor concentración es la más próxima al Océano Atlántico y tiende a situarse en la orilla norte de la ría, muy próxima a la isla de Sálvora. Como ya se había comentado en fracciones anteriores, no se puede incluir aquí la estación 7, dado que no se ha podido recolectar sedimento de esa zona por presentar características rocosas.

Otro conjunto de estaciones son las siguientes: 24, 19, 3, 12, 16, 4 y 11. Se han nombrado por orden decreciente de concentración y se sitúan con valores de cromo entre 0.47 y 0.25 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Este grupo de puntos de muestreo, que presentan valores metálicos intermedios, se encuentra disperso a lo largo de la ría y no forma parte de una zona acotada de la misma. Mientras que las estaciones 24 y 3 se encuentran en la zona más interna del estuario, otras estaciones se sitúan en la zona

más central en dirección a la orilla sur (estaciones 11 y 12) o en la misma zona central en dirección a la orilla norte (16 y 19).

El área de mayor contenido metálico se ha centrado en las proximidades a la estación 22 de la ría (ver Figura 4- 19) tanto en la fracción 'ácida soluble' como en la 'reducible' de este muestreo. A lo largo de la ría, el contenido de cromo perteneciente a esta segunda fracción es relativamente bajo, pero la concentración metálica sigue la tónica general encontrada en la fracción 'ácida soluble' y el contenido de cromo total. En general se cumple de nuevo que la zona más externa de la ría, y más próxima al Océano Atlántico, es la de menor nivel de cromo, y en ella es en donde se obtienen niveles de cromo no detectables.

La orientación y direcciones de entrada y salida de las corrientes de Arousa apuntan, de nuevo, a una dilución de la concentración de cromo en la fracción 'reducible' de los sedimentos a favor del flujo de salida del agua fluvial, que se ve frenada por las corrientes de entrada en el estuario, como en los resultados de la fracción 'ácida soluble' del anterior muestreo. Esta dilución sigue siendo mayor a lo largo del eje central de la ría (canal de entrada), y se puede observar por la curvatura que presentan las líneas de concentración de cromo a lo largo de dicho eje (ver Figura 4- 19).

Las estaciones cercanas a puertos de mar como Rianxo, Pobra do Caramiñal, Cambados o Vilagarcía de Arousa presentan concentraciones variables. La zona próxima a Vilagarcía de Arousa es la de mayor contenido en cromo, mientras que otra zona de la misma orilla del estuario, Cambados, presenta valores metálicos en torno a 0.25 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Se confirma de nuevo la falta de correlación entre la proximidad a un puerto y su concentración.

Las estaciones próximas a bateas presentan concentraciones entre 0.70 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y concentraciones inferiores al límite de detección de esta fracción (0.03 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). Estas estaciones pertenecen a los tres grupos de clasificación empleados en los comentarios de este apartado, dado que encontramos puntos de muestreo con concentración metálica elevada (2, 18, 21 y 23), intermedia (4) y baja (9). Se ha descartado, tras el estudio de la fracción 'reducible' de este muestreo, una correlación entre la concentración de cromo en esta fracción y su cercanía a zonas de explotación de mejillón.

6.2.2. Sedimentos del muestreo de verano de 2002

En este apartado se encuentran en la Figura 4- 20 y en la Tabla 4- 17 los resultados obtenidos para los análisis de la fracción 'reducible' de cromo en los sedimentos marinos recolectados en Arousa durante el muestreo de verano de 2002.

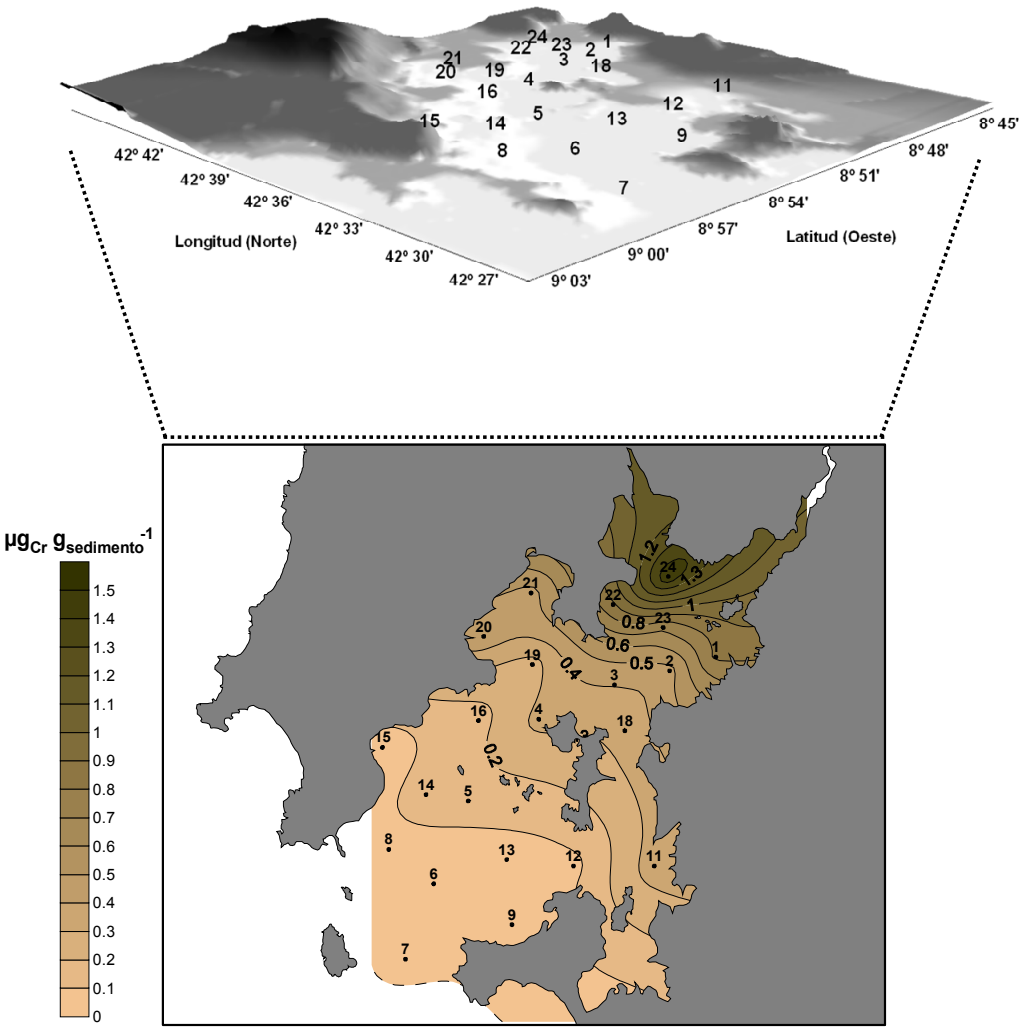

Figura 4- 20: Distribución de la fracción 'reducible' de cromo del muestreo de verano de 2002. Resultados de los análisis del segundo muestreo.

Tabla 4- 17: Concentración de cromo medida en la fracción 'reducible' de los sedimentos marinos recolectados en el segundo muestreo.

	Muestreo 2: verano de 2002		
estación	**Cr / µg g^{-1}**	**SD / µg g^{-1}**	**CV / %**
1	0.82	0.05	5.8
2	0.46	0.05	10.0
3	0.40	0.03	7.6
4	0.333	0.008	2.3
5	0.142	0.013	8.8
6	< 0.033 (LOD)		
8	0.0401	0.0016	4.1
9	< 0.033 (LOD)		
11	0.35	0.04	11.2
12	**0.069**	0.008	11.0
13	**0.051**	0.006	12.3
14	0.170	0.012	7.0
15	**0.038**	0.003	8.6
16	0.172	0.011	6.4
18	0.34	0.05	13.4
19	0.254	0.006	2.3
20	0.48	0.02	4.1
21	0.46	0.04	9.3
22	0.88	0.05	6.0
23	0.72	0.04	5.5
24	1.50	0.03	2.2

En el segundo muestreo se obtuvo el valor promedio de concentración de cromo en la fracción ‘reducible’ más bajo de los cuatro muestreos realizados en los sedimentos de Arousa (0.40 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). Este valor es comparable al obtenido en la primera campaña. Sin embargo la diferencia entre la estación de mayor concentración y la de menor concentración ha aumentado respecto a la primera campaña (1.46 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). No ocurría así con la fracción ‘ácida soluble’, y en este segundo muestreo el valor promedio de cromo aumentaba.

De nuevo, no se ha detectado cromo en la fracción ‘reducible’ de las estaciones 6 y 9. Las estaciones 12, 13 y 15 han presentado un contenido metálico comprendido entre el límite de detección (0.03 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) y el límite de cuantificación (0.11 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$).

Como se puede observar en la Tabla 4- 17, los puntos de recogida de muestra de esta campaña en donde la fracción 'reducible' ha sido menos homogénea, se corresponden a las estaciones 18, 13, 12, 11 y 2 (CV entre un 13-10% respectivamente). El resto de estaciones presentan porcentajes inferiores.

En este muestreo, y en el siguiente, la estación 24 es la de mayor contenido en cromo, en este caso con 1.5 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Ha aumentado la concentración un 219% en esta estación respecto a la campaña anterior (invierno de 2002).

En general, los puntos de mayor contenido en cromo han sido las estaciones 24, 22, 1 y 23 con valores superiores a 0.50 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y citadas en orden decreciente de concentración. En este grupo de estaciones, en comparación con el anterior muestreo, no existe un comportamiento general de crecimiento o disminución de cromo. Ha aumentado entre un 32% y un 219% el contenido de cromo de la fracción 'reducible' de las estaciones 1, 23 y 24 del primer al segundo muestreo. Sin embargo, la fracción 'reducible' de la estación 22 ha disminuido su contenido en cromo un 14%.

Como se puede observar en la Figura 4- 20, el área de mayor contenido metálico sigue siendo la zona más interna de la ría.

Las estaciones de menor nivel metálico han sido las siguientes: 16, 14, 5, 12, 13, 8 y 15, nombradas por orden decreciente de contenido metálico, con concentraciones inferiores a 0.20 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. De estas estaciones, las cuatro últimas han presentado un nivel de cromo inferior al límite de cuantificación, y a ellas se deben añadir las estaciones 6 y 9, que siguen siendo puntos de muestreo con niveles de cromo inferiores al límite de detección. Esta zona de menor concentración, de nuevo abarca toda el área más próxima al Océano Atlántico. Es decir, nos encontramos de nuevo en la zona más externa de orilla a orilla del estuario.

Otro conjunto de estaciones son las siguientes: 20, 2, 21, 3, 11, 18, 4 y 19. Se han nombrado por orden decreciente de concentración y se sitúan con valores de cromo entre 0.48 y 0.25 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Este grupo de puntos de muestreo, que presentan valores metálicos intermedios, se encuentra disperso a lo largo de la ría y no forman parte de una zona acotada de la misma. Mientras que la mayoría de las estaciones se encuentran en la zona más interna del estuario, otras estaciones se sitúan en dirección a la orilla sur (estación 11) o en la zona más central de la ría (18 y 19).

La zona de mayor contenido metálico de la fracción 'reducible' se ha centrado en este segundo muestreo en las proximidades a la estación 24 de la ría (ver Figura 4- 20),

como en el caso de la fracción 'ácida soluble'. En general se sigue cumpliendo que la zona más externa de la ría, y más próxima al Océano Atlántico, es la de menor contenido metálico hasta llegar a niveles no detectables de nuevo.

La orientación y direcciones de entrada y salida de las corrientes de Arousa apuntan de nuevo a una dilución de la concentración de cromo en la fracción 'reducible' de los sedimentos a favor del flujo de salida del agua del río Ulla, que se ve frenada por las corrientes de entrada en el estuario, como en los resultados de la fracción 'ácida soluble' de este muestreo. En este caso la dilución es menor a lo largo del eje central de la ría (canal de entrada). Se puede observar una curvatura que presentan las líneas de concentración de cromo a lo largo de dicho eje (ver Figura 4- 20) contraria a la presentada por el contenido de cromo en la fracción 'reducible' del anterior muestreo.

Las estaciones cercanas a puertos de mar como Rianxo, Pobra do Caramiñal, Cambados o Vilagarcía de Arousa presentan concentraciones variables, y que en algunos casos han disminuido su concentración respecto al contenido de cromo en la fracción 'reducible' del primer muestreo. Este es el caso de las estaciones 15 (<LOQ) y 20 (0.48 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). Otras estaciones presentan concentraciones superiores al anterior muestreo (1, 11 y 24). La zona próxima a Rianxo es en este segundo muestreo el área de mayor contenido en cromo (1.50 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) mientras que otras zonas como Ribeira presentan valores metálicos inferiores al límite de cuantificación. De nuevo no existe una correlación entre la posición relativa a un puerto y la concentración determinada.

Las estaciones próximas a bateas presentan concentraciones entre 0.72 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y valores inferiores al límite de detección (< 0.03 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). Estas estaciones pertenecen a los tres grupos de clasificación empleados en los comentarios de este apartado, dado que encontramos puntos de muestreo con concentración metálica elevada (23), intermedia (2, 4, 18 y 21) y baja (9). Se ha descartado, tras el estudio de la fracción 'reducible' de este muestreo, una correlación entre la concentración de cromo en esta fracción y su cercanía a zonas de explotación de mejillón.

6.2.3. Sedimentos del muestreo de invierno de 2003

En este apartado se encuentran en la Figura 4- 21 y en la Tabla 4- 18 los resultados obtenidos para los análisis de la fracción 'reducible' de cromo en los sedimentos marinos recolectados en Arousa durante el muestreo de invierno de 2003.

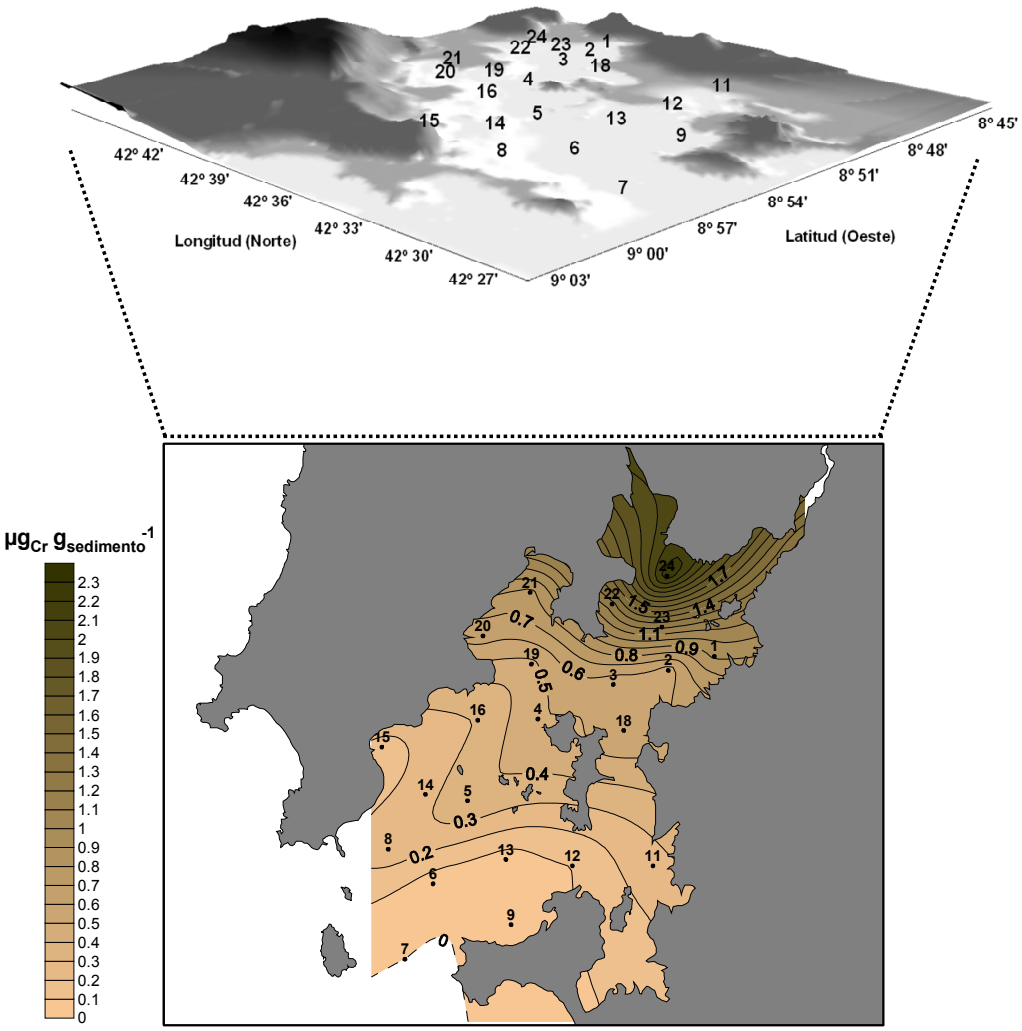

Figura 4- 21: Distribución de la fracción 'reducible' de cromo del muestreo de invierno de 2003. Resultados de los análisis del tercer muestreo.

Tabla 4- 18: Concentración de cromo medida en la fracción 'reducible' de los sedimentos marinos recolectados en el tercer muestreo.

	Muestreo 3: invierno de 2003		
estación	**Cr / µg g^{-1}**	**SD / µg g^{-1}**	**CV / %**
1	0.92	0.02	2.4
2	0.54	0.07	12.7
3	0.52	0.03	6.6
4	0.495	0.003	0.6
5	0.404	0.014	3.4
6	**0.0391**	0.0016	4.0
8	0.264	0.008	3.0
9	**0.038**	0.004	9.2
11	0.266	0.009	3.5
12	0.102	0.003	3.0
13	**0.051**	0.005	9.2
14	0.26	0.03	9.9
15	0.161	0.002	1.0
16	0.307	0.016	5.4
18	0.61	0.04	5.9
19	0.468	0.009	1.9
20	0.6523	0.0010	0.2
21	0.76	0.02	3.1
22	1.256	0.007	0.6
23	-	-	-
24	2.3	0.2	10.0

En el tercer muestreo se obtuvo el máximo valor promedio de concentración de cromo en la fracción 'reducible' de los cuatro muestreos realizados en los sedimentos de Arousa (0.52 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). La diferencia entre la estación de mayor concentración y la de menor concentración es también, con diferencia, la máxima de todas las campañas analizadas en Arousa (2.29 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). Se observa que se ha incrementado notablemente el rango de concentraciones de la segunda a la tercera campaña, dado que los valores más bajos de cromo permanecen en niveles similares. La diferencia de concentraciones entre la estación de máximo contenido en cromo y la estación de menor contenido ha aumentado respecto al anterior muestreo un 54%.

Como se puede observar en la Tabla 4- 18, el cromo de la fracción 'reducible' de las estaciones 6 y 9 pasa de ser no detectado a establecerse en valores de concentración entre el límite de detección (0.03 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) y el límite de

cuantificación (0.11 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). La estación 13 también presenta valores detectables inferiores al límite de cuantificación.

Los puntos de recogida de muestra de esta campaña en donde la fracción 'reducible' ha sido menos homogénea han sido las estaciones 2 (13%) y 24 (10%). El resto de estaciones presentan porcentajes inferiores (ver Tabla 4- 18).

Al igual que en la fracción 'ácida soluble', en esta campaña la estación 24 se mantiene con el mayor contenido en cromo, con 2.30 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Este valor es el máximo encontrado en las cuatro campañas analizadas, tanto en la fracción 'ácida soluble' como en la 'reducible'. El aumento de concentración respecto al muestreo anterior supera el 50%.

En general, los puntos de mayor contenido en cromo han sido las estaciones 24, 22, 1, 21, 20, 18, 2 y 3 con valores superiores a 0.50 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y citados en orden decreciente de concentración. De este grupo de puntos de muestreo, la estación 23 superaba este valor en la anterior campaña, pero no ha sido recolectado sedimento en este muestreo (muestreo 3). De estas ocho estaciones citadas como grupo de mayor contenido en cromo, las estaciones 21, 20, 18, 2 y 3 no alcanzaban 0.50 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ en la fracción 'reducible' del anterior muestreo.

El área de mayor contenido metálico abarca gran parte de la Ría de Arousa, tanto en la zona interna como en dirección a la zona central de la ría.

Las zonas de menor nivel metálico han sido las estaciones 15, 12, 13, 6 y 9, nombradas por orden decreciente de contenido metálico, con concentraciones inferiores a 0.20 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Estas estaciones de menor contenido metálico se encuentran en la parte exterior del estuario. Otras estaciones próximas y también externas, como la 8, presentan niveles metálicos sensiblemente superiores.

Otro conjunto de estaciones son las siguientes: 4, 19, 5, 16, 11, 8 y 14. Se han nombrado por orden decreciente de concentración y se sitúan con valores de cromo entre 0.50 y 0.26 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. La mayoría de estos puntos de muestreo se sitúan en la zona centro del estuario. Pero también estaciones como la 11 (orilla sur de la ría) o las estaciones 8 y 14 (situadas en la zona más externa de la ría) se desvían geográficamente de la situación de este grupo mayoritario.

La zona de mayor contenido metálico se ha centrado en el tercer muestreo en las proximidades a la estación 24 de la ría (ver Figura 4- 21), al igual que en la fracción

'reducible' del anterior muestreo y la fracción 'ácida soluble' de este muestreo. La progresión de las líneas de avance de concentración (dilución de cromo a lo largo de la ría) es similar en ambas orillas del estuario desde la zona interna hasta el Océano Atlántico.

La orientación y direcciones de entrada y salida de las corrientes de Arousa apuntan de nuevo a una dilución de la concentración de cromo en la fracción 'reducible' de los sedimentos a favor del flujo de salida del agua fluvial, que se ve frenada por las corrientes de entrada en el estuario, como en los resultados de la fracción 'ácida soluble' de este muestreo. En este caso la dilución es menor a lo largo del eje central de la ría (canal de entrada), y se puede observar por la curvatura que presentan las líneas de concentración de cromo a lo largo de dicho eje (ver Figura 4- 21). Este fenómeno de curvatura es contrario al obtenido en la fracción 'reducible' del primer muestreo, y similar al del segundo muestreo.

Las estaciones cercanas a puertos de mar como Rianxo, Ribeira, Pobra do Caramiñal, Cambados o Vilagarcía de Arousa presentan concentraciones variables, y que en algunos casos han disminuido su concentración respecto al contenido de cromo en la fracción 'reducible' del anterior muestreo. Este es el caso de Cambados (estación 11). El resto de estaciones presentaron concentraciones mayores en el anterior muestreo (1, 15, 20 y 24). La zona próxima a Rianxo sigue siendo el área de mayor contenido en cromo (2.30 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) mientras que otras zonas como Ribeira presentan valores metálicos inferiores (0.16 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). De nuevo no existe correlación entre la posición relativa a un puerto y su concentración.

Las estaciones próximas a bateas presentan concentraciones entre 0.76 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y valores inferiores al límite de cuantificación (0.11 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). Estas estaciones pertenecen a los tres grupos de clasificación empleados en los comentarios de este apartado, dado que encontramos puntos de muestreo con concentración metálica elevada (2, 18 y 21), intermedia (4) y baja (9). Se ha descartado, tras el estudio de la fracción 'reducible' de este muestreo, una correlación entre la concentración de cromo en esta fracción y su cercanía a zonas de explotación de mejillón.

6.2.4. Sedimentos del muestreo de verano de 2003

En este apartado se encuentran en la Figura 4- 22 y en la Tabla 4- 19 los resultados obtenidos para los análisis de la fracción 'reducible' de cromo en los sedimentos marinos recolectados en Arousa durante el muestreo de verano de 2003.

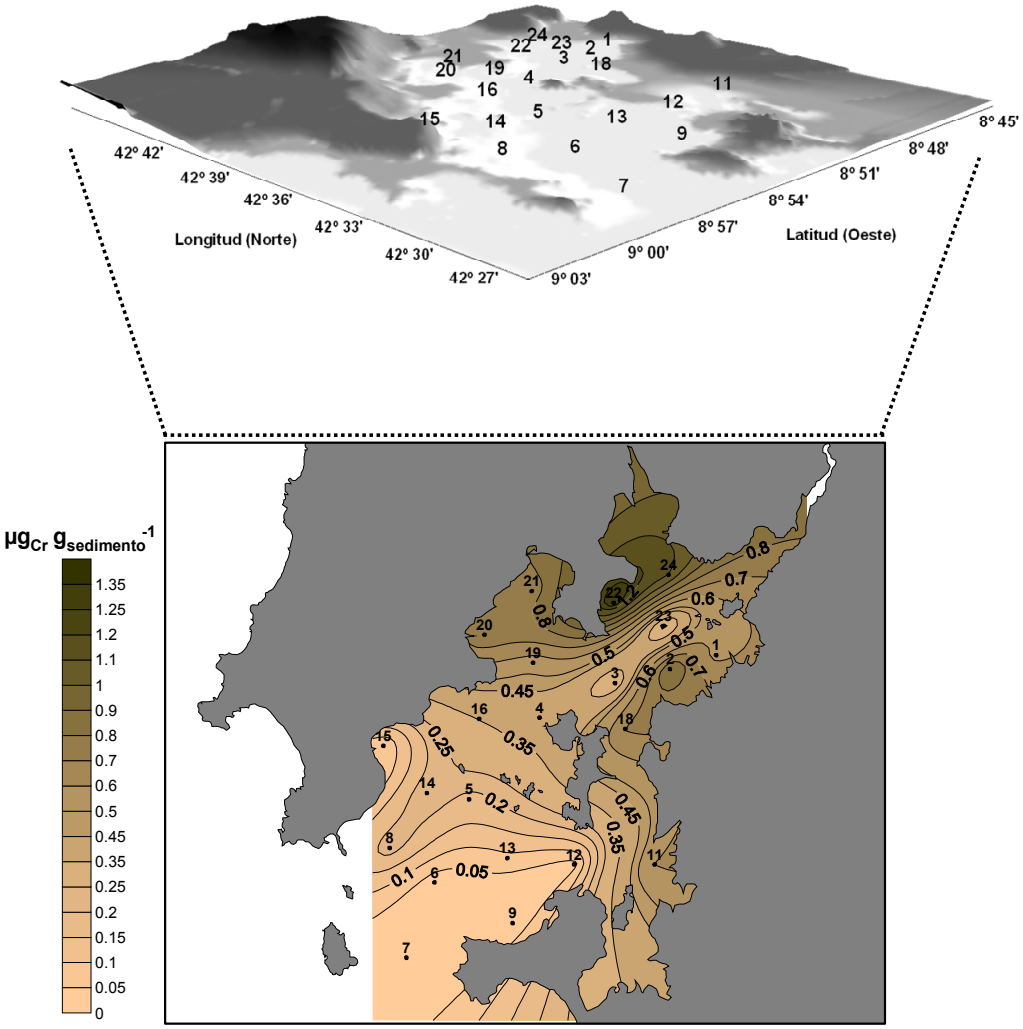

Figura 4- 22: Distribución de la fracción 'reducible' de cromo del muestreo de verano de 2003. Resultados de los análisis del cuarto muestreo.

Tabla 4- 19: Concentración de cromo medida en la fracción 'reducible' de los sedimentos marinos recolectados en el cuarto muestreo.

	Muestreo 4: verano de 2003		
estación	**Cr / µg g^{-1}**	**SD / µg g^{-1}**	**CV / %**
1	0.561	0.005	0.9
2	0.93	0.04	4.0
3	0.26	0.04	15.7
4	0.419	0.007	1.7
5	0.18	0.02	12.7
6	< 0.033 (LOD)		
8	0.226	0.016	7.0
9	< 0.033 (LOD)		
11	0.60	0.02	3.7
12	< 0.033 (LOD)		
13	**0.090**	0.010	11.6
14	0.24	0.02	10.0
15	**0.054**	0.005	8.9
16	0.353	0.007	1.9
18	0.71	0.02	2.8
19	0.537	0.011	2.0
20	0.79	0.02	2.8
21	0.74	0.04	5.8
22	1.33	0.10	7.6
23	0.203	0.019	9.5
24	1.10	0.03	2.8

En el cuarto muestreo se obtuvo un valor promedio de concentración de cromo en la fracción 'reducible' similar al muestreo anterior (0.52 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). La diferencia entre la estación de mayor concentración y la de menor concentración es un valor que la sitúa entre los resultados encontrados en la primera y la segunda campaña de Arousa (el rango de este muestreo es de 1.28 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$).

Como se puede observar en la Tabla 4- 19, el cromo de la fracción 'reducible' de las estaciones 6, 9 y 12 pasa a ser de nuevo no detectado. Las estaciones 13 y 15 se establecen en valores de concentración entre el límite de detección (0.03 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) y el límite de cuantificación (0.11 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$).

Los puntos de recogida de muestra de esta campaña en donde la fracción 'reducible' ha sido menos homogénea han sido las estaciones 3, 5, 13 y 14 (CV entre un 16-10% respectivamente). El resto de estaciones presentan porcentajes inferiores (ver Tabla 4- 19).

En esta última campaña, la estación 24 ni presenta el mayor contenido en cromo, ni presenta tampoco el máximo contenido de esta estación a lo largo de los cuatro muestreos. En la cuarta campaña su contenido ha sido de 1.10 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y el máximo valor de esta estación analizado ha sido de 2.30 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ (tercer muestreo). Como se puede observar, este valor ha disminuido más de un 50%.

En general, los puntos de mayor contenido en cromo han sido las estaciones 22, 24, 2, 20, 21, 18, 11, 1 y 19 con valores superiores a 0.50 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y citados en orden decreciente de concentración. Las estaciones 11 y 19 no alcanzaban 0.50 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ en el tercer muestreo y ahora lo superan. Sin embargo la estación 3 ha disminuido en concentración y ha pasado de tener 0.52 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ a tener 0.26 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$.

En general, el área de mayor contenido metálico se sitúa de nuevo en la zona más interna de la ría, al igual que se había obtenido en el contenido total de cromo y en muchas de las fracciones. Fuera de esta clara agrupación geográfica de estaciones de mayor concentración, la estación 11 se encuentra un poco más alejada del resto y más próxima a la orilla sur del estuario.

Las zonas de menor nivel metálico han sido las estaciones 5, 13 y 15, nombradas por orden decreciente de contenido metálico, con concentraciones inferiores a 0.20 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Esta zona de menor concentración se sitúa en la zona centro-exterior de la ría, próxima a la orilla norte de Arousa. En sus proximidades, estaciones como la 14 o la 16 presentan un contenido de cromo superior.

Otro conjunto de estaciones son las siguientes: 4, 16, 3, 14, 8 y 23. Se han nombrado por orden decreciente de concentración y se sitúan con valores de cromo entre 0.42 y 0.20 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Este grupo de puntos de muestreo, que presentan valores metálicos intermedios, se encuentra disperso a lo largo de la ría y no forman parte de una zona acotada de la misma. Existen estaciones situadas en la zona central (4 y 16), otras situadas en la zona más externa de la ría (8 y 14), y otras situadas en la zona más interna (3 y 23). De hecho, mientras que la estación más interna de este

grupo (23) presenta los niveles más bajos (0.20 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$), otra de la zona central (estación 4) duplica esta concentración (0.42 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$).

El área de mayor contenido metálico se ha centrado en este muestreo en las proximidades de la estación 22 (ver Figura 4- 22), al igual que en el primer muestreo. Sin embargo en las campañas de verano de 2002 e invierno de 2003 (muestreos 2 y 3) la concentración máxima de cromo en la fracción 'reducible' se ha encontrado en la estación 24. En general, en todas las campañas, el contenido de cromo en la fracción 'reducible' es inferior en la zona más externa de la ría y más próxima al Océano Atlántico, al igual que sucedía en la fracción 'ácida soluble' de las cuatro campañas. Al contrario que el contenido total de cromo analizado en todas las campañas, no se observa ni en esta campaña ni en las anteriores un comportamiento diferenciado ni de la fracción 'ácida soluble' ni de la 'reducible' (extractos 1 y 2 de BCR) entre las orillas norte y sur de Arousa.

Las estaciones cercanas a puertos de mar como Rianxo, Pobra do Caramiñal, Cambados o Vilagarcía de Arousa presentan concentraciones variables, y que en algunos casos han disminuido su concentración respecto al contenido de cromo en la fracción 'reducible' del tercer muestreo. Este es el caso de la estación 15 (<LOQ) y 24 (1.10 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). Otras estaciones presentan concentraciones mayores en el anterior muestreo (11 y 20). Las proximidades a Rianxo son en este cuarto muestreo el área de mayor contenido en cromo (1.10 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) mientras que otras zonas como Ribeira presentan valores metálicos inferiores al límite de cuantificación. Se confirma de nuevo la falta de correlación entre la posición relativa a un puerto y su concentración detectada.

Las estaciones próximas a bateas presentan concentraciones entre 0.93 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y valores inferiores al límite de detección (< 0.03 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). Estas estaciones pertenecen a dos de los grupos de clasificación empleados en los comentarios de este apartado, dado que encontramos puntos de muestreo con concentración metálica elevada (2, 18 y 21), intermedia (4 y 23) y baja (9). Se ha descartado, tras el estudio de la fracción 'reducible' de este muestreo y los tres anteriores, una correlación entre la concentración de cromo en esta fracción y su cercanía a zonas de explotación de mejillón.

6.3. Resultados de la fracción 'oxidable' en los cuatro muestreos de la Ría de Arousa

En las tablas de resultados de este apartado no ha habido ninguna estación que presentara valores inferiores al límite de cuantificación (< LOQ), por ello ningún resultado de las tablas se presenta en negrita. El límite de detección y límite de cuantificación se encuentran en la Tabla 4- 10.

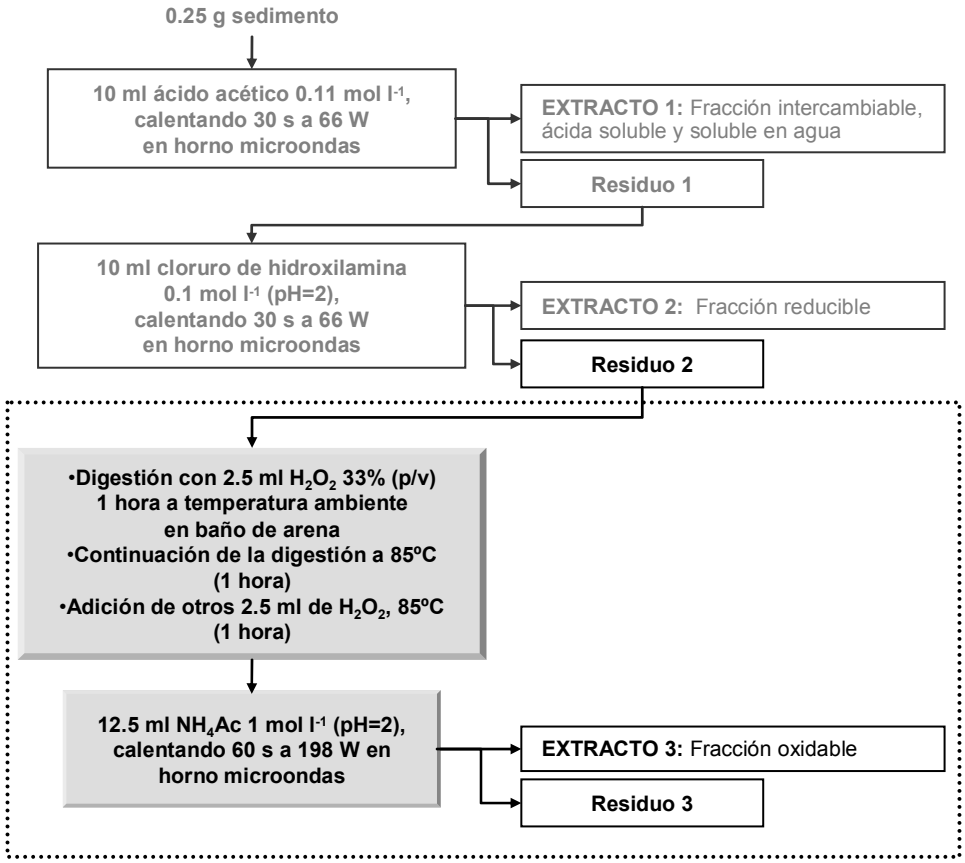

Figura 4- 23: Tercer extracto analizado en el procedimiento de extracción secuencial acelerado por microondas de muestras de sedimentos de la Ría de Arousa.

En la Figura 4- 23 se observa la etapa extractiva llevada a cabo para la obtención de esta fracción de cromo. Los detalles de la misma se recogen en el interior de un recuadro de línea punteada. La separación por centrifugación (10 minutos a 3000 rpm) y cuantificación por ETAAS son idénticas a los extractos anteriores.

6.3.1. Sedimentos del muestreo de invierno de 2002

En este apartado se encuentran en la Figura 4- 24 y en la Tabla 4- 20 los resultados obtenidos para los análisis de la fracción 'oxidable' de cromo en los sedimentos marinos recolectados en Arousa durante el muestreo de invierno de 2002.

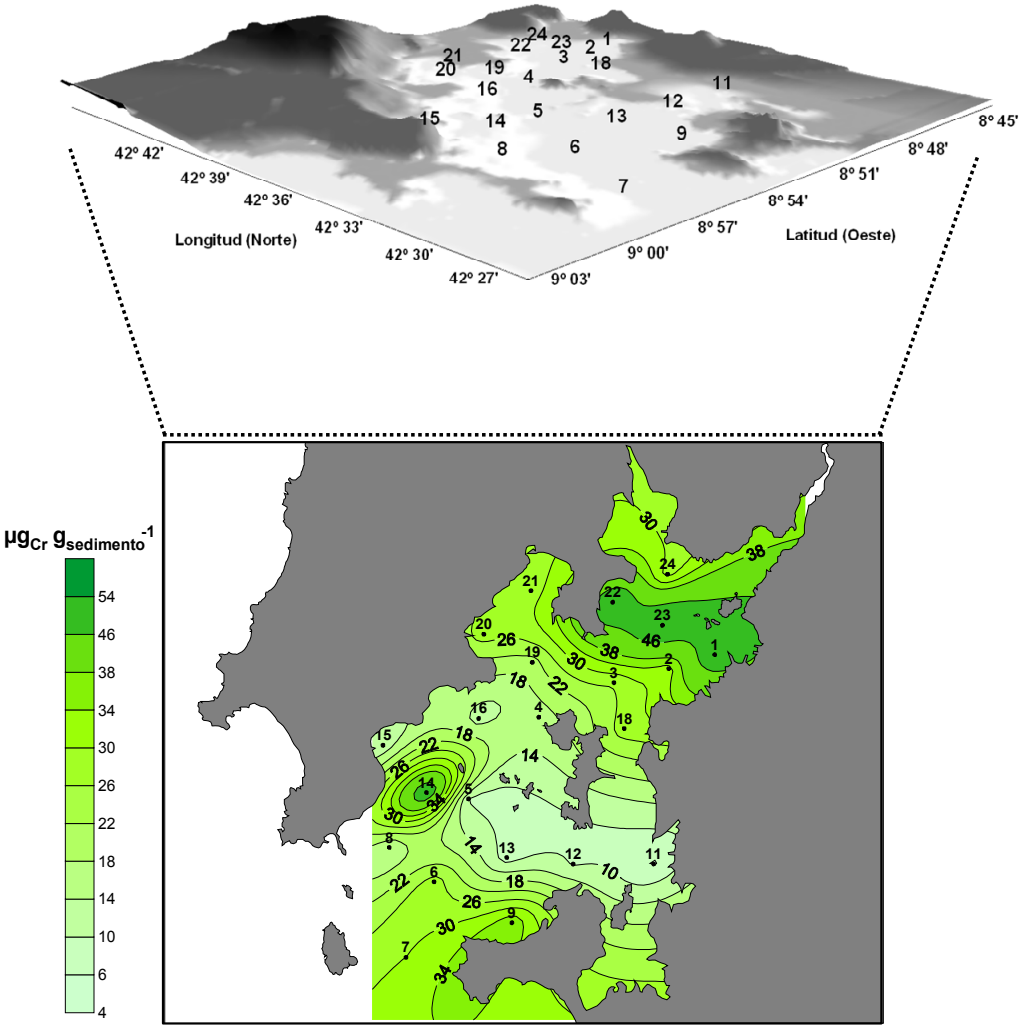

Figura 4- 24: Distribución de la fracción 'oxidable' de cromo del muestreo de invierno de 2002. Resultados de los análisis del primer muestreo.

Tabla 4- 20: Concentración de cromo medida en la fracción 'oxidable' de los sedimentos marinos recolectados en el primer muestreo.

	Muestreo 1: invierno de 2002		
estación	**Cr / µg g^{-1}**	**SD / µg g^{-1}**	**CV / %**
1	53	3	4.8
2	32.0	0.2	0.7
3	26.5	0.4	1.6
4	16	2	12.4
5	9.5	0.7	7.7
6	28.1	0.7	2.7
8	13.4	0.9	6.4
9	37	3	7.0
11	5.5	0.5	9.9
12	9.5	0.9	9.3
13	7.9	0.8	9.9
14	54.7	1.1	2.0
15	10.8	0.8	7.6
16	12.2	0.9	7.4
18	28	2	7.9
19	20.1	1.4	7.0
20	27.8	1.9	6.7
21	28	2	7.9
22	54	4	6.6
23	55	4	7.4
24	28.0	0.9	3.3

En el primer muestreo se obtuvo el valor promedio de concentración de cromo en la fracción 'oxidable' más bajo de los cuatro muestreos realizados en los sedimentos de Arousa (26.51 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$), pero con pocas diferencias respecto a las restantes campañas. También aquí es donde la diferencia entre la estación de mayor concentración y la de menor concentración es mínima (49.21 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$).

El cromo del tercer extracto de BCR ha presentado valores superiores al límite de cuantificación en todas las estaciones (0.05 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$).

El contenido de cromo en la fracción 'oxidable' de esta campaña ha sido en general homogéneo. Como se recoge en la Tabla 4- 20, únicamente la estación 4 (12%) ha presentado un coeficiente de variación más elevado. El contenido en la fracción 'oxidable' de esta estación ha sido intermedio (16.16 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$).

La fracción 'oxidable' de la estación 24 no es, al igual que en el resto de fracciones, en donde el contenido de cromo es máximo en esta campaña. En este caso el comportamiento de las fracciones y el contenido total no es similar. De hecho, el contenido de cromo total de la estación 24 era con diferencia el máximo de todas las estaciones de la primera campaña. Se sitúa entre las estaciones de mayor concentración de la fracción 'oxidable' por el siguiente orden: 14, 23, 22, 1, 9 y 2. Este grupo de estaciones se han citado por orden decreciente de contenido metálico, desde 54.69 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ hasta 32.03 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ respectivamente para la primera y última estación citada.

El área de mayor contenido metálico se localiza en una zona interna del estuario. Esta zona se corresponde con una franja perpendicular al eje de la ría comprendida entre las estaciones 1, 22 y 23 perfectamente definida. Separada de este grupo y localizada en la zona centro-exterior del estuario se encuentra la estación 14, con el máximo valor de la fracción 'oxidable' de esta campaña, en las proximidades de Ribeira.

Las estaciones de menor nivel metálico han sido las siguientes: 15, 5, 12, 13 y 11, nombradas por orden decreciente de contenido en cromo, con concentraciones inferiores a 10.00 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Esta zona de menor concentración se corresponde con un eje perpendicular al que atraviesa el estuario (ver Figura 4- 24), próxima al Océano Atlántico.

Otro conjunto de estaciones son las siguientes: 18, 6, 24, 21, 20, 3, 19, 4, 8 y 16. Se han nombrado por orden decreciente de concentración y se sitúan con valores de cromo entre 28.40 y 12.20 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Este grupo de puntos de muestreo, que presentan valores metálicos intermedios, pueden localizarse geográficamente en un área interna de la ría. Son una excepción las estaciones 6 y 8. En este caso la zona central no es la que presenta valores intermedios de concentración de cromo.

A lo largo de la ría, el contenido de cromo perteneciente a la fracción 'oxidable' es relativamente bajo, y su variación espacial no es tan clara como en el caso de los análisis totales (comentados en el capítulo 3) o los análisis de la fracción 'ácida soluble' comentada para los cuatro muestreos. No se cumple que la zona más externa de la ría, y más próxima al Océano Atlántico sea la de menor contenido metálico. Esta distribución metálica no se ha observado ni en la fracción 'ácida soluble', ni en la fracción 'reducible' o en el contenido total de cromo de los

sedimentos de Arousa analizados. El resto de fracciones y el contenido total presentan un comportamiento espacial y temporal similar.

Las estaciones cercanas a puertos de mar como Rianxo, Pobra do Caramiñal, Cambados o Vilagarcía de Arousa presentan concentraciones variables. Así en estaciones como la de Vilagarcía (estación 1) se encontraron 52.75 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y en Cambados (estación 11) 5.48 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Rianxo o Pobra do Caramiñal presentaron valores intermedios entorno a 28.00 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Se confirma de nuevo la falta de correlación entre la posición relativa a un puerto y su concentración.

Las estaciones próximas a bateas presentan concentraciones entre 54.60 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y 27.80 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Estas estaciones pertenecen a dos de los grupos de clasificación empleados en los comentarios de este apartado, dado que encontramos puntos de muestreo con concentración metálica elevada (2, 9 y 23) e intermedia (4, 18 y 21). Se ha descartado en este muestreo una correlación entre la concentración de cromo en esta fracción y su cercanía a zonas de explotación de mejillón, a pesar de que restos biológicos de mejillones pudieran aportar materia orgánica a los sedimentos de estas zonas.

6.3.2. Sedimentos del muestreo de verano de 2002

En este apartado se encuentran en la Figura 4- 25 y en la Tabla 4- 21 los resultados obtenidos para los análisis de la fracción 'oxidable' de cromo en los sedimentos marinos recolectados en Arousa durante el muestreo de verano de 2002.

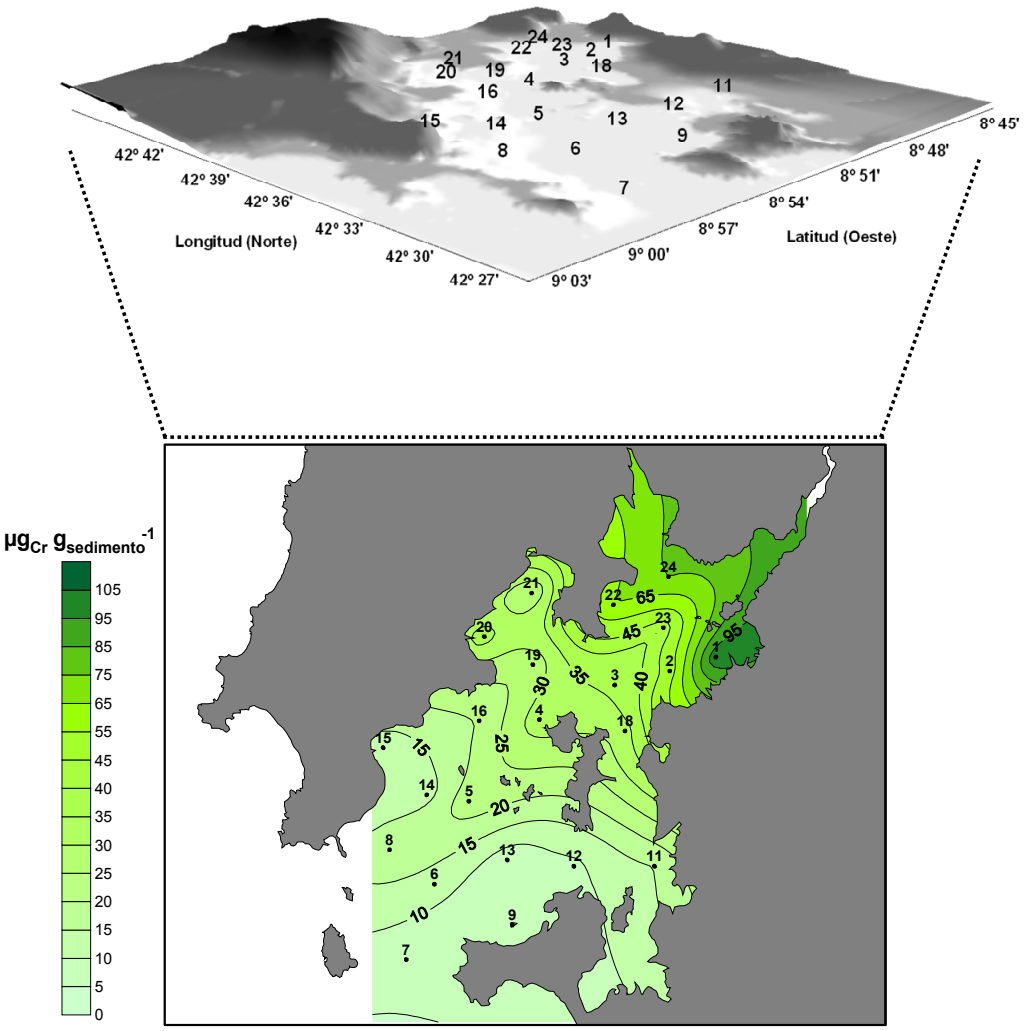

Figura 4- 25: Distribución de la fracción 'oxidable' de cromo del muestreo de verano de 2002. Resultados de los análisis del segundo muestreo.

Tabla 4- 21: Concentración de cromo medida en la fracción 'oxidable' de los sedimentos marinos recolectados en el segundo muestreo.

	Muestreo 2: verano de 2002		
estación	**Cr / µg g^{-1}**	**SD / µg g^{-1}**	**CV / %**
1	104	2	2.1
2	49	2	4.7
3	36.4	0.2	0.5
4	33.42	0.07	0.2
5	23.2	0.7	3.1
6	12.7	0.4	3.3
8	18.8	0.5	2.5
9	10.284	0.010	0.0
11	15.1	0.3	1.7
12	8.8	0.4	4.5
13	6.7	0.7	10.1
14	13.0	0.8	6.5
15	12.2	0.6	5.1
16	20.4	0.7	3.6
18	32.8	1.6	4.9
19	26.3	0.8	3.2
20	37.6	1.8	4.7
21	24.6	1.3	5.4
22	65	3	5.3
23	40	5	13.2
24	75	3	3.8

En el segundo muestreo se obtuvo el valor promedio de concentración de cromo en la fracción 'oxidable' más alto de los cuatro muestreos realizados en los sedimentos de Arousa (31.65 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$), pero muy similar a las restantes campañas. La diferencia entre la estación de mayor concentración y la de menor concentración ha aumentado respecto al primer muestreo (97.07 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) y sigue aumentando en los siguientes.

El cromo de la fracción 'oxidable' sigue presentando valores superiores al límite de cuantificación en todas las estaciones (0.05 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$).

Como se observa en la Tabla 4- 21, el contenido de cromo en la fracción 'oxidable' de esta campaña ha sido en general homogéneo. Los puntos con un coeficiente de variación más elevado han sido la estación 23 (13%) y la estación 13 (10%). La

estación 23 se sitúa entre las de mayor contenido en esta fracción y la estación 13 es el mínimo valor de cromo encontrado en esta campaña.

En este muestreo la estación 1 es la de mayor contenido en cromo con 103.75 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Ha aumentado la concentración de esta estación un 97% respecto a la campaña anterior (invierno de 2002).

En general, los puntos de mayor contenido en cromo han sido las estaciones 1, 24, 22, 2, 23, 20, 3, 4 y 18 con valores superiores a 31.00 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y citadas en orden decreciente de concentración. En este grupo mencionado, en comparación con el anterior muestreo, ya no aparecen la estaciones 14 y 9, dado que han disminuido notablemente en cromo.

El área de mayor contenido metálico sigue siendo la zona más interna de la ría. De este grupo se desmarca del resto de estaciones, con mucha diferencia por su contenido metálico, la estación 1, situada en la orilla sur de la ría. La estación 18, de menor contenido de este grupo, es la que se sitúa más alejada de la zona interna.

Las estaciones de menor nivel metálico han sido las siguientes: 9, 12 y 13, nombradas por orden decreciente de contenido metálico, con concentraciones inferiores a 11.00 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Esta zona de menor concentración, de nuevo es la más próxima al Océano Atlántico, pero más cercana en este caso a la orilla sur del estuario.

Otro conjunto de estaciones son las siguientes: 19, 21, 5, 16, 8, 11, 14, 6 y 15. Se han nombrado por orden decreciente de concentración y se sitúan con valores de cromo entre 26.29 y 12.25 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Este grupo de puntos de muestreo, que presentan valores metálicos intermedios, se encuentra disperso a lo largo de la ría y no forman parte de una zona acotada de la misma. Existen estaciones situadas en la zona más central (5 y 16), otras situadas en la zona más externa de la ría (6, 8, 14 y 15) y otras situadas en la zona más interna (19 y 21).

El área de mayor contenido metálico se ha centrado en este segundo muestreo en las proximidades a la estación 1 (ver Figura 4- 25). Al contrario que la fracción ‘oxidable’ del primer muestreo, en la fracción ‘oxidable’ de este muestreo la zona más interna de la ría es la de mayor concentración, y la más próxima al Océano Atlántico es la de menor contenido metálico. Las líneas de concentración conforme nos desplazamos por ambas orillas del estuario desde la zona interna hasta el océano tienen un comportamiento similar de avance.

Las estaciones cercanas a puertos de mar como Rianxo, Pobra do Caramiñal, Cambados o Vilagarcía de Arousa presentan concentraciones variables, desde 12.25 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ hasta 103.75 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Todas estas estaciones han aumentado en concentración respecto al primer muestreo. La zona próxima a Vilagarcía de Arousa es en este segundo muestreo el área de mayor contenido en cromo (103.75 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) mientras que otras zonas como Ribeira, que presenta 12.25 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$, o Cambados, que presenta una concentración de 15.15 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Se confirma de nuevo la falta de correlación entre la posición relativa a un puerto y su concentración.

Las estaciones próximas a bateas presentan concentraciones entre 10.28 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y 49.05 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Estas estaciones pertenecen a los tres grupos de clasificación empleados en los comentarios de este apartado, dado que encontramos puntos de muestreo con concentración metálica elevada (2, 4, 18 y 23), intermedia (21) y baja (9). Se ha descartado, tras el estudio de la fracción 'oxidable' de este muestreo, una correlación entre la concentración de cromo en esta fracción y su cercanía a zonas de explotación de mejillón.

6.3.3. Sedimentos del muestreo de invierno de 2003

En este apartado se encuentran en la Figura 4- 26 y en la Tabla 4- 22 los resultados obtenidos para los análisis de la fracción 'oxidable' de cromo en los sedimentos marinos recolectados en Arousa durante el muestreo de invierno de 2003.

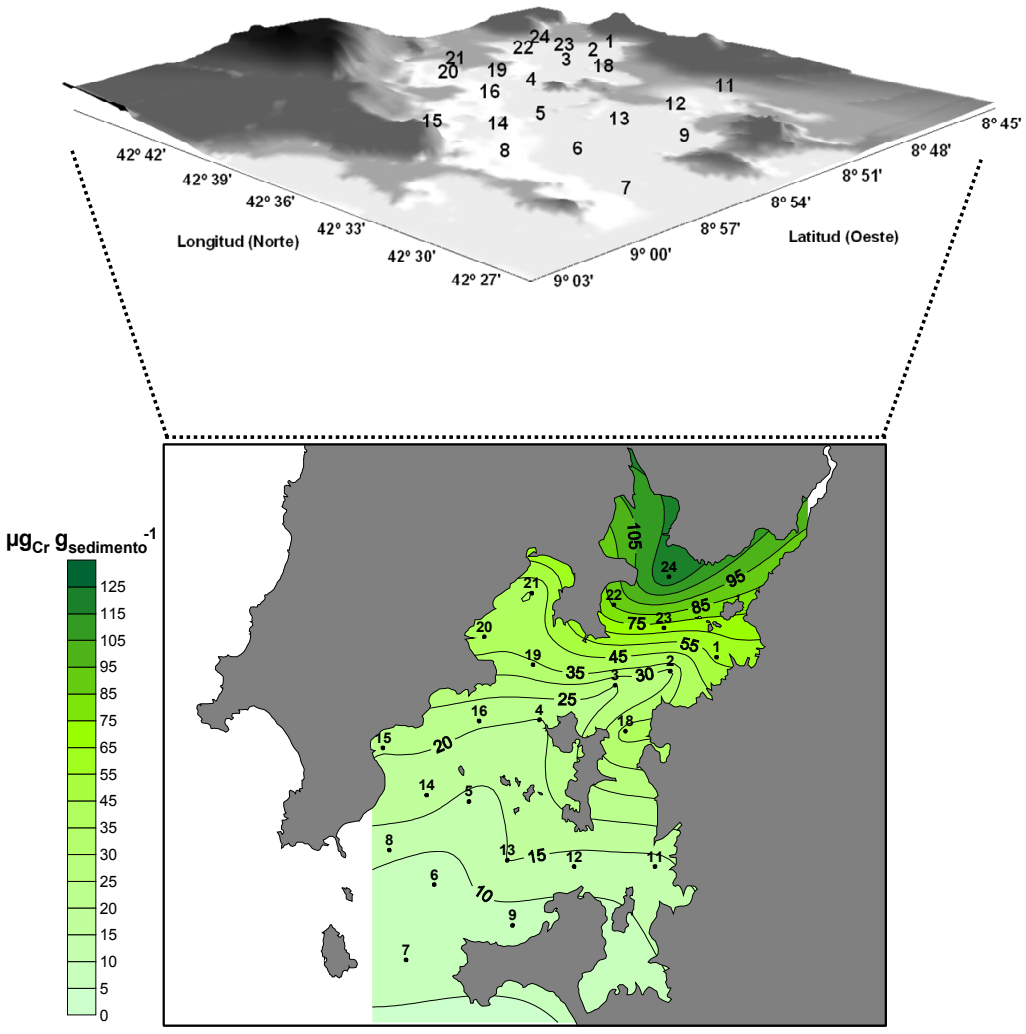

Figura 4- 26: Distribución de la fracción 'oxidable' de cromo del muestreo de invierno de 2003. Resultados de los análisis del tercer muestreo.

Tabla 4- 22: Concentración de cromo medida en la fracción 'oxidable' de los sedimentos marinos recolectados en el tercer muestreo.

	Muestreo 3: invierno de 2003		
estación	**Cr / µg g^{-1}**	**SD / µg g^{-1}**	**CV / %**
1	57.9	0.7	1.1
2	27.6	1.4	5.1
3	24.6	0.4	1.6
4	19.8	0.7	3.6
5	13.3	0.5	3.8
6	6.3	0.3	5.2
8	11.3	0.3	2.3
9	8.1	0.6	7.6
11	12.9	1.6	12.2
12	12.5	1.0	8.1
13	15.2	1.0	6.7
14	18.9	0.5	2.5
15	20.3	0.8	4.0
16	20.9	1.0	4.9
18	37	2	6.2
19	33.6	1.7	5.2
20	39	2	6.1
21	34	4	10.8
22	86	6	6.7
23	-	-	-
24	125	3	2.1

En el tercer muestreo se obtuvo un valor promedio de concentración de cromo en la fracción 'oxidable' intermedio entre el segundo y cuarto muestreo (31.24 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$), pero con pocas diferencias respecto a todas las restantes campañas. La diferencia entre la estación de mayor concentración y la de menor concentración ha aumentado respecto a los dos anteriores muestreos (118.50 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) y es máximo en la siguiente campaña.

Como se puede observar en la Tabla 4- 22, el cromo de la fracción 'oxidable' ha presentado valores superiores al límite de cuantificación (0.05 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) en todas las estaciones, salvo en la estación 23 que no ha podido ser analizada.

El contenido de cromo en la fracción 'oxidable' de esta campaña ha sido homogéneo en la mayoría de las estaciones analizadas. Las estaciones con un mayor coeficiente de variación han sido la estación 11 (12%) y la estación 21 (11%). La estación 11

presenta valores de cromo intermedios respecto al resto de estaciones y la estación 21 se sitúa en el grupo de puntos de muestreo con mayor contenido.

En general, los puntos de mayor contenido en cromo han sido las estaciones 24, 22, 1, 20, 18, 21 y 19 con valores superiores a 33.60 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y citados en orden decreciente de concentración. Las cuatro últimas estaciones citadas presentan concentraciones entre 33.64 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y 39.38 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. En los dos últimos muestreos (tercero y cuarto) la estación 24 pasa a ser el punto de mayor contenido. En esta campaña alcanza 124.79 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. El área de mayor contenido metálico abarca parte de la Ría de Arousa, tanto en la zona interna como en dirección al área más central del estuario.

Las zonas de menor nivel de cromo han sido las estaciones 8, 9 y 6, nombradas por orden decreciente de contenido metálico, con concentraciones inferiores a 11.40 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Estas tres estaciones se encuentran próximas entre sí, y se sitúan sobre el eje perpendicular más exterior al eje principal que atraviesa la ría. Es decir, de nuevo nos situamos en la zona más externa.

En este muestreo, el grupo de estaciones con concentraciones intermedias es mayoritario. Se han incluido en este grupo los siguientes puntos de muestreo: 2, 3, 16, 15, 4, 14, 13, 5, 11 y 12. Se han nombrado por orden decreciente de concentración y se sitúan con valores de cromo entre 27.60 y 12.46 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Este grupo de puntos de muestreo, que presentan valores metálicos intermedios, se encuentra disperso en la zona central y exterior de la ría, pero no forma parte de una zona acotada de la misma. Existen estaciones situadas en la zona más central (4 y 16), otras situadas en la zona más externa de la ría (5, 13, 14 y 15), pero también se observan otras situadas en la zona más interna (2 y 3).

El área de mayor contenido metálico en este muestreo responde al típico comportamiento detectado en el contenido total de cromo o en la fracción ‘ácida soluble’ y ‘reducible’ (ver Figura 4- 26). En general se cumple que la zona de mayor concentración es la más interna de la ría, y la más próxima al Océano Atlántico es la de menor contenido metálico. En este muestreo se aprecia una mayor dilución de la concentración de cromo en esta fracción en la dirección del canal de entrada.

Las estaciones cercanas a puertos de mar como Rianxo, Pobra do Caramiñal, Cambados o Vilagarcía de Arousa presentan concentraciones variables, y que en algunos casos han disminuido su concentración respecto al contenido de cromo en la

fracción 'oxidable' del segundo muestreo. Este es el caso de las estaciones 1 (57.94 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) y 11 (12.90 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). Otras estaciones presentan concentraciones mayores en este muestreo (15, 20 y 24). La zona próxima a Rianxo es, en este cuarto muestreo, el área de mayor contenido en cromo (124.79 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) mientras que otras zonas como Cambados presentan valores metálicos sensiblemente inferiores (12.90 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). Se confirma de nuevo la falta de correlación entre la posición relativa a un puerto y su concentración.

Las estaciones próximas a bateas presentan concentraciones entre 37.46 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y 8.06 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Estas estaciones pertenecen a los tres grupos de clasificación empleados en los comentarios de este apartado, dado que encontramos puntos de muestreo con concentración metálica elevada (18 y 21), intermedia (2 y 4) y baja (9). Se ha descartado, tras el estudio de la fracción 'oxidable' de este muestreo una correlación entre la concentración de cromo en esta fracción y su cercanía a zonas de explotación de mejillón, a pesar de esperar un aporte adicional en esta zona de materia orgánica procedente de restos de mejillones.

6.3.4. Sedimentos del muestreo de verano de 2003

En este apartado se encuentran en la Figura 4- 27 y en la Tabla 4- 23 los resultados obtenidos para los análisis de la fracción 'oxidable' de cromo en los sedimentos marinos recolectados en Arousa durante el muestreo de verano de 2003.

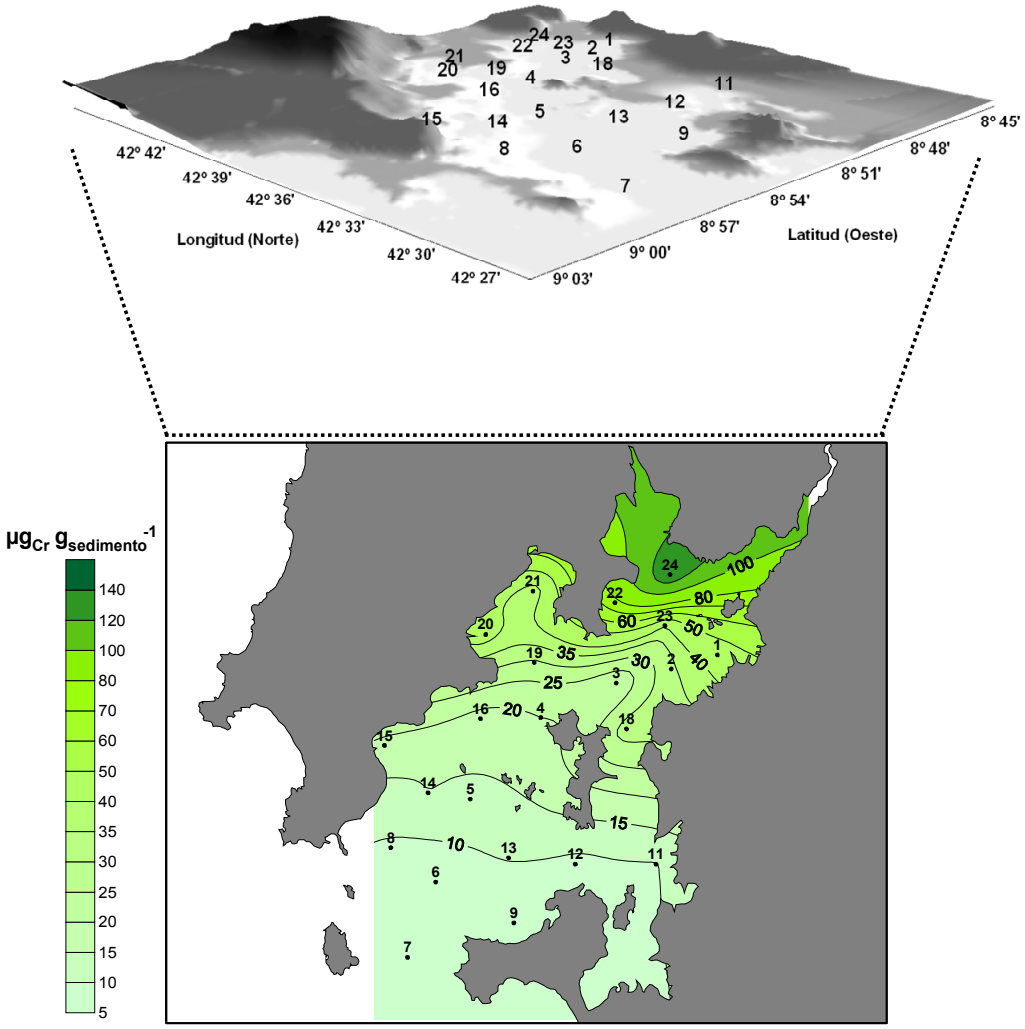

Figura 4- 27: Distribución de la fracción 'oxidable' de cromo del muestreo de verano de 2003. Resultados de los análisis del cuarto muestreo.

Tabla 4- 23: Concentración de cromo medida en la fracción 'oxidable' de los sedimentos marinos recolectados en el cuarto muestreo.

	Muestreo 4: invierno de 2003		
estación	**Cr / µg g^{-1}**	**SD / µg g^{-1}**	**CV / %**
1	44	3	7.1
2	34	2	6.0
3	20.6	0.2	0.8
4	20.0	0.9	4.7
5	13.5	0.5	3.6
6	7.5	0.7	9.2
8	9.0	0.5	5.9
9	8.1	0.7	8.8
11	9.8	0.8	7.9
12	8.6	0.5	6.2
13	10.2	0.9	8.9
14	15.0	1.5	9.9
15	18.3	0.8	4.5
16	18.0	1.0	5.6
18	32.7	1.6	5.0
19	29.1	0.9	3.3
20	43.3	1.3	3.0
21	35	3	8.3
22	77	9	11.5
23	39.6	0.4	1.1
24	137	13	9.6

En el cuarto muestreo se obtuvo el segundo valor promedio de concentración de cromo en la fracción ‘oxidable’ más bajo de los cuatro muestreos realizados en los sedimentos de Arousa (29.99 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$), pero con pocas diferencias respecto a las restantes campañas. La diferencia entre la estación de mayor concentración y la de menor concentración ha sido la máxima de todos los anteriores muestreos (129.10 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$).

El cromo de la fracción ‘oxidable’ ha presentado valores superiores al límite de cuantificación en todas las estaciones (0.05 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$), como en las anteriores campañas.

El contenido de cromo en la fracción ‘oxidable’ de esta campaña ha sido homogéneo en prácticamente todas las estaciones analizadas (ver Tabla 4- 23). El único punto con un coeficiente de variación más elevado, superando ligeramente el 10%, ha sido

la estación 22, la segunda estación de mayor contenido en cromo de esta fracción y en esta campaña.

En esta última campaña, la estación 24 presenta el mayor contenido en cromo (136.58 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). Este valor ha sido el máximo registrado de todas las campañas, aumentando un 9% respecto al tercer muestreo, un 82% respecto al segundo muestreo y un 388% respecto al primer muestreo.

En general, los puntos de mayor contenido en cromo han sido las estaciones 24, 22, 1, 20, 23, 21, 2 y 18 con valores superiores a 32.70 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y citados en orden decreciente de concentración. Respecto al anterior muestreo, la estación 19 ha bajado ligeramente en contenido de cromo y ha presentado valores ligeramente inferiores a 29.06 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. La estación 23 se mantiene, y aunque no se ha podido analizar en el tercer muestreo, ha presentado en el cuarto una concentración similar al segundo (39.60 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$).

Las zonas de menor nivel metálico han sido las estaciones 13, 11, 8, 12, 9 y 6, nombradas por orden decreciente de contenido metálico, con concentraciones inferiores a 11.20 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Este grupo de menor concentración se sitúa en la zona exterior de la Ría de Arousa.

En este último muestreo, el grupo de estaciones con concentraciones intermedias han sido las siguientes: 19, 3, 4, 15, 16, 14 y 5. Se han nombrado por orden decreciente de concentración y se sitúan con valores de cromo entre 29.06 y 13.47 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Este grupo de puntos de muestreo, que presentan valores metálicos intermedios, se encuentra disperso en la zona central y exterior de la ría, pero no forma parte de una zona acotada de la misma. Existen estaciones situadas en la zona más central (4 y 16), otras situadas en la zona más externa de la ría (5, 14 y 15), pero también se observan otras situadas en la zona más interna (3 y 19).

El área de mayor contenido metálico en este muestreo responde al típico comportamiento detectado en el contenido total de cromo o en la fracción ‘ácida soluble’ y ‘reducible’ (ver Figura 4- 27). En general se cumple que la zona de mayor concentración es la más interna de la ría, y la más próxima al Océano Atlántico es la de menor contenido metálico. Esto se cumple en los tres últimos muestreos pero no en el primero para esta fracción de cromo. En esta campaña se aprecia una mayor dilución de la concentración de cromo en la fracción ‘oxidable’ en la dirección de entrada del canal.

Las estaciones cercanas a puertos de mar como Rianxo, Pobra do Caramiñal, Cambados o Vilagarcía de Arousa presentan concentraciones variables, y que en algunos casos han disminuido su concentración respecto al contenido de cromo en la fracción 'oxidable' del tercer muestreo. Este es el caso de la estación 15 (18.32 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$), 11 (9.77 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) y 1 (43.86 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). Otras estaciones presentan concentraciones superiores en este muestreo (20 y 24). La zona próxima a Rianxo sigue siendo en este cuarto muestreo el área de mayor contenido en cromo (136.58 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) mientras que otras zonas como Cambados presentan valores metálicos próximos a 9.77 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Se confirma nuevamente la falta de correlación entre la posición relativa a un puerto y su concentración.

Las estaciones próximas a bateas presentan concentraciones entre 39.60 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ y 8.09 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Estas estaciones pertenecen a los tres grupos de clasificación empleados en los comentarios de este apartado, dado que encontramos puntos de muestreo con concentración metálica elevada (2, 18, 21 y 23), intermedia (4) y baja (9). Se ha descartado, tras el estudio de la fracción 'oxidable' de los cuatro muestreos una correlación entre la concentración de cromo en esta fracción y su cercanía a zonas de explotación de mejillón.

CONCLUSIONES

Se ha optimizado un método rápido, sensible y relativamente económico para la determinación de cromo por ETAAS en las fracciones obtenidas de la extracción secuencial en tres etapas propuesta por la BCR. Estas fracciones se corresponden con el cromo más intercambiable y soluble en agua, el cromo asociado a las capas de óxidos e hidróxidos de hierro y manganeso, y el cromo asociado a sulfuros y materia orgánica presente en los sedimentos marinos. El programa electrotérmico ha sido común para las tres fracciones de extractos de sedimentos marinos, lo que ha simplificado aún más el análisis rutinario de muestras.

Se ha logrado acelerar con energía de microondas el procedimiento de extracción secuencial clásico de BCR en tres etapas. Las condiciones extractivas en el procedimiento acelerado son suaves, puesto que la energía empleada y el tiempo aplicado son muy bajos (exposiciones de 30 a 60 segundos con potencias de entre 66 W y 198 W). Por esa razón las etapas extractivas se han llevado a cabo directamente en tubos de centrífuga, dado que no existen problemas de presión y temperatura durante el proceso. Con estas condiciones evitamos degradar las muestras de sedimento sin alterar las consecutivas fracciones.

El procedimiento BCR está constituido por tres etapas extractivas y una digestiva. El tiempo consumido en el procedimiento acelerado es sensiblemente inferior al esquema clásico de BCR (2 minutos frente a 48 horas en las etapas extractivas). No se ha podido acortar el tiempo de digestión de la materia orgánica. Esta etapa digestiva con peróxido de hidrógeno, que consume unas tres horas, se ha realizado en un baño de arena siguiendo el procedimiento clásico. El principal impedimento para el acortamiento de esta etapa ha sido la formación de abundantes espumas generadas durante la destrucción de la materia orgánica de las muestras de sedimento.

Durante las optimizaciones del programa electrotérmico no se han observado diferencias significativas en la señal de cromo con la adición de $Mg(NO_3)_2$ como modificador de matriz. Por ello, las medidas por ETAAS para el estudio de las características analíticas y el análisis de muestras medioambientales se han realizado en ausencia de modificador de matriz.

Las características analíticas obtenidas para el procedimiento completo de extracción y análisis de cromo en las fracciones procedentes de sedimento marino han sido satisfactorias.

En calibrados y adiciones de las dos primeras fracciones de BCR medidas por ETAAS no se han encontrado diferencias significativas entre sus pendientes, y la cuantificación de muestras se ha realizado mediante calibrados acuosos de patrones de cromo. En el tercer extracto (fracción 'oxidable'), al presentar efecto matriz, se han medido las muestras con adiciones estándar.

Los límites de detección (0.030 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$, 0.033 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$, 0.015 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ para el extracto 1, 2 y 3 respectivamente), los límites de cuantificación (0.10 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$, 0.11 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$, 0.05 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ para el extracto 1, 2 y 3 respectivamente) y las masas características (3.5 $\pm$ 0.3 pg, 2.8 $\pm$ 0.5 pg y 3.0 $\pm$ 0.8 pg también para los tres extractos respectivamente) han definido la sensibilidad del método.

Las precisiones obtenidas tras la aplicación del procedimiento completo de extracción secuencial acelerado a 5 submuestras de sedimento marino de contenido 0.191 $\pm$ 0.006 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ en la primera fracción, 0.126 $\pm$ 0.008 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ en la segunda fracción y 5.85 $\pm$ 0.16 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ en la tercera fracción, han sido de 3.3%, 6.2% y 2.7% respectivamente.

La exactitud del método se ha evaluado con el cálculo de la recuperación analítica tras la adición de diferentes concentraciones de patrón de cromo a los tres extractos (98.8%, 92.9% y 102,3% respectivamente para las fracciones obtenidas en orden de extracción). La cuantificación con valores comparables a los certificados del primer extracto en el material de referencia CRM 601, y del primer y tercer extracto en el material de referencia CRM 701 han servido para evaluar la exactitud del método.

Los resultados indican que el método desarrollado es preciso y exacto.

El análisis de muestras medioambientales de cuatro campañas procedentes de la Ría de Arousa ha demostrado la aplicabilidad del procedimiento para cuantificaciones rutinarias en laboratorio. El pretratamiento de dichas muestras (liofilizado y tamizado), realizado para su conservación y análisis posterior, ha sido una etapa clave tanto para la determinación de las fracciones extraídas de BCR como para la determinación de cromo total. La normalización del tamaño de partícula de las muestras estudiadas

ha facilitado el estudio comparativo y la evolución temporal de cromo en cada una de las fracciones de sedimentos de la Ría de Arousa.

Los sedimentos marinos de este estuario fueron recolectados en las cuatro campañas efectuadas durante el 2002 y el 2003. La doble recolección anual (verano e invierno) ha servido para estudiar posibles cambios estacionales en la concentración metálica de las fracciones extraídas de los sedimentos marinos. A este respecto, no se han observado cambios estacionales apreciables. Es decir, ni aumenta ni disminuye la concentración de cromo en las fracciones extraídas de los sedimentos preferentemente en invierno o en verano, durante las fechas muestreadas.

El accidente del Prestige en noviembre de 2002 cambió en su día las condiciones costeras. Consecuentemente, los sedimentos superficiales de la costa también se vieron afectados. Este suceso, ocurrido entre el segundo y el tercer muestreo, no ha influido en cambios drásticos ni generalizados en la concentración de cromo de las tres fracciones obtenidas de los sedimentos recolectados en la Ría de Arousa. En todos los casos la zona interna y norte del estuario ha sido la de mayor concentración metálica, lo que apunta a otra vía de entrada del metal en la ría.

Ha quedado claro en este capítulo que el cromo aparece en el interior del estuario y se diluye en dirección a la costa atlántica. Este comportamiento se observa de forma genérica en cada una de las fracciones analizadas.

Con el tiempo, las estaciones han incrementado su contenido de cromo y el área menos expuesta a este crecimiento ha sido la más próxima al Océano Atlántico. Las corrientes marinas han sido las encargadas de diluir su concentración desde el punto de mayor contaminación y conforme nos acercamos al Océano Atlántico.

Los mínimos valores de cromo registrados en todas las fracciones o bien se mantienen o bien disminuyen levemente en contenido metálico a lo largo del tiempo. Esto provoca que los rangos entre la estación de mayor y menor concentración se incrementen también con el tiempo. Este comportamiento es acorde con los resultados de cromo total encontrados tras el análisis de suspensiones de todos los sedimentos de Arousa.

El primer extracto obtenido aplicando el esquema de BCR se corresponde con la fracción de contenido metálico más intercambiable con la columna de agua. Es, en definitiva, el cromo más biodisponible en la fase acuosa. Como cabía esperar, esta

fracción ha sido la que menor concentración ha presentado de todos los extractos. En ninguna estación se llega a superar los 0.70 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$.

El segundo extracto obtenido aplicando el esquema de BCR se corresponde con la fracción metálica asociada a óxidos e hidróxidos de hierro y manganeso. Esta fracción, asociada a las capas de óxidos, ha sido superior a la concentración en la fracción 'ácida soluble' (primer extracto), pero al mismo tiempo ha presentado una mayor diferencia de concentraciones entre estaciones. Es aquí donde se han obtenido más puntos de muestreo de niveles metálicos inferiores al límite de detección o de cuantificación. Este es el caso en todos los muestreos de las estaciones 6 y 9. Otras estaciones como la 12, 13 o 15 han presentado en algún muestreo niveles inferiores al límite de cuantificación. En esta fracción no se llega a superar en ningún caso una concentración de 2.30 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$.

El tercer extracto obtenido aplicando el esquema de BCR corresponde con el cromo asociado a los sulfuros y capas de materia orgánica. Esta fracción es la de mayor concentración extraída. En general la suma de las fracciones 'ácida soluble' (extracto 1) y 'reducible' (extracto 2) es muy baja en comparación con la fracción 'oxidable' (extracto 3). Los resultados del análisis elemental (carbono, nitrógeno e hidrógeno) recogidos en el capitulo 5 indican que estas capas orgánicas son importantes en los sedimentos marinos de Arousa. El metal asociado a esta fracción es potencialmente biodisponible para especies marinas que filtran y se alimentan de este tipo de materia orgánica. La variación en concentración de cromo en esta fracción entre muestreos ha sido más acusada que en el caso de las dos anteriores fracciones. El valor máximo obtenido en estas capas de materia orgánica ha sido de $137 \pm 13\ \mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ en el último de los muestreos y en la estación 24. Esta estación es donde, en la mayoría de las campañas y la mayoría de las fracciones, se obtienen los máximos niveles de cromo.

Los mayores cambios detectados en el contenido de cromo de la fracción 'ácida soluble' de sedimentos de Arousa se han encontrado entre el primer y segundo muestreo. El rango de concentraciones ha sido mínimo en la primera campaña. El resto de campañas mostraron rangos similares.

En el caso de la fracción 'reducible', la tercera campaña de Arousa es la que presenta mayores niveles de cromo y también un mayor rango de concentraciones entre estaciones (2.25 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ de diferencia entre la estación de mayor y la de menor

nivel metálico). La zona que ha aumentado en cromo se localiza en el área más interna de la ría, por lo que se descarta en ese momento una correlación con el accidente del Prestige.

La última campaña de la fracción 'oxidable' se corresponde con los mayores niveles de cromo y la mayor diferencia de cromo entre estaciones muestreadas. Pero el incremento de cromo en las estaciones de mayor concentración es notable entre la primera y segunda campaña, y más gradual y suave entre las restantes campañas.

Se han sumado todas las fracciones extraídas de los sedimentos de Arousa y se han comparando estos niveles de cromo con los totales analizados por suspensiones. Con el tiempo, todas las fracciones van aumentando en cromo, incluyendo la fracción residual. Esta fracción se recoge en el siguiente capítulo.

BIBLIOGRAFÍA

Baruah, N. K., P. Kotoky, K. G. Bhattacharyya y G. C. Borah. **1996**. Metal speciation in Jhanji River sediments. **Science of the Total Environment** 193(1):1-12.

Belazi, A. U., C. M. Davidson, G. E. Keating y D. Littlejohn. **1995**. Determination and speciation of heavy-metals in sediments from the Cumbrian Coast, New England, UK. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 10(3):233-240.

Blanco, M., R. Boqué, R. Cela, J. Coello, S. Maspoch, M. C. Ortíz, J. Riba, F. X. Rius, A. Ruíz, L. A. Sarabia y X. Tomàs. **1994**. Avances en Quimiometría práctica. Universidad de Santiago de Compostela.

Chakraborty, R., A. K. Das, M. L. Cervera y M. Delaguardia. **1995**. Determination of chromium by electrothermal atomic-absorption spectrometry after rapid microwave-assisted digestion of sediment and botanical samples. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 10(5):353-358.

Cressie, N. A. C. **1993**. Statistics for spatial data. Wiley.

Das, A. K., R. Chakraborty, M. L. Cervera y M. Delaguardia. **1995**. Metal speciation in solid matrices. **Talanta** 42(8):1007-1030.

Davidson, C. M. y G. Delevoye. **2001**. Effect of ultrasonic agitation on the release of copper, iron, manganese and zinc from soil and sediment using the BCR three-stage sequential extraction. **Journal of Environmental Monitoring** 3(4):398-403.

Davidson, C. M., R. P. Thomas, S. E. McVey, R. Perala, D. Littlejohn y A. M. Ure. **1994**. Evaluation of a sequential extraction procedure for the speciation of heavy-metals in sediments. **Analytica Chimica Acta** 291(3):277-286.

Filgueiras, A. V., I. Lavilla y C. Bendicho. **2002**. 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** 374(1):103-108.

Gauthreaux, K., C. O. Noble, T. Falgoust, M. J. Beck, J. Sneddon y J. N. Beck. **1998**. Reliability and reproducibility of a sequential extraction procedure for trace metal determination in marsh sediments in southwest Louisiana. **Microchemical Journal** 60(2):175-183.

Gómez Ariza, J. L., I. Giraldez, D. Sánchez Rodas y E. Morales. **1999**. Metal readsorption and redistribution during the analytical fractionation of trace elements in oxic estuarine sediments. **Analytica Chimica Acta** 399(3):295-307.

Ipolyi, I., C. Brunori, C. Cremisini, P. Fodor, L. Macaluso y R. Morabito. **2002**. Evaluation of performance of time-saving extraction devices in the BCR three-step sequential extraction procedure. **Journal of Environmental Monitoring** 4(4):541-548.

Keith, L. H., W. Crummett, J. Deegan, R. A. Libby, J. K. Taylor y G. Wentler. **1983**. Principles of Environmental-Analysis. **Analytical Chemistry** 55(14):2210-2218.

López Sánchez, J. F., R. Rubio, C. Samitier y G. Rauret. **1996**. Trace metal partitioning in marine sediments and sludges deposited off the coast of Barcelona (Spain). **Water Research** 30(1):153-159.

Mahan, K. I., T. A. Foderaro, T. L. Garza, R. M. Martinez, G. A. Maroney, M. R. Trivisonno y E. M. Willging. **1987**. Microwave digestion techniques in the sequential extraction of calcium, iron, chromium, manganese, lead, and zinc in sediments. **Analytical Chemistry** 59(7):938-945.

Marqués, M. J., A. Salvador, A. E. Morales Rubio y M. de la Guardia. **1998**. Analytical methodologies for chromium speciation in solid matrices: a survey of literature. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry** 362(3):239-248.

Pazos Capeáns, P., M. C. Barciela Alonso, A. Bermejo Barrera y P. Bermejo Barrera. **2005**. Chromium available fractions in Arousa sediments using a modified microwave BCR protocol based on microwave assisted extraction. **Talanta** 65(3):678-685.

Pérez Cid, B., I. Lavilla y C. Bendicho. **1999a**. Comparison between conventional and ultrasound accelerated Tessier sequential extraction schemes for metal fractionation in sewage sludge. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry** 363(7):667-672.

Pérez Cid, B., I. Lavilla y C. Bendicho. **1999b**. Use of ultrasonic energy for shortening the sequential extraction of metals from river sediments. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry** 73(2):79-92.

Pérez Cid, B., I. Lavilla y C. Bendicho. **1998**. Speeding up of a three-stage sequential extraction method for metal speciation using focused ultrasound. **Analytica Chimica Acta** 360(1-3):35-41.

Pérez Cid, B. P., A. F. Albores, E. F. Gómez y E. F. López. **2001a**. Use of microwave single extractions for metal fractionation in sewage sludge samples. **Analytica Chimica Acta** 431(2):209-218.

Pérez Cid, B. P., A. F. Albores, E. F. Gómez y E. F. López. **2001b**. Metal fractionation in olive oil and urban sewage sludges using the three-stage BCR sequential extraction method and microwave single extractions. **Analyst** 126(8):1304-1311.

Pérez Cid, B. P., M. D. González y E. F. Gómez. **2002**. Comparison of single extraction procedures, using either conventional shaking or microwave heating, and the

Tessier sequential extraction method for the fractionation of heavy metals from environmental samples. **Analyst** 127(5):681-688.

Pérez Cid, B. P., I. Lavilla y C. Bendicho. **1999**. Application of microwave extraction for partitioning of heavy metals in sewage sludge. **Analytica Chimica Acta** 378(1-3):201-210.

Quevauviller, P. **1998**. Operationally defined extraction procedures for soil and sediment analysis - I. Standardization. **Trac-Trends in Analytical Chemistry** 17(5):289-298.

Quevauviller, P., E. A. Maier y B. Griepink. **1995**. Quality assurance for environmental analysis: method evaluation within the Measurements and Testing Programme (BCR). Elsevier.

Quevauviller, P., G. Rauret y B. Griepink. **1993a**. Conclusions of the workshop - Single and sequential extraction in sediments and soils. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry** 51(1-4):231-235.

Quevauviller, P., A. Ure, H. Muntau y B. Griepink. **1993b**. Improvement of analytical measurements within the BCR-Program - Single and sequential extraction procedures applied to soil and sediment analysis. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry** 51(1-4):129-134.

Rauret, G. **1998**. Extraction procedures for the determination of heavy metals in contaminated soil and sediment. **Talanta** 46(3):449-455.

Real, C., R. Barreiro y A. Carballeira. **1994**. The application of microwave-heating in sequential extractions of heavy-metals in estuarine sediments. **Science of the Total Environment** 152(2):135-142.

Sahuquillo, A., J. F. López Sánchez, R. Rubio, G. Rauret, R. P. Thomas, C. M. Davidson y A. M. Ure. **1999**. Use of a certified reference material for extractable trace metals to assess sources of uncertainty in the BCR three-stage sequential extraction procedure. **Analytica Chimica Acta** 382(3):317-327.

Schalscha, E. B., P. Escudero y I. Ahumada. **1999**. Concentration and fractionation of Cu, Cr, Ni and Zn in montmorillonitic and allophanic soils: comparison of two different extraction methods. **Agrochimica** 43(3-4):126-136.

Tessier, A., P. G. C. Campbell y M. Bisson. **1979**. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace-metals. **Analytical Chemistry** 51(7):844-851.

Thomas, R. P., A. M. Ure, C. M. Davidson, D. Littlejohn, G. Rauret, R. Rubio y J. F. López Sánchez. **1994**. 3-stage sequential extraction procedure for the determination of metals in river sediments. **Analytica Chimica Acta** 286(3):423-429.

Ure, A. M. y C. M. Davidson. **2001**. Chemical speciation in the environment. Blackwell Science.

Ure, A. M., P. Quevauviller, H. Muntau y B. Griepink. **1993**. 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. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry** 51(1-4):135-151.

Usero, J., M. Gamero, J. Morillo y I. Gracia. **1998**. Comparative study of three sequential extraction procedures for metals in marine sediments. **Environment International** 24(4):487-496.

LISTADO DE TABLAS

Tabla 4- 1: Métodos de extracción simples más comunes. 143

Tabla 4- 2: Método de extracción de A. Tessier (1979). 144

Tabla 4- 3: Método de extracción de M. Meguellatti (1983). 144

Tabla 4- 4: Método abreviado de extracción de W. Salomons y U. Föster (1984). 145

Tabla 4- 5: Método de M. Kersten y U. Föster (1986). 145

Tabla 4- 6: Procedimiento de extracción secuencial clásico de BCR aplicado a sedimentos marinos. 151

Tabla 4- 7: Parámetros instrumentales empleados para la determinación de cromo por ETAAS. 159

Tabla 4- 8: Concentración de cromo encontrada en los extractos obtenidos aplicando el procedimiento BCR clásico y empleando energía de microondas. 161

Tabla 4- 9: Rectas de calibrado acuoso y adición estándar de cada extracto de BCR procedente de un sedimento marino. 164

Tabla 4- 10: Límites de detección y cuantificación de los extractos de BCR. 165

Tabla 4- 11: Concentración de cromo (μg g^{-1}) de los materiales de referencia certificados (CRM) analizados aplicando las condiciones de aceleración optimizadas con energía de microondas. 167

Tabla 4- 12: Concentración de cromo medida en la fracción 'ácida soluble' de los sedimentos marinos recolectados en el primer muestreo. 171

Tabla 4- 13: Concentración de cromo medida en la fracción 'ácida soluble' de los sedimentos marinos recolectados en el segundo muestreo. 176

Tabla 4- 14: Concentración de cromo medida en la fracción 'ácida soluble' de los sedimentos marinos recolectados en el tercer muestreo. 180

Tabla 4- 15: Concentración de cromo medida en la fracción 'ácida soluble' de los sedimentos marinos recolectados en el cuarto muestreo. 184

Tabla 4- 16: Concentración de cromo medida en la fracción 'reducible' de los sedimentos marinos recolectados en el primer muestreo. 190

Tabla 4- 17: Concentración de cromo medida en la fracción 'reducible' de los sedimentos marinos recolectados en el segundo muestreo. 194

Tabla 4- 18: Concentración de cromo medida en la fracción 'reducible' de los sedimentos marinos recolectados en el tercer muestreo. 198

Tabla 4- 19: Concentración de cromo medida en la fracción 'reducible' de los sedimentos marinos recolectados en el cuarto muestreo. 202

Tabla 4- 20: Concentración de cromo medida en la fracción 'oxidable' de los sedimentos marinos recolectados en el primer muestreo. 207

Tabla 4- 21: Concentración de cromo medida en la fracción 'oxidable' de los sedimentos marinos recolectados en el segundo muestreo. 211

Tabla 4- 22: Concentración de cromo medida en la fracción 'oxidable' de los sedimentos marinos recolectados en el tercer muestreo. 215

Tabla 4- 23: Concentración de cromo medida en la fracción 'oxidable' de los sedimentos marinos recolectados en el cuarto muestreo. 219

LISTADO DE FIGURAS

Los datos empleados en las figuras de este capítulo y que no se contemplan numéricamente se recogen tabulados en el Anexo I.

Figura 4- 1: Tratamiento aplicado a la muestra de sedimento durante las extracciones secuenciales en tres etapas siguiendo el esquema BCR. 152

Figura 4- 2: Curvas de mineralización de la fracción 'ácida soluble' (extracto 1 de BCR) con y sin $Mg(NO_3)_2$ como modificador. 153

Figura 4- 3: Curvas de mineralización de la fracción 'reducible' (extracto 2 de BCR) con y sin $Mg(NO_3)_2$ como modificador. 154

Figura 4- 4: Influencia de la temperatura de mineralización en el perfil del pico de absorbancia durante la atomización de un extracto de la fracción 'reducible' en presencia de $Mg(NO_3)_2$ como modificador. 154

Figura 4- 5: Curvas de mineralización de la fracción 'oxidable' (extracto 3 de BCR) con y sin $Mg(NO_3)_2$ como modificador 155

Figura 4- 6: Curvas de atomización de la fracción 'ácida soluble' (extracto 1 de BCR) con y sin $Mg(NO_3)_2$ como modificador a una temperatura de mineralización de 1500 ºC. 156

Figura 4- 7: Curvas de atomización de la fracción 'reducible' (extracto 2 de BCR) con y sin $Mg(NO_3)_2$ como modificador a una temperatura de mineralización de 1500 ºC. 156

Figura 4- 8: Curvas de atomización de la fracción 'oxidable' (extracto 3 de BCR) con y sin $Mg(NO_3)_2$ como modificador a una temperatura de mineralización de 1500 ºC. 157

Figura 4- 9: Optimización de la concentración de modificador de matriz. 157

Figura 4- 10: Señales de absorbancia registradas en la etapa de atomización de la fracción 'oxidable' para distintas concentraciones de modificador de matriz [$Mg(NO_3)_2$ / $\mu g\ ml^{-1}$]. 158

Figura 4- 11: Perfil del programa electrotérmico optimizado para la determinación de cromo en las fracciones 'ácida soluble', 'reducible' y 'oxidable' extraídas de sedimentos marinos. 159

Figura 4- 12: Esquema de extracción secuencial acelerado por microondas. 163

Figura 4- 13: Primer extracto analizado en el procedimiento de extracción secuencial acelerado por microondas de muestras de sedimentos de la Ría de Arousa. 169

Figura 4- 14: Distribución de la fracción 'ácida soluble' de cromo del muestreo de invierno de 2002. Resultados de los análisis del primer muestreo. 170

Figura 4- 15: Distribución de la fracción 'ácida soluble' de cromo del muestreo de verano de 2002. Resultados de los análisis del segundo muestreo. 175

Figura 4- 16: Distribución de la fracción 'ácida soluble' de cromo del muestreo de invierno de 2003. Resultados de los análisis del tercer muestreo. 179

Figura 4- 17: Distribución de la fracción ‘ácida soluble’ de cromo del muestreo de verano de 2003. Resultados de los análisis del cuarto muestreo. 183

Figura 4- 18: Segundo extracto analizado en el procedimiento de extracción secuencial acelerado por microondas de muestras de sedimentos de la Ría de Arousa. 188

Figura 4- 19: Distribución de la fracción ‘reducible’ de cromo del muestreo de invierno de 2002. Resultados de los análisis del primer muestreo. 189

Figura 4- 20: Distribución de la fracción ‘reducible’ de cromo del muestreo de verano de 2002. Resultados de los análisis del segundo muestreo. 193

Figura 4- 21: Distribución de la fracción ‘reducible’ de cromo del muestreo de invierno de 2003. Resultados de los análisis del tercer muestreo. 197

Figura 4- 22: Distribución de la fracción ‘reducible’ de cromo del muestreo de verano de 2003. Resultados de los análisis del cuarto muestreo. 201

Figura 4- 23: Tercer extracto analizado en el procedimiento de extracción secuencial acelerado por microondas de muestras de sedimentos de la Ría de Arousa. 205

Figura 4- 24: Distribución de la fracción ‘oxidable’ de cromo del muestreo de invierno de 2002. Resultados de los análisis del primer muestreo. 206

Figura 4- 25: Distribución de la fracción ‘oxidable’ de cromo del muestreo de verano de 2002. Resultados de los análisis del segundo muestreo. 210

Figura 4- 26: Distribución de la fracción ‘oxidable’ de cromo del muestreo de invierno de 2003. Resultados de los análisis del tercer muestreo. 214

Figura 4- 27: Distribución de la fracción ‘oxidable’ de cromo del muestreo de verano de 2003. Resultados de los análisis del cuarto muestreo. 218

CAPÍTULO 5

Fracción residual de cromo en sedimentos marinos de Arousa

INTRODUCCIÓN 241

CONTENIDO RESIDUAL DE CROMO EN SEDIMENTOS DE LA RÍA DE AROUSA 243

1. Fracción residual de los sedimentos del muestreo de invierno de 2002.....243
2. Fracción residual de los sedimentos del muestreo de verano de 2002 247
3. Fracción residual de los sedimentos del muestreo de invierno de 2003.....251
4. Fracción residual de los sedimentos del muestreo de verano de 2003 254

CONCLUSIONES 257

BIBLIOGRAFÍA 259

LISTADO DE TABLAS 259

LISTADO DE FIGURAS 259

INTRODUCCIÓN

En la Figura 5- 1 se recoge un esquema en donde se detallan las fracciones de cromo determinadas por ETAAS tras la extracción secuencial de BCR y el contenido total de cromo determinado en suspensiones de sedimentos marinos. Los datos de cromo se han utilizado en la estimación de la fracción residual de cromo en dichos sedimentos. Esta última fracción se ha calculado por diferencia entre la concentración total de cromo en sedimentos de Arousa y la suma de fracciones de BCR extraídas. Este cálculo se ha realizado con los datos obtenidos de cada una de las estaciones para las cuatro campañas (ver Nota 1 en el pié de página) (Skoog, D. A. y col. 1996).

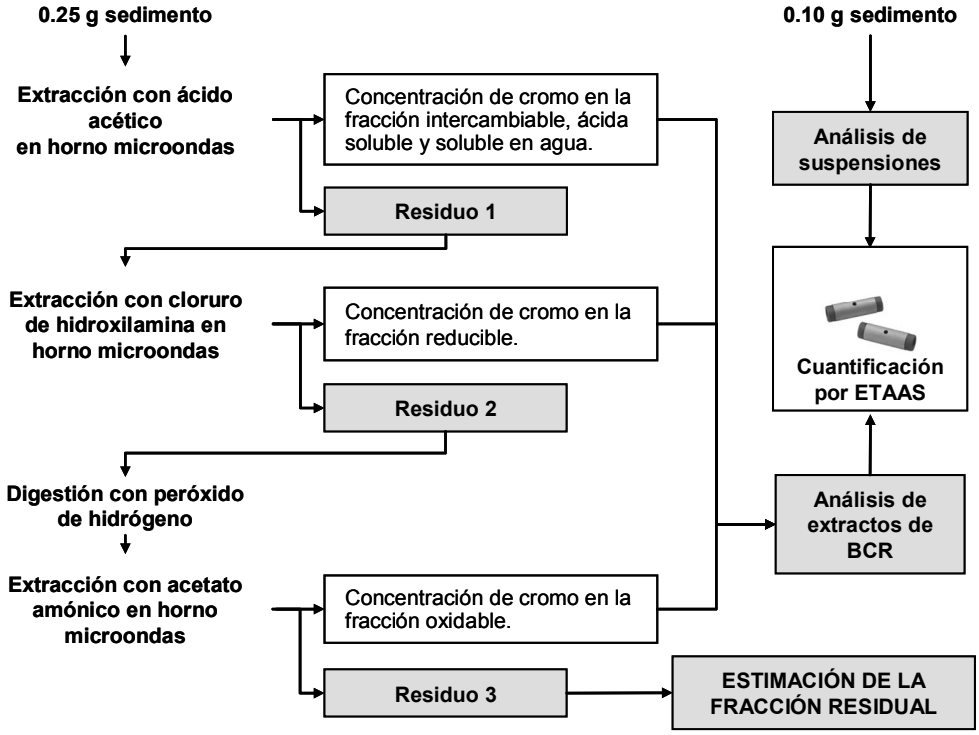

Figura 5- 1: Fracciones de cromo analizadas por ETAAS procedentes de las muestras de sedimentos marinos recolectados en la Ría de Arousa a partir de las cuales se ha estimado el contenido de la fracción residual final.

Nota 1: $r = [t - e1 - e2 - e3] \pm \sqrt{SD_t^2 + SD_{e1}^2 + SD_{e2}^2 + SD_{e3}^2}$ $(\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1})$

r: concentración de cromo en la fracción residual de sedimento, t: contenido total de cromo, e1: concentración de cromo en el primer extracto de BCR, e2: concentración de cromo en el segundo extracto, e3: concentración de cromo en el tercer extracto, y SD: desviación estándar de cada parámetro (t, e1, e2 y e3 respectivamente).

CONTENIDO RESIDUAL DE CROMO EN SEDIMENTOS DE LA RÍA DE AROUSA

La distribución de la concentración de cromo a lo largo del estuario se ha representado en mapas de contorno para cada uno de los muestreos y para cada una de las fracciones residuales calculadas en los siguientes apartados. Se ha aplicado el método de interpolación denominado 'kriging' de acuerdo con las recomendaciones para este tipo de aplicación medioambiental (Cressie, N. A. C. 1993), al igual que se hizo con los mapas calculados para el contenido total de cromo y las fracciones de BCR extraídas.

1. Fracción residual de los sedimentos del muestreo de invierno de 2002

En este apartado se encuentran en la Figura 5- 2 y la Tabla 5- 1 los resultados obtenidos para la fracción residual de cromo en los sedimentos marinos recolectados en Arousa durante la primera campaña.

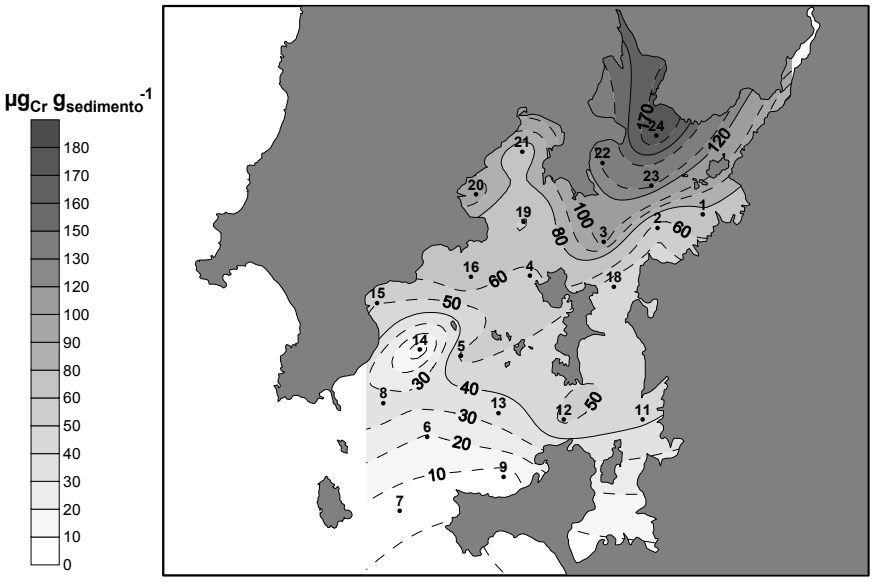

Figura 5- 2: Distribución de la fracción residual de cromo del muestreo de invierno de 2002.

Tabla 5- 1: Concentración de cromo de la fracción residual de los sedimentos marinos recolectados en el primer muestreo.

Muestreo 1: invierno de 2002		
estación	**Cr / µg g^{-1}**	**SD / µg g^{-1}**
1	77	14
2	49	5
3	103	7
4	56	5
5	53	6
6	19	2
8	35.9	1.5
9	4	3
11	42	4
12	53	3
13	35	6
14	1	4
15	50	3
16	71	3
18	41	5
19	57	4
20	96	11
21	70	4
22	132	16
23	132	6
24	181	2

En general, la cantidad de cromo encontrada en la fracción residual es la mayoritaria de todas las fracciones estudiadas de los sedimentos marinos de Arousa. La fracción que permanece en los sedimentos suele ser superior a la suma de fracciones extraídas de cromo. Por el contrario, en el caso de las estaciones 6 y 9 de este primer muestreo, la concentración de cromo en la fracción residual es inferior a la suma de las fracciones de BCR extraídas y analizadas por ETAAS (ver concentraciones en la Tabla 5- 1). En estos dos casos el extracto de mayor contenido en cromo ha sido el correspondiente a la fracción 'oxidable', asociada a capas orgánicas (ver Tabla 5- 2).

En la primera campaña se obtuvo el valor promedio de concentración metálica de esta fracción más bajo de los cuatro muestreos de sedimentos de Arousa (64.7 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). La diferencia entre la estación de mayor concentración y la de menor concentración no es la mínima de las cuatro campañas (180.8 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$), dado que el rango mínimo corresponde al tercer muestreo con 125.0 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$.

Tabla 5- 2: Contenido de cromo total y fraccionado en sedimentos marinos de las estaciones 6 y 9 durante la campaña de invierno de 2002 en la Ría de Arousa.

Estación 6	**Cr / $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$**
Fracción 'ácida soluble' de BCR	0.140 ± 0.015
Fracción 'reducible' de BCR	< 0.033
Fracción 'oxidable' de BCR	28.1 ± 0.7
Contenido total	47 ± 2
Fracción residual de BCR	19 ± 2
Estación 9	**Cr / $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$**
Fracción 'ácida soluble' de BCR	0.177 ± 0.008
Fracción 'reducible' de BCR	< 0.033
Fracción 'oxidable' de BCR	37 ± 3
Contenido total	41.5 ± 1.6
Fracción residual de BCR	4 ± 3

La fracción residual de la estación 24 es, como ocurría con el contenido total de cromo, la de mayor concentración de metal. Se sitúa entre los puntos de muestreo de mayor concentración, por el siguiente orden, las estaciones 24, 22, 23, 3 y 20. Este grupo de estaciones se han citado por orden decreciente de contenido metálico, desde 180.8 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ hasta 96.4 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ respectivamente para la primera y última estación citada.

El área de mayor contenido metálico se localiza en la zona interna de la ría, al igual que ocurría en las tres fracciones de BCR o como ocurría también en el contenido total de cromo de los sedimentos de esta campaña.

Las estaciones de menor nivel metálico han sido las siguientes: 8, 13, 6, 9 y 14, nombradas por orden decreciente de cromo, con concentraciones inferiores a 35.9 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Esta zona de menor concentración es la más próxima al Océano Atlántico, situada en las cercanías de la isla de Sálvora. Como se ha comentado en capítulos anteriores, no se incluye aquí la estación 7, dado que no se ha podido recolectar sedimento de esa zona.

Otro conjunto de estaciones es el siguiente: 1, 16, 21, 19, 4, 5, 12, 15, 2, 11 y 18. Los puntos de recolección se han nombrado por orden decreciente de concentración y se sitúan con valores de cromo entre 77.5 y 41.2 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Este grupo que presenta valores metálicos intermedios, se distribuye geográficamente disperso a lo largo de la ría, siendo la mayoría de las estaciones las de la zona central.

En general se sigue cumpliendo que la zona más externa de la ría, y más próxima al Océano Atlántico, es la de menor contenido metálico.

Los extractos de BCR y el contenido total de cromo determinados en los sedimentos de la estación 14 muestran valores de los que se obtiene un contenido residual con un coeficiente de variación muy elevado (ver las concentraciones de cromo de las distintas fracciones en la Tabla 5- 3). Este resultado es el de menor precisión que se ha obtenido a lo largo de los cuatro muestreos. Es, en definitiva, una estación con niveles de cromo en la fracción 'oxidable' relativamente alta respecto al resto de fracciones y con valores próximos al contenido total.

Tabla 5- 3: Contenido de cromo total y fraccionado en sedimentos marinos de la estación 14 durante la campaña de invierno de 2002 en la Ría de Arousa.

Estación 14	**Cr / $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$**
Fracción 'ácida soluble' de BCR	0.117 ± 0.012
Fracción 'reducible' de BCR	0.143 ± 0.002
Fracción 'oxidable' de BCR	54.7 ± 1.1
Contenido total	56 ± 4
Fracción residual de BCR	1 ± 4

Un incremento de cromo en las capas de óxidos, capas orgánicas o compuestos asociados a los sedimentos fácilmente intercambiables con la columna de agua no conllevaría necesariamente a un incremento en la fracción residual de los sedimentos marinos. Sin embargo esto no es lo que se observa. Se ha recogido en el capítulo 3 un aumento gradual y superior en la concentración de cromo total de los sedimentos de Arousa que en la concentración de cromo de las fracciones de BCR extraídas. Esto indica que todas las fracciones, incluida la residual, han crecido gradualmente. De nuevo todo apunta a que los sedimentos actúan como un sumidero de cromo.

2. Fracción residual de los sedimentos del muestreo de verano de 2002

En este apartado se encuentran en la Figura 5- 3 y en la Tabla 5- 4 los resultados obtenidos para la fracción residual de cromo en los sedimentos marinos recolectados en Arousa durante la segunda campaña.

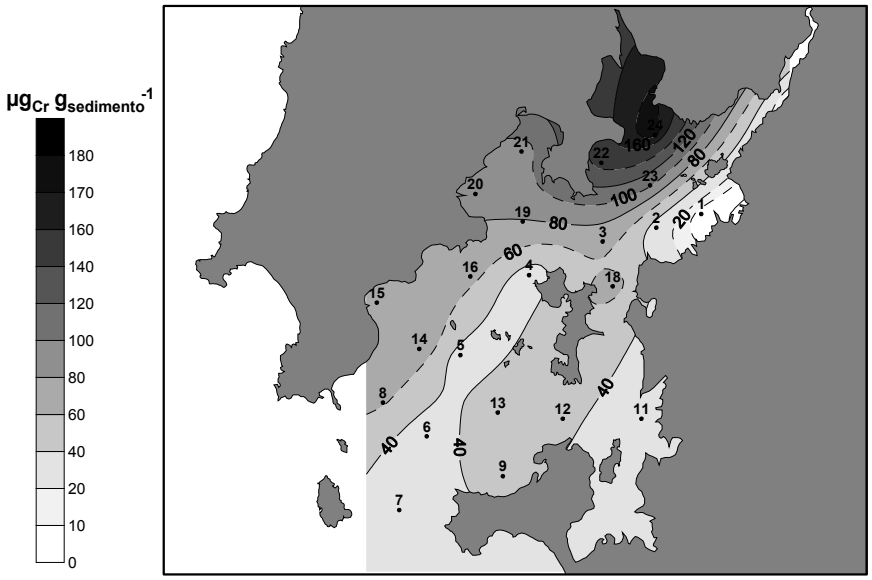

Figura 5- 3: Distribución de la fracción residual de cromo del muestreo de verano de 2002.

En la segunda campaña el valor promedio de concentración metálica de esta fracción apenas ha aumentado (65.8 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ en la segunda campaña frente a 64.7 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ en la primera). Sin embargo la diferencia entre la estación de mayor concentración y la de menor concentración ha disminuido ligeramente (170.0 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$).

La estación 24 es, como ocurría en la campaña anterior, la de mayor concentración de metal en la fracción residual. Se sitúa entre los puntos de muestreo de mayor concentración, por el siguiente orden, las estaciones 24, 22, 23, y 21 (ver Tabla 5- 4). Este grupo de estaciones se han citado por orden decreciente de contenido metálico, desde 173.5 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ hasta 90.9 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ respectivamente para la primera y última estación citada.

Tabla 5- 4: Concentración de cromo de la fracción residual de los sedimentos marinos recolectados en el segundo muestreo.

Muestreo 2: verano de 2002		
estación	**Cr / µg g^{-1}**	**SD / µg g^{-1}**
1	4	8
2	30	8
3	67	6
4	28	3
5	31	3
6	29	2
8	62	4
9	43.5	1.2
11	31.7	1.3
12	43	4
13	55	5
14	76	4
15	67	2
16	66	4
18	68	3
19	79	2
20	87	6
21	91	9
22	146	14
23	103	7
24	174	13

El área de mayor contenido metálico se localiza de nuevo en la zona interna de la ría.

Las estaciones de menor nivel metálico han sido las siguientes: 11, 5, 2, 6, 4 y 1, nombradas por orden decreciente de cromo, con concentraciones inferiores a 30.0 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$.

Se aprecia, salvo por la estación 11 que se sitúa en la orilla sur del estuario, que los menores niveles de cromo de la fracción residual se corresponden al eje central de la ría (estaciones 1-6). Si retrocedemos a examinar los mapas obtenidos en la fracción 'oxidable' y en el contenido total de cromo del segundo muestreo se observan dos comportamientos distintos. Por un lado se ha obtenido un menor crecimiento de cromo total en los sedimentos a lo largo del eje central de la ría (indicado con una flecha en la parte **A** de la Figura 5- 4). Por otro lado se observa un aumento de concentración en el cromo de la fracción 'oxidable' mayor sobre ese eje central respecto al resto del estuario (indicado con una flecha en la parte **B** de la Figura 5- 4).

Esta situación, que ha propiciado este eje de valores mínimos de cromo residual, únicamente se observa en esta campaña.

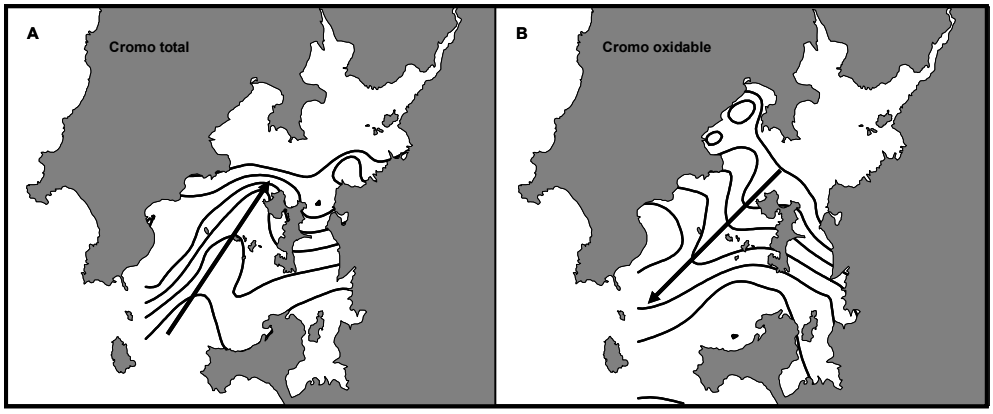

Figura 5- 4: Variación de la concentración de cromo total y cromo de la fracción 'oxidable' a lo largo del eje central de la Ría de Arousa durante el segundo muestreo.

Otro conjunto de estaciones son las siguientes: 20, 19, 14, 18, 3, 15, 16, 8, 13, 9 y 12. Se han nombrado por orden decreciente de concentración y se sitúan con valores de cromo entre 87.0 y 42.7 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Estos puntos de muestreo que presentan valores metálicos intermedios, se distribuyen geográficamente dispersos a lo largo de la ría. Se observa que algunas de las estaciones que suelen presentar niveles elevados de cromo en muchas de las fracciones, como la estación 3, en este caso presentan valores intermedios.

Los extractos de BCR y el contenido total de cromo determinados en los sedimentos de la estación 1 muestran valores de los que se obtiene un contenido residual con un coeficiente de variación muy elevado (ver las concentraciones de cromo de las distintas fracciones en la Tabla 5- 5). De nuevo nos encontramos con una estación con niveles de cromo en la fracción 'oxidable' relativamente alta respecto al resto de fracciones, y con valores próximos al contenido total.

En todos los mapas de contorno calculados para la fracción de cromo residual de los sedimentos de Arousa se ha representado con una línea continua los niveles de concentración que corresponden a 40, 80, 120, 160 y 200 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. El resto de niveles de concentración de cromo se han indicado con líneas discontinuas. Gráficamente se observa que de la primera a la segunda campaña las líneas de concentración se empiezan a desplazar en dirección al Océano Atlántico. Sólo se

observa un retroceso en la línea de concentración de 40.0 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ hasta la altura de la isla de Arousa. El comportamiento que ha presentado el cromo residual a lo largo del eje central es el responsable del retroceso de esta línea de concentración.

Tabla 5- 5: Contenido de cromo total y fraccionado en sedimentos marinos de la estación 1 durante la campaña de verano de 2002 en la Ría de Arousa.

Estación 1	**Cr / $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$**
Fracción 'ácida soluble' de BCR	0.31 ± 0.03
Fracción 'reducible' de BCR	0.82 ± 0.05
Fracción 'oxidable' de BCR	104 ± 2
Contenido total	108 ± 7
Fracción residual de BCR	4 ± 8

3. Fracción residual de los sedimentos del muestreo de invierno de 2003

En este apartado se encuentran en la Figura 5- 5 y en la Tabla 5- 6 los resultados obtenidos para la fracción residual de cromo en los sedimentos marinos recolectados en Arousa durante la tercera campaña.

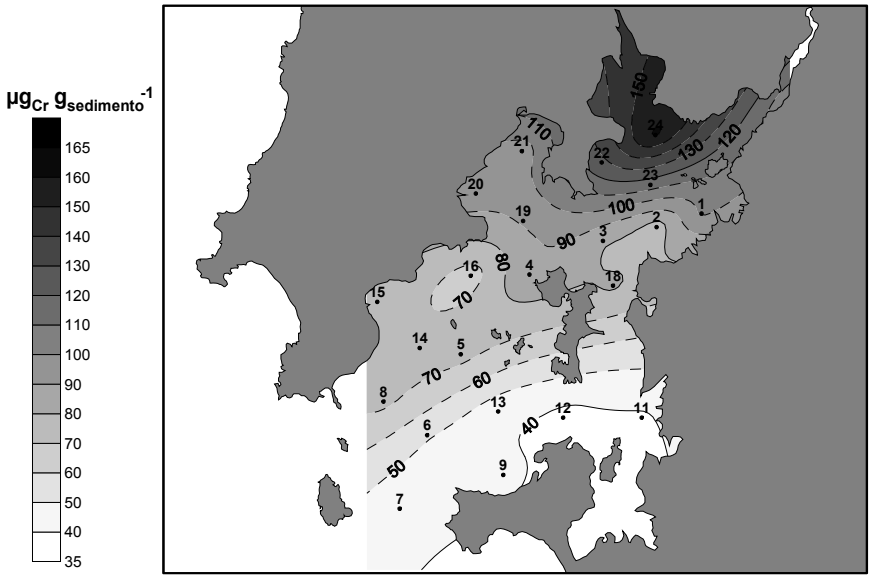

Figura 5- 5: Distribución de la fracción residual de cromo del muestreo de invierno de 2003.

En la tercera campaña el valor promedio de concentración metálica de la fracción residual ha seguido aumentando respecto a las anteriores campañas (78.5 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). Pero no ha aumentado la diferencia entre la estación de mayor concentración y la de menor concentración (125.0 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) respecto a los muestreos anteriores.

La estación 24 es, como ocurre en todas las campañas, la de mayor concentración de metal en la fracción residual. Se sitúa entre los puntos de muestreo de mayor concentración, por el siguiente orden, las estaciones 24, 22, 1, 20, 21 y 19. Este grupo de estaciones se han citado por orden decreciente de contenido metálico, desde 161.8 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ hasta 91.3 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ respectivamente para la primera y última estación citada.

El área de mayor contenido metálico se localiza de nuevo en la zona interna de la ría, centrada en las proximidades de Rianxo.

Tabla 5- 6: Concentración de cromo de la fracción residual de los sedimentos marinos recolectados en el tercer muestreo.

Muestreo 3: invierno de 2003		
estación	**Cr / µg g^{-1}**	**SD / µg g^{-1}**
1	102	14
2	74	3
3	81	3
4	89	6
5	73	4
6	51	3
8	73	5
9	43	2
11	39	3
12	37	8
13	43	4
14	72	4
15	76	2
16	64.7	1.9
18	82	10
19	91	4
20	96	4
21	94	4
22	127	15
23	-	-
24	162	20

Las estaciones de menor nivel metálico han sido las siguientes: 6, 9, 13, 11 y 12, nombradas por orden decreciente de cromo, con concentraciones inferiores a 47.9 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. De estos puntos de muestreo, las estaciones 6, 9 y 13 se sitúan en la zona más exterior de la ría, próximos a la península de O Grove, en la orilla sur del estuario. Las estaciones 11 y 12 se localizan en la orilla sur del estuario al sur de la isla de Arousa, siendo las estaciones más exteriores y próximas al Océano Atlántico. Salvo la estación 8, que ha presentado niveles de cromo residual intermedios, la zona exterior sigue siendo la de menor concentración de metal.

Otro conjunto de estaciones son las siguientes: 4, 18, 3, 15, 2, 5, 8, 14 y 16. Se han nombrado por orden decreciente de concentración y se sitúan con valores de cromo

entre 89.4 y 64.7 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ que presentan valores metálicos intermedios, se distribuyen geográficamente dispersos a lo largo de la ría. Esto es, las estaciones que suelen presentar niveles elevados de cromo en muchas de las fracciones, como la estación 3, en este caso presentan valores intermedios. La estación 2, a pesar de situarse en una zona interna de la ría, sigue siendo un punto que presenta niveles de cromo residual intermedio o bajo.

En la Figura 5- 5 se observa que la línea continua que representa una concentración residual de 40.0 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ se ha desplazado a la zona sur del estuario situándose próxima a la Península de O Grove. El resto de líneas de concentración también se han desplazado gradualmente hacia el Océano Atlántico. En este muestreo se observa un mayor desplazamiento de las líneas de mayor concentración de la fracción residual y una geometría de las líneas de concentración similar al primer muestreo.

4. Fracción residual de los sedimentos del muestreo de verano de 2003

En este apartado se encuentran en la Figura 5- 6 y en la Tabla 5- 7 los resultados obtenidos para la fracción residual de cromo en los sedimentos marinos recolectados en Arousa durante la cuarta campaña.

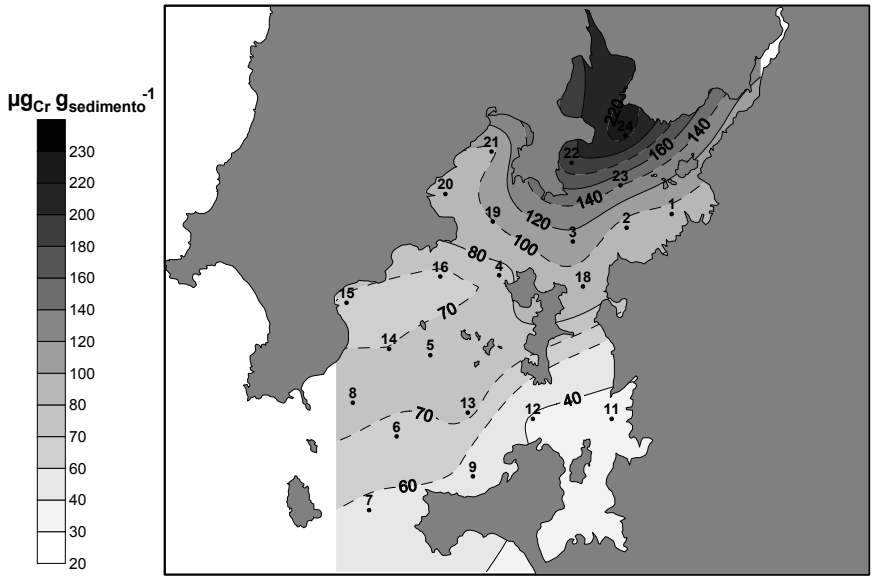

Figura 5- 6: Distribución de la fracción residual de cromo del muestreo de verano de 2003.

En la cuarta campaña el valor promedio de concentración metálica de la fracción residual es el que más ha aumentado (92.3 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$). También ha aumentado sensiblemente la diferencia entre la estación de mayor concentración y la de menor concentración (195.5 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$) respecto a los muestreos anteriores.

La estación 24 es, como ocurre en todas las campañas anteriores, la de mayor concentración de metal en la fracción residual. Se sitúa entre los puntos de muestreo de mayor concentración, por el siguiente orden, las estaciones 24, 22, 23, 3, 19, 18, 1, 21 y 20. Este grupo de estaciones se han citado por orden decreciente de contenido metálico, desde 226.8 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ hasta 93.2 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ respectivamente para la primera y última estación citada.

El área de mayor contenido metálico se localiza de nuevo en la zona interna de la ría, en las proximidades a Rianxo.

Tabla 5- 7: Concentración de cromo de la fracción residual de los sedimentos marinos recolectados en el cuarto muestreo.

Muestreo 4: verano de 2003		
estación	**Cr / µg g^{-1}**	**SD / µg g^{-1}**
1	95	15
2	88	8
3	115	5
4	71	3
5	79	4
6	62.1	1.2
8	78	3
9	58	5
11	31	2
12	36.6	0.6
13	73.3	1.4
14	70	4
15	68	3
16	67	3
18	97	8
19	99	5
20	93	4
21	94	5
22	195	29
23	140	13
24	227	48

Las estaciones de menor nivel metálico han sido las siguientes: 6, 9, 11 y 12, nombradas por orden decreciente de cromo, con concentraciones inferiores a 60.9 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. De estos puntos de muestreo, las estaciones 6 y 9 se sitúan en la zona más exterior de la ría, próximas a la península de O Grove, en la orilla sur del estuario. Las estaciones 11 y 12 se localizan en la orilla pontevedresa del estuario al sur de la isla de Arousa. De esta orilla son las estaciones más exteriores y próximas al Océano Atlántico. Salvo la estación 8, que ha presentado de nuevo niveles de cromo residual intermedios, la zona exterior sigue siendo la de menor concentración de metal.

Otro conjunto de estaciones son las siguientes: 2, 5, 8, 13, 4, 14, 15 y 16. Se han nombrado por orden decreciente de concentración y se sitúan con valores de cromo entre 87.7 y 67.5 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. Estos puntos se distribuyen geográficamente dispersos a lo largo de la ría.

En la Figura 5- 6 se observa que la línea continua que representa una concentración residual de 40.0 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$ se ha desplazado totalmente a la zona sur del estuario situándose a los alrededores de la Península de O Grove. El resto de líneas de concentración también se han desplazado gradualmente hacia el Océano Atlántico. Este muestreo es en donde se observa un mayor desplazamiento de las líneas de mayor concentración de la fracción residual. La geometría de las líneas de muestreo es muy similar a la de las líneas del primer y tercer muestreo.

CONCLUSIONES

El comportamiento de la fracción residual es un claro reflejo de la variación observada en la concentración de cromo de los extractos de BCR respecto a la variación del contenido total de metal en los sedimentos de Arousa. Los mapas de contorno muestran en general las diferencias observadas entre el contenido total y la fracción 'reducible', dado que las fracciones 'ácida soluble' y 'oxidable' son despreciables frente a las dos primeras.

Ha quedado claro en este capítulo que el cromo en la fracción residual presenta el mismo comportamiento general que el detectado en las fracciones extraídas de BCR y el contenido de cromo total. La fracción residual de cromo en los sedimentos es máxima en la zona interna del estuario y se diluye en dirección a la costa atlántica.

Con el tiempo la concentración de cromo aumenta en todas las fracciones de sedimento. La fracción residual es la menos biodisponible y el cromo en ella aumenta de forma más acusada que en el resto de fracciones ('ácida soluble', 'reducible' y 'oxidable'). El contenido y variación de cromo en la fracción residual de sedimentos muestra que los sedimentos son un sumidero metálico.

De todos los resultados obtenidos, los datos menos precisos de la fracción residual corresponden a los encontrados en las estaciones en donde la concentración de cromo en la fracción 'oxidable' es elevada y próxima al contenido total de metal en el sedimento analizado. Este es el caso de las estaciones 14 del primer muestreo y 1 del segundo muestreo.

En general el contenido de cromo en la fracción residual es superior a la suma de cromo en las fracciones de BCR extraídas. Son excepciones las estaciones 6 y 9 del primer muestreo en donde la fracción 'reducible' presenta niveles de cromo superiores a la fracción residual.

BIBLIOGRAFÍA

Cressie, N. A. C. **1993.** Statistics for spatial data. Wiley.

Skoog, D. A., D. M. West y F. J. Holler. 1996. Fundamentos de Química analítica. Reverté.

LISTADO DE TABLAS

Tabla 5- 1: Concentración de cromo de la fracción residual de los sedimentos marinos recolectados en el primer muestreo. 244

Tabla 5- 2: Contenido de cromo total y fraccionado en sedimentos marinos de las estaciones 6 y 9 durante la campaña de invierno de 2002 en la Ría de Arousa. 245

Tabla 5- 3: Contenido de cromo total y fraccionado en sedimentos marinos de la estación 14 durante la campaña de invierno de 2002 en la Ría de Arousa. 246

Tabla 5- 4: Concentración de cromo de la fracción residual de los sedimentos marinos recolectados en el segundo muestreo. 248

Tabla 5- 5: Contenido de cromo total y fraccionado en sedimentos marinos de la estación 1 durante la campaña de verano de 2002 en la Ría de Arousa. 250

Tabla 5- 6: Concentración de cromo de la fracción residual de los sedimentos marinos recolectados en el tercer muestreo. 252

Tabla 5- 7: Concentración de cromo de la fracción residual de los sedimentos marinos recolectados en el cuarto muestreo. 255

LISTADO DE FIGURAS

Figura 5- 1: Fracciones de cromo analizadas por ETAAS procedentes de las muestras de sedimentos marinos recolectados en la Ría de Arousa a partir de las cuales se ha estimado el contenido de la fracción residual final. 241

Figura 5- 2: Distribución de la fracción residual de cromo del muestreo de invierno de 2002. 243

Figura 5- 3: Distribución de la fracción residual de cromo del muestreo de verano de 2002. 247

Figura 5- 4: Variación de la concentración de cromo total y cromo de la fracción 'oxidable' a lo largo del eje central de la Ría de Arousa durante el segundo muestreo. 249

Figura 5- 5: Distribución de la fracción residual de cromo del muestreo de invierno de 2003. 251

Figura 5- 6: Distribución de la fracción residual de cromo del muestreo de verano de 2003. 254

CAPÍTULO 6

Extracción selectiva de Cr(VI) y especiación

INTRODUCCIÓN 265

1. Extracción alcalina 266
2. Separación de Cr(III) y Cr(VI)....266

PARTE EXPERIMENTAL 271

1. Instrumental, material y reactivos de laboratorio....271
1.1. Instrumental 271
1.2. Material 271
1.3. Reactivos 272
2. Recolección de muestras y pretratamiento....273
3. Procedimientos de extracción selectiva de cromo hexavalente....273
4. Procedimiento de separación de Cr(VI) y Cr(III) con alúmina 275
4.1. Optimizaciones 279
4.1.1. Flujo de bombeo 279
4.1.2. Optimizaciones en la elución de Cr(VI) y Cr(III)....280
4.1.3. Capacidad de adsorción de la columna de alúmina....282
4.1.4. Estudio de interferencias....283
4.1.5. Programa optimizado....285
5. Parámetros analíticos 286
5.1. Rango lineal. Rectas de calibrado y adición estándar 286
5.2. Sensibilidad del método 287
5.3. Precisión y exactitud 289
6. Análisis de muestras 291
7. Comportamiento de los sedimentos marinos ante especies de cromo....292
7.1. Composición elemental de los sedimentos de Arousa....293
7.2. Valores de potencial redox y pH de los sedimentos de Arousa....298

CONCLUSIONES 303

BIBLIOGRAFÍA 305

LISTADO DE TABLAS 309

LISTADO DE FIGURAS 311

INTRODUCCIÓN

La toxicidad y capacidad de absorción de muchos elementos traza en los organismos depende en gran medida de la forma química en la que se encuentren dichos elementos. La cuantificación de formas individuales de un analito se denomina comúnmente análisis de especiación o determinación de especies. Muchos autores consideran a este respecto que las especies se pueden distinguir por su estado de oxidación (especies redox), por su forma molecular (organometales), por su coordinación (complejos), por la fase en la que se encuentra el analito (disuelto, adsorbido, coloidal, en suspensión, etc.) o por su solubilidad en ciertos disolventes (intercambiable, soluble en ácido, etc.) (Das, A. K. y col. 1995; Ure, A. M. y Davidson, C. M. 2002; Ure, A. M. y col. 1993; Welz, B. y Sperling, M. R. 1999).

La IUPAC sin embargo considera especie química a la forma específica de un elemento definida por su composición isotópica, electrónica o estado de oxidación, y/o su estructura compleja o molecular. Separa así de especiación el concepto de fraccionamiento. Este último lo define como el proceso de clasificación de un analito o un grupo de analitos de una muestra concreta de acuerdo con sus propiedades físicas (ej. tamaño o solubilidad) o propiedades químicas (ej. enlace o reactividad) (Templeton, D. M. y col. 2000). Las extracciones simples y secuenciales pertenecen consecuentemente a este apartado aún cuando son comúnmente denominadas especiación.

Ure y Davidson en su capítulo introductorio afirman que no existe una definición de especiación aceptada de forma generalizada. La definición propuesta por la IUPAC es perfectamente válida para la especiación en muestras líquidas, pero excluye muchos de los estudios de especiación realizados en muestras sólidas. Muchos de estos estudios de especiación pertenecerían entonces, según esta organización, al campo de los procedimientos denominados de fraccionamiento o de extracción selectiva (Ure, A. M. y Davidson, C. M. 2002).

En este trabajo hemos denominado de forma genérica especiación de cromo al procedimiento experimental desarrollado. Se requiere una etapa de extracción selectiva inicial en las muestras sólidas estudiadas que se desarrolla y detalla en este

capítulo. A la extracción le sigue una segunda etapa de especiación que cumple estrictamente con la definición de la IUPAC.

1. Extracción alcalina

Existe un menor número de métodos analíticos capaces de identificar y cuantificar las especies de cromo en muestras sólidas que en líquidas. La identificación de una de las especies de cromo en muestras sólidas suele ser más compleja, lo que implica en muchos casos su extracción selectiva de la matriz con un extractante orgánico o inorgánico apropiado (Marqués, M. J. y col. 1998).

La extracción selectiva de una de las especies de cromo no es simple. Los trabajos se decantan por extraer la especie hexavalente dado que en los intentos de extracción de la especie trivalente en medio ácido existe riesgo de liberación de componentes de la matriz con reactividad redox. Los componentes reactivos de la matriz hacen que las especies de cromo lleguen a interconvertirse, como se ha detallado en el apartado de comportamiento químico y medioambiental de cromo y en el apartado dedicado a sedimentos.

Para extraer todos los compuestos químicos de Cr(VI) en muestras sólidas se pueden aplicar varios procedimientos de extracción alcalina. El cromo hexavalente se ha extraído en este tipo de muestras con hidróxido sódico, o también con Na_2CO_3/NaOH, tanto a temperatura ambiente como calentando (James, B. R. y col. 1995). La determinación de Cr(VI) en muestras medioambientales como suelos, sedimentos o residuos sólidos se ha realizado frecuentemente aplicando el método oficial USEPA SW-846 3060 (EPA 1996). El protocolo alcalino se ha evaluado positivamente para la cuantificación precisa de cromo hexavalente total (Vitale, R. J. y col. 1994) e incluso algunos autores han conseguido acelerar dicho proceso con energía de microondas (Morales Muñoz, S. y col. 2004) o energía de ultrasonidos (Luque García, J. L. y de Castro, M. D. L. 2002; Ndung'u, K. y col. 1999; Wang, J. y col. 1999).

El procedimiento convencional se ha aplicado en este trabajo y se comenta en detalle en la parte experimental.

2. Separación de Cr(III) y Cr(VI)

Dado que no todas las técnicas de espectroscopia atómica son selectivas para el análisis de especiación, se hacen necesarias dos etapas en el proceso: la separación

de las especies presentes en el extracto obtenido de la muestra sólida y la determinación de las mismas (Welz, B. y Sperling, M. R. 1999). Estas etapas son especialmente necesarias cuando la técnica de determinación es espectroscópica.

En general, las técnicas de separación se pueden clasificar en los siguientes grupos (Ure, A. M. y Davidson, C. M. 2002):

- Separación selectiva por tamaño: (i) tamizado y centrifugado; (ii) ultrafiltración, diálisis y filtración con gel.
- Separación por efecto de tamaño y carga: (i) electroforesis; (ii) columnas de intercambio iónico; (iii) resinas quelatantes; (iv) columnas adsorbentes; (v) extracción líquido-líquido.
- Métodos cromatográficos de separación: (i) cromatografía líquida de columna abierta; (ii) cromatografía líquida de alta resolución; (iii) cromatografía iónica; (iv) cromatografía de gases; (v) cromatografía de fluidos supercríticos; (vi) cromatografía de capa fina.
- Extracciones químicas selectivas simples y secuenciales.
- Métodos de especiación electroanalíticos: (i) potenciometría usando electrodos selectivos de iones; (ii) polarografía; (iii) voltametrías de redisolución anódica y catódica; (iv) valoraciones amperométricas y detectores electroquímicos.

Usando alguno de los métodos de separación mencionados, diversos tipos de muestras han sido sometidas a estudios en los que se han aplicado técnicas de especiación. Se encuentran revisiones de técnicas de especiación de cromo en muestras de agua naturales o muestras biológicas aplicadas a ETAAS (Das, A. K. y Chakraborty, R. 1997) o revisiones de técnicas híbridas y cromatográficas que recogen datos para la especiación de cromo en disoluciones acuosas (Collins, C. H. y col. 1997) o en aguas y suelos (Ellis, L. A. y Roberts, D. J. 1997). También es interesante el enfoque de la especiación de cromo realizada por Kotás, en donde se aborda la problemática de la interconversión de sus especies, el tipo de muestras medioambientales y las dificultades que acarrea su manipulación previa a las distintas técnicas online y offline para separación y cuantificación de Cr(III) y Cr(VI) (Kotás, J. y Stasicka, Z. 2000). La rápida reducción de Cr(VI) a Cr(III), combinada con la influencia de otras sustancias y procesos biológicos presentes también queda

constatada en los estudios medioambientales de especiación de cromo realizados en aguas recolectadas en río, estuario y costa (Comber, S. y Gardner, M. 2003).

La mayoría de los trabajos de especiación de cromo se han enfocado al estudio de muestras de aguas (Marques, M. J. y col. 2000). Menos numerosos son los estudios de especiación basados en muestras sólidas (Marqués, M. J. y col. 1998). Das, con muestras sólidas, se ha centrado mayoritariamente en la revisión de la especiación operacional y por tanto en el fraccionamiento de cromo en materiales industriales, suelos, sedimentos, muestras geológicas y lodos (Das, A. K. y col. 1995).

Es conocido el empleo de adsorbentes sólidos para sistemas de inyección en flujo como procedimiento de preconcentración previa a la especiación de cromo. Óxidos metálicos como ZrO_2, TiO_2, MgO, CeO_2 o Al_2O_3 han sido empleados como adsorbentes selectivos de Cr(III) y Cr(VI), actuando también como dispositivos de preconcentración de disoluciones acuosas (Vassileva, E. y col. 2000).

De entre los óxidos adsorbentes mencionados destaca el Al_2O_3 por su capacidad de retención de ambas especies de cromo. El uso de columnas de alúmina activada ácida o neutra se describe en la determinación de Cr(III) y Cr(VI) tanto en disoluciones acuosas como en muestras de aguas naturales (Kumar, S. J. y col. 1999; Manzoori, J. L. y col. 1995; Pannain, M. C. y Santelli, R. E. 1995). Las especies se consiguen eluir con disolución amoniacal (cromo hexavalente) y con ácido nítrico (cromo trivalente) (Ahmad, S. y col. 1990; Marqués, M. J. y col. 2001; Sahayam, A. C. 2002; Sperling, M. y col. 1992). Con muestras sólidas, la especiación se basa en extracciones suaves antes de la separación de las distintas especies de cromo. En este caso la especiación investigada se fundamenta en la separación de las especies de cromo con óxido de aluminio activado tras un tratamiento ácido. La alúmina adsorbe la especie hexavalente a pH 2-7 mientras que la especie trivalente no se retiene (Prokisch, J. y col. 1997; Prokisch, J. y col. 1995).

Muchos de los métodos mencionados están basados en una especiación simple y económica de cromo por medio de alúmina dada su gran afinidad por Cr(III) y Cr(VI). Pero la mayoría de los estudios se han realizado con muestras de agua y han requerido cambios de pH para preconcentrar y separar cada una de las especies de cromo. Por ello la determinación no es simultánea.

Uno de los objetivos de este capítulo ha sido la especiación de cromo en extractos de muestras sólidas, extrayendo previamente la especie hexavalente. No se han

encontrado publicaciones previas describiendo el uso de alúmina para la especiación de cromo en extractos de muestras sólidas en los que se retengan las especies de Cr(VI) y Cr(III) de forma simultánea en la columna de alúmina para una misma inyección de muestra.

El procedimiento de preconcentración simultáneo llevado a cabo, las optimizaciones y los resultados se recogen en los apartados experimentales de este capítulo.

La especiación de cromo se ha aplicado a muestras de sedimento y cemento.

El interés por las muestras de cemento es debido al riesgo que suponen para la salud y los estudios internacionales realizados al respecto. La Comisión Europea recomienda que los cementos no se puedan encontrar en supermercados o se usen como sustancias o constituyentes para actividades de preparación manuales que impliquen el contacto directo con la piel y especialmente cuando contiene más de 2 μg g^{-1} (0.0002%) de Cr(VI) soluble (SCTEE 2002).

Otras de las muestras investigadas han sido sedimentos marinos en donde la especiación se aplica para establecer una toxicidad y sus correspondientes consecuencias medioambientales. Los sedimentos son indicadores útiles en la monitorización de la contaminación de metales pesados. Estos metales, como se ha indicado ya en el apartado de sedimentos, suelen presentarse en mayores niveles en los sedimentos que en la columna de agua si se estudia de forma comparativa una misma zona de muestreo.

PARTE EXPERIMENTAL

1. Instrumental, material y reactivos de laboratorio

1.1. Instrumental

En el laboratorio de preparativa y análisis se ha empleado el instrumental común mencionado en el capítulo 3.

En este capítulo, el instrumental empleado durante la preparación de las muestras incluye una centrífuga (Centromix Selecta modelo 540, Abrera, España) para separación de extractos, un agitador automático de brazo lateral Vibromatic (Selecta, Barcelona, España) para extracciones acuosas, un agitador magnético Agimatic (Selecta, Barcelona, España) para extracciones alcalinas, tubos y conectores Gilson y Perkin Elmer, y columnas de politetrafluoroetileno (PTFE) de 5 cm de longitud y 3 mm de diámetro interno para empaquetar alúmina.

Los componentes individuales del dispositivo de especiación y detección empleados en este capítulo son una válvula estándar de 6 posiciones / 6 puertos (Rheodyne modelo 7060RV, Bensheim, Alemania), una bomba peristáltica (Gilson modelo Minipuls 3, Villiers le Bel, Francia) y un espectrómetro de absorción atómica de llama (Perkin Elmer modelo 3110, Norwalk Connecticut, USA) equipado con una lámpara de cátodo hueco de cromo (Cathodeon, Cambridge, Reino Unido) operando a 12 mA, un ancho de banda de 0.7 nm y una longitud de onda de 357.9 nm.

Las medidas de pH y potencial redox han sido monitorizadas con un pH-metro (Thermo Orion, modelo 720; Beberly, USA) al que se ha acoplado un electrodo combinado de vidrio para medidas de pH (Thermo Orion, modelo 8102BN) y un electrodo de medida de potencial redox (ORP) (Mettler Toledo modelo Inlab 501, Greifensee, Suiza).

1.2. Material

El material empleado para manipulación y almacenamiento de muestras y reactivos se describe genéricamente en el capítulo 3. Adicionalmente se han usado tubos de centrífuga de cierre hermético de polietileno (40 ml) para separación de extractos,

barras magnéticas de teflón para las extracciones alcalinas y termómetros para el control de temperatura.

Todo el material empleado durante los muestreos y utilizado en los laboratorios de química preparativa e instrumental ha sido sometido a un procedimiento de limpieza, descrito en el apartado de material del capítulo 3.

1.3. Reactivos

Acetileno C_2H_2. (Air Liquid, Madrid, España).

Ácido clorhídrico 35% TMA (Panreac, Barcelona, España). Se ha usado una disolución 0.1 mol l^{-1} para el lavado del electrodo ORP.

Ácido nítrico suprapur (69.0-70.5%), BDH, Chemicals LTD, Poole, Reino Unido.

Ácido sulfúrico 95-98% (J.T. Baker B.V., Deventer, Holanda).

Carbonato sódico anhidro extrapuro (Scharlau, Barcelona, España).

Cloruro de calcio dihidratado, cristal extrapuro (Merck, Darmstadt, Alemania).

Cromato potásico PRS (Panreac, Barcelona, España).

Disolución amoniacal 25% PA (Panreac, Barcelona, España).

Disolución patrón de nitrato de cromo, disolución stock de 1 mg ml^{-1}. BDH, Poole, Reino Unido. Todos los patrones acuosos fueron preparados inmediatamente antes de su uso con agua ultrapura Milli-Q®.

Hidróxido sódico en lentejas PA (Panreac, Barcelona, España).

Óxido de aluminio de actividad neutra 90 (grado de actividad I) para uso en columnas cromatográficas (Merck, Darmstadt, Alemania).

Peróxido de hidrogeno 33% (p/v) (110 volúmenes) (Panreac, Barcelona, España).

Todas las disoluciones empleadas han sido preparadas con agua ultrapura Milli-Q® de 18.2 MΩ cm de resistividad específica obtenida con un sistema purificador Milli-Q® (Millipore).

2. Recolección de muestras y pretratamiento

Se han empleado dos tipos de muestras medioambientales/industriales en los procedimientos de extracción y especiación:

a) Sedimentos marinos procedentes de la Ría de Arousa, con indicios de contaminación metálica de cromo. Las muestras de sedimento han sido recolectadas de la capa superficial. Los detalles se recogen en el capítulo 3 (apartado 2: muestreo, almacenamiento y pretratamiento de sedimentos). Como se ha comentado en los capítulos anteriores, el tamaño de partícula de sedimento es crucial en la normalización de los análisis de cromo efectuados. Para el estudio del contenido de cromo, y su especiación, se ha usado la fracción de sedimento (Ure, A. M. y Davidson, C. M. 2002) < 63 µm pretendiendo así minimizar la variable tamaño de partícula en este estudio.

b) Las muestras de cemento analizadas en este capítulo han sido recolectadas en cuatro puntos de la línea de producción de una cementera y se han almacenado herméticamente en botes de polietileno a temperatura ambiente. El tamaño de partícula pertenece al mismo rango que los sedimentos marinos (< 63 µm).

3. Procedimientos de extracción selectiva de cromo hexavalente

Como se ha justificado en la introducción de este capítulo, se ha seleccionado, entre los procedimientos examinados, un protocolo de extracción alcalina (Método 3060, USEPA SW-846) (EPA 2000), además de un protocolo de extracción acuosa complementario (Método TRGS 613) (Larsen, S. B. 1991) para determinar las especies de cromo hexavalente presentes en las muestras sólidas mencionadas en el apartado anterior.

Con la aplicación del método 3060 SW-846 se separan de la matriz sólida y se disuelven en el extractante todas las especies de cromo hexavalente. La disolución empleada es una combinación de hidróxido sódico y carbonato sódico (0.28 mol l^{-1} Na_2CO_3/ 0.5 mol l^{-1} NaOH). Los extractos obtenidos con esta disolución alcalina presentan un pH > 12, y de este modo evitan la solubilidad de las especies de cromo trivalente. El protocolo aplicado para la extracción de cromo hexavalente

total ha sido evaluado positivamente para una cuantificación exacta (Vitale, R. J. y col. 1994).

El estudio de cromo hexavalente soluble en agua procedente de muestras de cemento obedece al procedimiento descrito en el Método TRGS 613. Este método implica una etapa de agitación de la muestra con agua Milli-Q®.

La descripción operacional de ambas extracciones se recoge detalladamente en la Tabla 6- 1.

Tabla 6- 1: Condiciones aplicadas en las extracciones de cromo hexavalente total y cromo hexavalente soluble en agua.

Ítem	Extracción alcalina de Cr(VI) total	Extracción de Cr(VI) soluble en agua
Masa de muestra / g	2	1
Disolución extractante	0.28 mol l^{-1} Na_2CO_3 / 0.5 mol l^{-1}NaOH	Agua Milli-Q®
Volumen de disolución extractante / ml	20	6
Temperatura de extracción / ºC	90-95	Ambiente
Duración de la extracción / min	60	15
Condiciones de extracción	Agitación magnética	Agitación mecánica

Al finalizar cada extracción, el residuo sólido de las muestras se ha separado de la fase acuosa por decantación del sobrenadante una vez se ha centrifugado el conjunto durante 10 minutos a 3000 rpm. En los extractos obtenidos se ha evaluado si la especie de cromo trivalente también se liberaba de la muestra sólida.

Una vez separado el extracto alcalino se ha diluido la concentración salina 50 veces con agua Milli-Q® al mismo tiempo que se ha ajustado el pH a 7.5 ± 0.5 con ácido sulfúrico 3 mol l^{-1}. La dilución de la concentración salina se discutirá en apartados posteriores. Los valores de pH se corresponden con los óptimos para la especiación de la columna de alúmina tal que el cromo trivalente y hexavalente se retenga en ella simultáneamente (pH entre 7 y 8). Con otros valores de pH no ha sido posible la retención simultánea de las especies de cromo con su elución posterior de forma reproducible.

Los extractos acuosos han sido dopados con una alícuota de extractante alcalino (Na_2CO_3/NaOH) para modificar su composición salina y pH. El volumen de disolución salina ha sido el suficiente para trabajar con la misma concentración de sales que en el caso del extracto alcalino de cada dilución estudiada (SW 846) y el mismo pH de

trabajo (7.5 ± 0.5) ajustando con H_2SO_4. Los detalles operacionales se recogen en la Figura 6- 1.

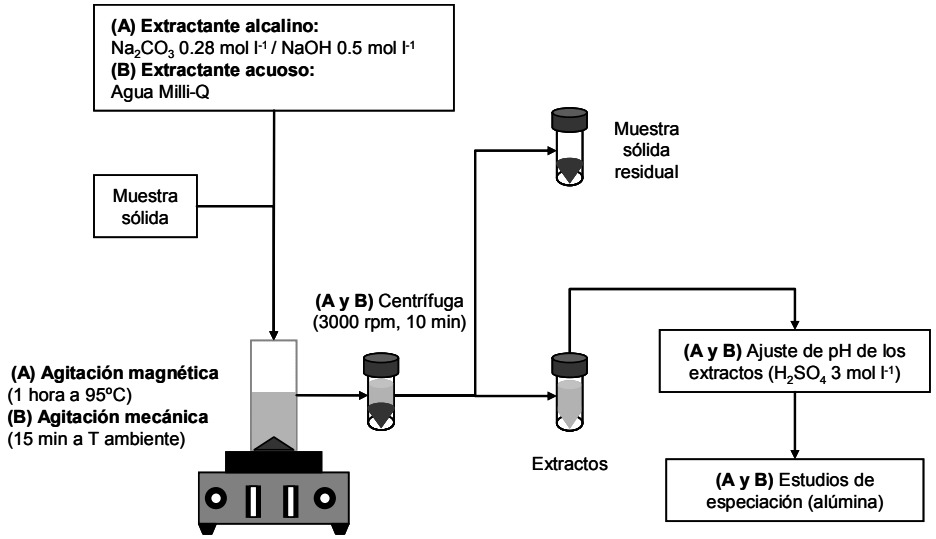

Figura 6- 1: Esquemas de extracción de cromo hexavalente empleados en los que (A) se corresponde con los pasos de la extracción alcalina y (B) con los pasos de la extracción acuosa.

4. Procedimiento de separación de Cr(VI) y Cr(III) con alúmina

El sistema de especiación y preconcentración aplicado se vale de una columna de alúmina activada con ácido. Su preparación, igual que en otros trabajos publicados de preconcentración de cromo (Ebdon, L. y col. 1997), ha consistido en mezclar 2 g de Al_2O_3 con 3-5 ml de ácido nítrico 6 mol l^{-1}, llevándolos a ebullición durante 5 minutos, y lavando con agua Milli-Q® la alúmina activada para eliminar restos de ácido. El procedimiento de lavado ha sido útil para facilitar el trasvase y el empaquetamiento de Al_2O_3 a la columna de politetrafluoroetileno (PTFE).

La masa de alúmina que contiene la columna es de 0.5 g. Las disoluciones estándar y las muestras extraídas han sido introducidas en el sistema a través de una válvula de seis puertos (ver Figura 6- 2), conducidas a la columna por medio de una bomba peristáltica y tras la separación de las especies en la columna de intercambio, analizadas en una llama de aire-acetileno con características reductoras (llama anaranjada rica en acetileno).

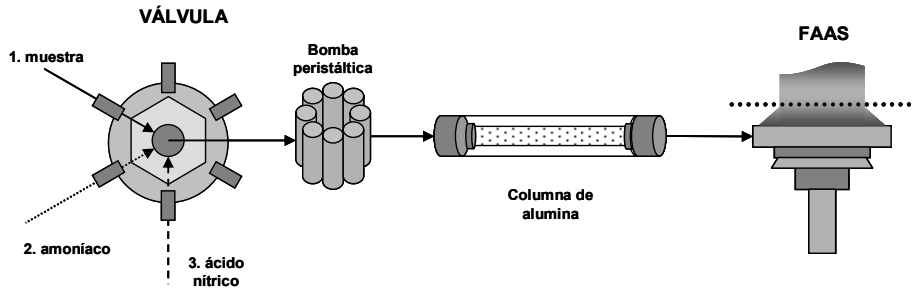

Figura 6- 2: Dispositivo de especiación de cromo hexavalente y trivalente.

En primer lugar la muestra o las disoluciones estándar son bombeadas a través de la columna (paso 1) para la preconcentración de las especies de cromo. Una vez finalizada esta etapa, se procede a la elución del cromo hexavalente bombeando a través de la columna una disolución amoniacal (paso 2), seguida del bombeo de una disolución de ácido nítrico (paso 3) para la liberación del cromo trivalente y limpieza de la columna. Una vez limpia, la columna está preparada para una próxima inyección de muestras o patrones (ver detalles en la Figura 6- 2).

Se han usado patrones de cromo de las especies individuales en los experimentos iniciales. Es decir, se ha trabajado con una disolución patrón de $Cr(NO_3)_3$ y una disolución preparada a partir de la sal de K_2CrO_4. Los resultados indicaron que cuando se inyectaba cromo trivalente individualmente, éste no se liberaba con disoluciones de amoníaco pero sí lo hacía en la etapa final de elución/limpieza con ácido nítrico. Al inyectar únicamente cromo hexavalente, esta especie sí se liberaba totalmente con el amoníaco y no existía señal residual durante la etapa de lavado con nítrico y elución de la especie trivalente. El bombeo de una disolución con ambas especies de cromo era efectivo y se obtenían picos de cromo hexavalente al eluir con amoníaco, y cromo trivalente al eluir y limpiar con ácido nítrico.

La concentración de sales alcalinas (Na_2CO_3/NaOH) ha sido clave en la operatividad de la columna de alúmina. Para evaluar las condiciones de trabajo en la especiación se han realizado dos estudios paralelos:

a) Na_2CO_3 0.28 mol l^{-1}/ NaOH 0.5 mol l^{-1} (matriz procedente del extractante alcalino).

b) Disoluciones sintéticas con distintas concentraciones de sodio, preparadas a partir de NaCl.

La disolución del apartado a) ha sido el resultado de la dilución del extractante alcalino y su ajuste de pH a valores de 7.5 ± 0.5. Dicho ajuste de pH se ha llevado a cabo con ácido sulfúrico 6 mol l^{-1} para asegurar una relativa estabilidad de ambas especies de cromo. El extracto alcalino ha sido diluido con agua Milli-Q® 25, 50 y 100 veces, y dopado con 100 µg l^{-1} de Cr(III) y 100 µg l^{-1} de Cr(VI) para su inyección en el sistema online descrito en la Figura 6- 2.

Las disoluciones sintéticas conteniendo diferentes concentraciones de sodio del apartado b) han sido preparadas con NaCl. Cada disolución salina corresponde con la concentración de sodio equivalente a cada una de las diluciones del extractante alcalino previamente estudiado en a) (ver concentraciones en la Tabla 6- 2).

Tabla 6- 2: Disoluciones preparadas a partir de NaCl para obtener las mismas diluciones realizadas anteriormente con el extractante alcalino.

Factor de dilución del extractante alcalino	$[Na^+]$ / mol l^{-1}	$[Na^+]$ / g l^{-1}
25	0.042	0.97
50	0.021	0.49
100	0.011	0.24

De este modo, la retención y elución de las especies de cromo en la columna de alúmina se ha estudiado en función del efecto iónico (modificación de la concentración de sodio).

Los resultados, estudiando la variación del pico de absorción integrado, de ambas especies en disoluciones de cloruro sódico y disoluciones de extractante alcalino diluido se recogen en la Figura 6- 3 y en la Figura 6- 4.

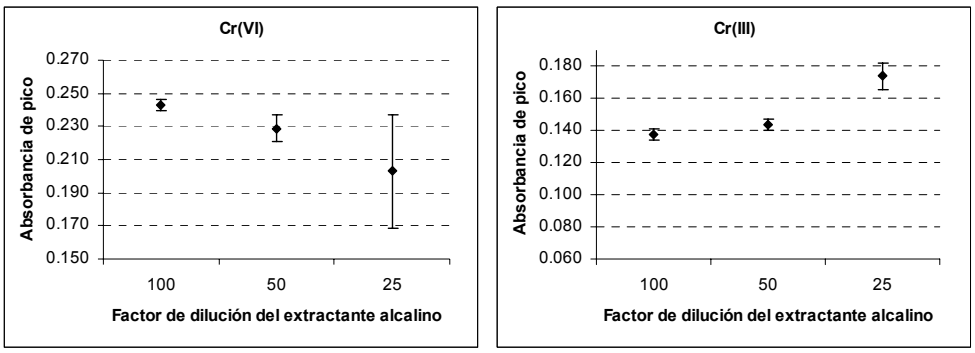

Figura 6- 3: Estudio del efecto de Na_2CO_3 0.28 mol l^{-1}/NaOH 0.5 mol l^{-1} en la columna de alúmina a través del pico de absorbancia de las especies de cromo al variar el factor de dilución del extractante.

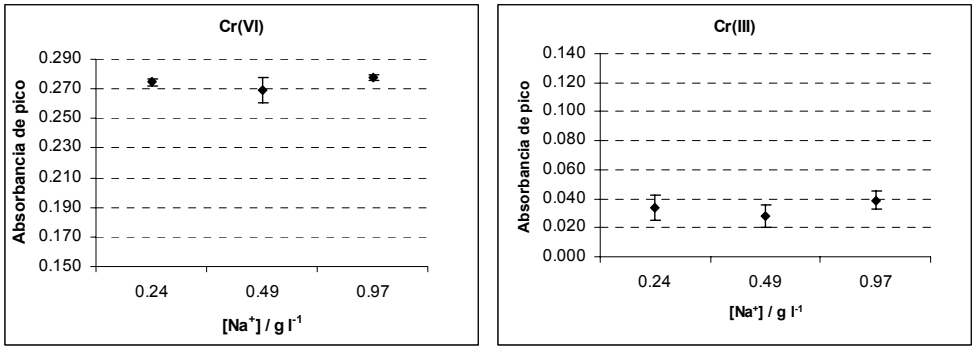

Figura 6- 4: Estudio del efecto de NaCl en la columna de alúmina a través del pico de absorbancia de las especies de cromo al variar la concentración sódica.

Las distintas concentraciones de sodio han sido preparadas con NaCl, ajustando el pH a 7.5 ± 0.5 con la misma disolución de amoníaco que se emplea en la elución de los picos de cromo hexavalente. En este caso el ajuste de pH ha sido con amoníaco y no con sulfúrico como en el caso de la acidificación del extractante alcalino, dadas las características y pH de partida de la disolución de cloruro sódico a estudiar.

La ausencia de sulfatos en las disoluciones de cloruro sódico, bombeadas a través de la columna, no hace posible la preconcentración total de las especies de cromo trivalente. Durante el tiempo de bombeo y preconcentración (paso 1) de este tipo de disoluciones salinas (NaCl) se ha registrado señal de cromo.

Los resultados han demostrado que el sodio es insuficiente para el trabajo del dispositivo de especiación. La columna necesita carga catiónica y aniónica que interacciona con la columna y facilita la retención y elución selectiva de las especies de cromo trivalente y hexavalente.

En la Figura 6- 3 los resultados muestran que con una dilución del extractante alcalino de 25 veces, los picos de absorbancia de Cr(VI) son menores (correspondientes con la mayor concentración de sulfato añadida) y los de Cr(III) son los valores máximos obtenidos. Aún cuando la dilución 100 del extractante alcalino es la que presenta los máximos valores de absorbancia de pico de cromo hexavalente, muestra también los menores para cromo trivalente. Las inyecciones con retenciones y eluciones más reproducibles (ver desviación estándar en la Figura 6- 3) y de forma reversibles son para ambas especies aplicando una dilución 50 al extractante alcalino (Na_2CO_3 0.28 mol l^{-1} / NaOH 0.5 mol l^{-1}). Esta dilución ha sido aplicada en los apartados posteriores de optimización y medidas de muestras.

4.1. Optimizaciones

4.1.1. Flujo de bombeo

El perfil de los picos de cromo hexavalente y trivalente registrados depende directamente del flujo de bombeo introducido en la llama de aire-acetileno y del flujo de aspiración del sistema de nebulización de la llama. El acoplamiento de la columna de alúmina con la llama (FAAS) se ha logrado con una conexión simple y no hermética del tubo de aspiración del nebulizador con el tubo de salida de la columna. Dado que el flujo de bombeo de la columna es inferior al de aspiración de la llama, se consigue una compensación de flujos con entrada de aire en la conexión de ambos tubos (de columna y de nebulizador).

La velocidad de flujo de salida de la columna (ml min^{-1}) ha sido estudiada en función de la velocidad de bombeo (rpm) y se ha obtenido un rango lineal de trabajo hasta 40 rpm sin fugas en la columna de alúmina (Velocidad de flujo = 0.0516 × rpm + 0.0340; r^2=0.9996). El máximo flujo posible ha sido de 2 ml min^{-1}, proporcionando los mejores perfiles en los picos de absorbancia de cromo. Un flujo superior a 40 rpm (2 ml min^{-1}), el último punto del rango lineal, genera fugas de las disoluciones bombeadas en los extremos de la columna. Los cambios en el tiempo de elución y el perfil de los picos de absorbancia se muestran en la Figura 6- 5.

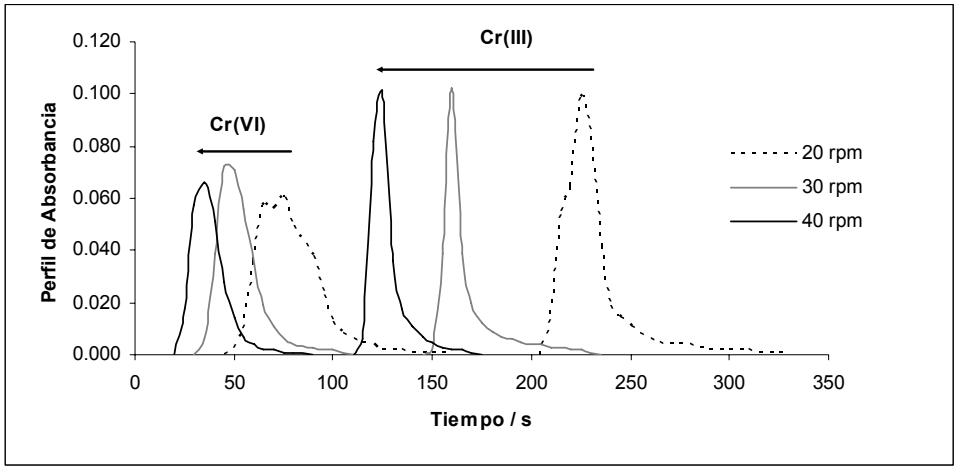

Figura 6- 5: Cambio en el perfil y tiempo de elución de los picos de cromo hexavalente y trivalente al variar el flujo de bombeo a través de la columna de alúmina.

4.1.2. Optimizaciones en la elución de Cr(VI) y Cr(III)

Están comentadas las propiedades anfotéricas mencionadas de la alúmina en los apartados introductorios de este capítulo y la interacción de Al_2O_3 con metales ampliamente aplicada a trabajos de adsorción. Algunos de los trabajos emplean disoluciones de amoníaco y ácido nítrico para la preconcentración de cromo pero sin la especiación simultánea de cromo hexavalente y trivalente. En muchos de los trabajos publicados el pH ha sido crítico en la preconcentración de una de las especies de cromo.

La especiación en muestras de agua empleando una columna de alúmina se ha enfocado en diversas publicaciones (Kumar, S. J. y col. 1999; Marqués, M. J. y col. 2001; Sahayam, A. C. 2002) hacia la retención de cromo hexavalente, que era eluído con una disolución de amoníaco a un pH específico. Sperling eluye la especie hexavalente con amoníaco y la trivalente con ácido nítrico (Sperling, M. y col. 1992) pero en inyecciones de muestra independientes y trabajando a un pH diferente para cada especie. Es posible así retener y cuantificar cada una de las especies por separado y cuantificarla tras su liberación.

La matriz alcalina empleada en este capítulo ha cambiado el mecanismo de adsorción de la alúmina. En nuestro caso no es necesario cambios de pH si la concentración salina del extracto alcalino bombeado a través de la columna de alúmina se mantiene constante. Tanto el cromo hexavalente como el trivalente se retienen y preconcentran simultáneamente en una misma inyección de muestra. El orden de elución es el siguiente: primero eluye el cromo hexavalente con amoníaco, y finalmente eluye el cromo trivalente con ácido nítrico. El ácido sirve simultáneamente para limpiar el sistema.

Las concentraciones iniciales de eluyentes empleadas durante las optimizaciones de este apartado han sido de NH_3 1.5 mol l^{-1} y HNO_3 1 mol l^{-1}.

El primero de los eluyentes estudiados ha sido el amoníaco. Los resultados de la optimización univariante de la concentración de amoníaco para la liberación de las especies de cromo hexavalente se muestra en la Figura 6- 6.

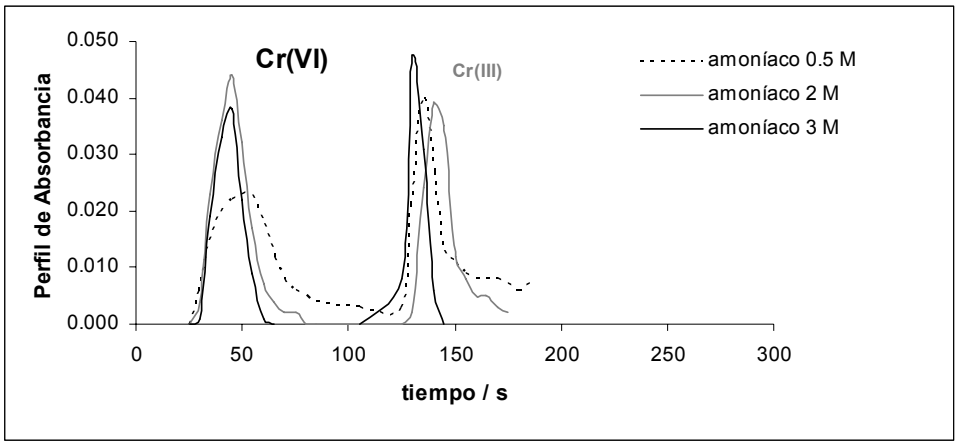

Figura 6- 6: Optimización de la concentración de amoníaco para la elución de cromo hexavalente.

Con amoníaco 0.5 mol l^{-1}, los picos son anchos y el tiempo de elución mayor. A concentraciones superiores (2 y 3 mol l^{-1}) se obtienen picos más estrechos y la liberación total de Cr(VI) es más rápida. Se ha seleccionado una concentración de amoníaco 2.0 mol l^{-1} (30-45 segundos de elución a 2 ml min^{-1}) para evitar la degradación de la columna motivada por cambios elevados de pH.

Una vez fijada una concentración de amoníaco 2 mol l^{-1} para la elución de cromo hexavalente se ha procedido a estudiar las concentraciones de ácido nítrico para la elución de cromo trivalente.

Las especies trivalentes mostraron los mejores perfiles de pico a las concentraciones de ácido nítrico más elevadas. Igual que en el caso del amoníaco, se ha seleccionado la menor concentración de ácido que permitía obtener unos perfiles de pico lo suficientemente estrechos durante la elución. En la Figura 6- 7 puede apreciarse que a una concentración de ácido nítrico de 1.5 mol l^{-1} (30-60 segundos de elución a 2 ml min^{-1}) los resultados son satisfactorios.

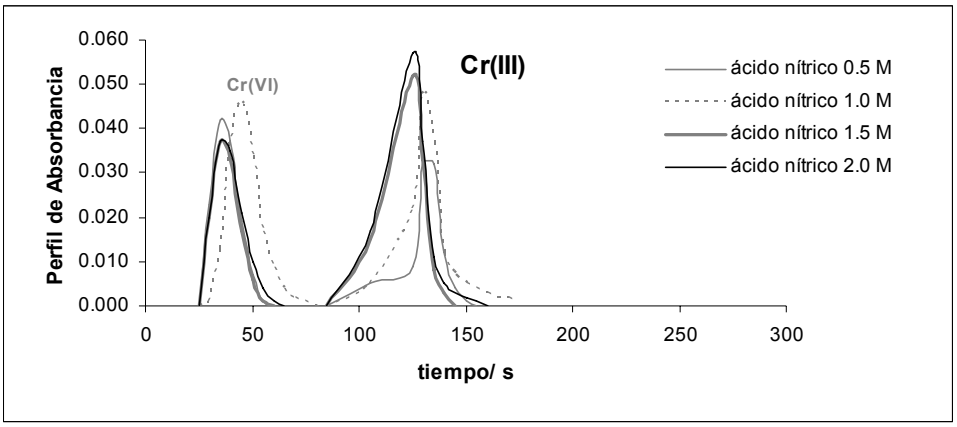

Figura 6- 7: Optimización de la concentración de ácido nítrico para la elución de cromo trivalente.

4.1.3. Capacidad de adsorción de la columna de alúmina

La columna de politetrafluroetileno (5 cm de longitud, 3 mm de diámetro interno) contiene 0.5 g de Al_2O_3. La capacidad máxima de adsorción de la columna se ha estudiado bombeando una disolución de 100 µg l^{-1} de Cr(III)/ 100 µg l^{-1} de Cr(VI), con la matriz de sales descrita en apartados anteriores durante distintos períodos de tiempo. La variación de la absorbancia de pico obtenida se recoge en la Figura 6- 8 y muestra que el valor máximo de Cr(VI) que puede retenerse en la columna de Al_2O_3 es de 1.6 µg $g_{alúmina}^{-1}$. La relación lineal obtenida para la especie hexavalente hasta ese punto ha sido de:

$$Area_{pico}\ [Cr(VI)] = 0.1227 \times C + 0.0118; \qquad r^2 = 0.9991$$

En la ecuación anterior C representa los µg de Cr(VI) por g de Al_2O_3, y r^2 el cuadrado del coeficiente de correlación obtenido. El área de pico representa el valor integrado de absorbancia registrado en el dispositivo FAAS acoplado a la columna de alúmina desde el inicio hasta el fin de la liberación de Cr(VI).

En el caso del cromo trivalente, la respuesta lineal se obtiene con concentraciones superiores a 6 µg de Cr(III) por cada gramo de Al_2O_3 . La relación lineal obtenida para la especie trivalente ha sido la siguiente:

$$Area_{pico}\ [Cr(III)] = 0.0964 \times C - 0.0005; \qquad r^2 = 0.9958$$

En la ecuación anterior C representa los µg de Cr(III) por g de Al_2O_3, y r^2 el cuadrado del coeficiente de correlación obtenido. El área de pico representa el valor integrado de absorbancia registrado en el dispositivo FAAS acoplado a la columna de alúmina desde el inicio hasta el fin de la liberación de Cr(III).

Por ello la concentración máxima seleccionada para análisis rutinario ha sido en este sistema el último punto de respuesta lineal de la especie hexavalente, en donde la columna pierde su capacidad de retención de la especie de Cr(VI) (ver Figura 6- 8).

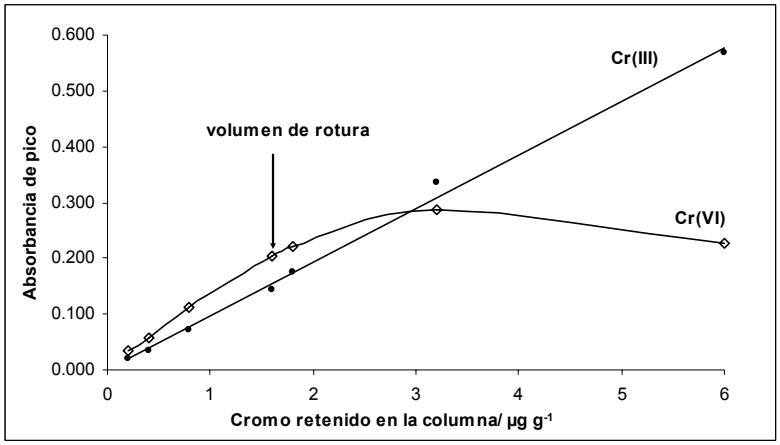

Figura 6- 8: Variación y respuesta lineal de la absorbancia de pico frente a la concentración de las especies de Cr(VI) y Cr(III) bombeadas a través de la columna de alúmina.

4.1.4. Estudio de interferencias

La alúmina es un óxido anfotérico que interacciona con las especies de cromo en las condiciones detalladas en apartados anteriores. El cromo trivalente se retiene en la columna debido a su comportamiento catiónico frente a la alúmina y el cromo hexavalente se comporta como un anión típico (Richard, F. C. y Bourg, A. C. M. 1991). La adsorción de cationes en la columna favorece la adsorción de aniones como Cr(VI), pero no mejora la retención catiónica de Cr(III), tal y como se ha concluido en los estudios realizados con cloruro sódico de apartados anteriores. Se ha evaluado la adsorción de Cr(III) y Cr(VI) en la columna de alúmina en presencia de diferentes metales, que pueden competir con las especies de cromo o eluir al mismo tiempo que ellas. El efecto de las sales metálicas investigadas demuestra que no

existen interferencias críticas de los mismos. Solamente el estudio muestra interferencias apreciables en el caso de Fe(III) a 5 μg ml^{-1} y Al(III) a 0.5 μg ml^{-1} en la señal de Cr(VI), y en el caso de Fe(III) a 1 μg ml^{-1} y Al(III) a 0.5 μg ml^{-1} en la señal de Cr(III). Los resultados pueden verse en la Tabla 6- 3 y en la Tabla 6- 4.

Tabla 6- 3: Influencia de diferentes iones como posibles interferentes de la señal de absorbancia en el área de los picos de las especies de Cr(VI).

Ión	[Interferente] / μg ml^{-1}	Variación de señal de Cr(VI) (%)[†]
Al(III)	0.50	16.8
	0.25	1.0
Cd(II)	5	5.1
Cu(II)	5	1.8
Fe(III)	5	10.5
	1	-3.4
Mn(II)	5	7.8
	3	-1.0
Ni(II)	0.25	-1.0
Pb(II)	5	-1.7
Zn(II)	10	8.7

Tabla 6- 4: Influencia de diferentes iones como posibles interferentes de la señal de absorbancia en el área de los picos de las especies de Cr(III).

Ión	[Interferente] / μg ml^{-1}	Variación de señal de Cr(III) (%)[‡]
Al(III)	0.50	-13.5
	0.25	1.9
Cd(II)	5	8.2
Cu(II)	5	6.5
Fe(III)	5	64.9
	1.00	32.8
	0.50	-10.9
	0.25	6.1
Mn(II)	5	15.3
	3	-6.3
Ni(II)	0.25	3.8
Pb(II)	5	4.6
Zn(II)	10	3.9

[†] La variación de señal de cromo ha sido obtenida añadiendo iones interferentes a una disolución de 100 μg l^{-1} [Cr(III)]/ 100 μg l^{-1} [Cr(VI)] y comparando la misma señal en ausencia y presencia de interferentes.

[‡] La variación de señal de cromo ha sido obtenida añadiendo iones interferentes a una disolución de 100 μg l^{-1} [Cr(III)]/ 100 μg l^{-1} [Cr(VI)] y comparando la misma señal en ausencia y presencia de interferentes.

La selección de los iones interferentes se ha hecho en función de los estudios previos de especiación de cromo variando el pH en columnas de alúmina (Sperling, M. y col. 1992).

4.1.5. Programa optimizado

Una vez realizada la etapa extractiva de muestras sólidas descrita en apartados anteriores, se adoptaron los parámetros indicados en la Tabla 6- 5, tanto para el estudio de las características analíticas de los métodos de extracción-especiación como para análisis rutinario de muestras.

Tabla 6- 5: Parámetros empleados para la extracción y especiación de cromo.

ESPECTRÓMETRO		**SISTEMA DE ATOMIZACIÓN (FAAS)**	
Corriente de la lámpara	12 mA	**llama**	Aire (7.38 l min^{-1}) /acetileno (3.25 l min^{-1})
Rendija de paso	0.7 nm	**nebulización**	Bola de impacto de vidrio
Longitud de onda (λ)	357.9 nm	**ajustes**	Altura y orientación de mechero Orientación del haz de radiación Flujo de aspiración del nebulizador
ETAPA DE EXTRACCIÓN			
Extracciones empleadas: Método 3060, USEPA SW-846 Método TRGS 613		**Tratamiento de los extractos obtenidos:** Dilución para control de concentración salina Ajuste de pH a 7.5 ± 0.5 con H_2SO_4 6 mol l^{-1}	
CARACTERÍSTICAS DE LA COLUMNA			
Material y dimensiones		Politetrafluroetileno con rosca interna en los extremos 5 cm de longitud 3 mm de diámetro interno	
Capacidad de relleno		0.5 g de Al_2O_3	
Características del relleno		Al_2O_3 activada con HNO_3	
Flujo de bombeo		2 ml min^{-1}	
ETAPA DE ESPECIACIÓN METÁLICA			
Especie metálica		**CROMO HEXAVALENTE**	**CROMO TRIVALENTE**
Elución		NH_3 2.0 mol l^{-1}	HNO_3 1.5 mol l^{-1}
Tiempo de elución		30-45 segundos	30-60 segundos
Orden de elución		1	2 (junto con limpieza)
Capacidad de adsorción de Al_2O_3		1.6 $\mu g_{Cr(VI)}$ $g_{alumina}^{-1}$	>6 $\mu g_{Cr(III)}$ $g_{alumina}^{-1}$
Rango lineal de trabajo		0-150 µg l^{-1}	0-200 µg l^{-1}

5. Parámetros analíticos

Una vez optimizado el procedimiento de determinación de cromo hexavalente y trivalente procedente de extractos de muestras sólidas por FAAS, se han estudiado las características analíticas del método.

En los siguientes apartados se ha evaluado el efecto matriz mediante rectas de calibrado y adición estándar, se ha estimado el límite de detección, límite de cuantificación, sensitividad y se ha estudiado la precisión y exactitud del método.

5.1. Rango lineal. Rectas de calibrado y adición estándar

En calibrados acuosos de extractante alcalino y adiciones estándar de extractos de muestras sólidas la relación lineal entre las concentraciones de cromo de disoluciones estándar (μg l^{-1}) y las señales de los picos de absorbancia se ha establecido en función de la capacidad de adsorción de la columna de alúmina (ver apartado 4.1.3 de este capítulo).

El rango lineal de trabajo ha sido suficiente limitando las medidas de 0 a 90 μg l^{-1} para los calibrados y adiciones de Cr(VI) y de 0 a 200 μg l^{-1} para calibrados y adiciones de Cr(III).

Los resultados se pueden ver en la Tabla 6- 6.

Tabla 6- 6: Rectas de calibrado acuoso y adición estándar de extractos de cemento.

CROMO HEXAVALENTE		
	Recta de calibrado	**Recta de adición estándar**
Rango de concentraciones	0, 30, 60 y 90 μg l^{-1}	0, 30, 60 y 90 μg l^{-1}
Ecuación lineal	A= 0.0013 × C - 0.0001	A= 0.0013 × C + 0.0366
Coeficiente de correlación	R = 0.9977	R = 0.9979
Efecto matriz	Las pendientes son comparables aplicando un test t de comparación de pendientes (95% nivel de significación). Es posible medir muestras con calibrado acuoso.	
CROMO TRIVALENTE		
	Recta de calibrado	**Recta de adición estándar**
Rango de concentraciones	0, 50, 100 y 200 μg l^{-1}	0, 50, 100 y 200 μg l^{-1}
Ecuación lineal	A = 0.0010 × C - 0.0033	A = 0.0007 × C - 0.0013
Coeficiente de correlación	R = 0.9997	R= 0.9972
Efecto matriz	Las pendientes de calibrado y adición difieren significativamente aplicando un test t (95% nivel de significación). Es necesario el uso de adiciones estándar para el análisis de muestras.	

Los patrones empleados en calibrados y adiciones son disoluciones acuosas preparadas diariamente a partir de una disolución de $Cr(NO_3)_3$ comercial y una disolución preparada a partir de K_2CrO_4. Las rectas de calibrado se han preparado con una disolución de Na_2CO_3 0.28 mol l^{-1}/ NaOH 0.5 mol l^{-1} diluida 50 veces y ajustando el pH con ácido sulfúrico 6 mol l^{-1} a 7.5 ± 0.5.

Las rectas de adición se han obtenido a partir de un extracto de cemento que ha seguido el procedimiento de extracción alcalina (Método 3060, USEPA SW-846) descrito en la Tabla 6- 1. La dilución y el ajuste de pH del extractante efectuado a cada punto de la adición se corresponden al mismo ajuste realizado a cada punto del calibrado. El extracto de cemento contenía 13.5 ± 0.6 $\mu g_{Cr(VI)}\ g_{cemento}^{-1}$. Los resultados de esta muestra se han obtenido tras realizar la extracción alcalina a tres réplicas de 2 g de muestra de cemento (ver etapas del proceso en la Tabla 6- 1), su dilución y ajuste de pH respectivos.

Los calibrados y adiciones de Cr(III) presentan pendientes que difieren estadísticamente aplicando un test t (95% de nivel de significación) (Blanco, M. y col. 1994). El efecto matriz encontrado es debido básicamente a la diferente interacción del cromo trivalente procedente de las muestras y de las disoluciones estándar con la columna.

El análisis de extractos de muestras posterior ha sido realizado con adiciones, dado que aunque la especie hexavalente no presenta efecto matriz sí lo hace la especie trivalente y ambos análisis son simultáneos.

5.2. Sensibilidad del método

Se ha estudiado la sensibilidad del método a través de tres parámetros: límite de detección (LOD), límite de cuantificación (LOQ) y sensitividad.

Los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) ya se han definido en el capítulo 3. Los resultados obtenidos para la especie de cromo trivalente y hexavalente se recogen en la Tabla 6- 7. Los cálculos de los mismos se han realizado a partir de diez inyecciones consecutivas, en el sistema online, de un blanco preparado a partir de extractante alcalino, diluido hasta una concentración de 0.49 $g_{Na^+}\ l^{-1}$ y ajustando el pH a 7.5 ± 0.5 con ácido sulfúrico 6 mol l^{-1}. Las pendientes empleadas para los cálculos han sido la pendiente de calibrado para Cr(VI) y la pendiente de adición para Cr(III).

En la extracción alcalina del procedimiento aplicado se ha partido de 2 g de muestra sólida, se ha procedido a la extracción con 20 ml de extractante (Na_2CO_3 0.28 mol l^{-1}/ NaOH 0.5 mol l^{-1}), y a su dilución posterior con agua Milli-Q®, ajustando el pH con ácido sulfúrico 6 mol l^{-1} como se ha descrito con anterioridad. La dilución final del extracto ha sido de 50. La masa de partida y los volúmenes de trabajo han sido aplicados al cálculo final de los límites de detección y cuantificación de las especies de cromo de la extracción alcalina.

En la extracción acuosa del procedimiento aplicado se ha partido de 1 g de muestra sólida y se ha procedido a la extracción con 6 ml de agua ultrapura Milli-Q®. El extracto se ha llevado a un volumen final de 50 ml añadiendo la matriz salina y ajustando el pH como en lo descrito hasta el momento. La dilución final del extracto ha sido de 8.3. De igual modo que en la extracción alcalina, la masa de partida y los volúmenes de trabajo han sido utilizados para el cálculo final de los límites de detección y cuantificación de las especies de cromo de la extracción acuosa.

Tabla 6- 7: Límites de detección y cuantificación en la determinación simultanea online de Cr(VI) y Cr(III) procedente de extractos acuosos y alcalinos de muestras sólidas.

	Extracto alcalino		**Extracto acuoso**		
	Cr(VI)	**Cr(III)**	**Cr(VI)**	**Cr(III)**	
LOD (n=11)	0.91 µg l^{-1}	2.9 µg l^{-1}	0.91 µg l^{-1}	2.9 µg l^{-1}	**extracto**
	0.45 µg g^{-1}	1.4 µg g^{-1}	0.38 µg g^{-1}	1.2 µg g^{-1}	**muestra sólida**
LOQ (n=11)	3.0 µg l^{-1}	9.6 µg l^{-1}	3.0 µg l^{-1}	9.6 µg l^{-1}	**extracto**
	1.5 µg g^{-1}	4.5 µg g^{-1}	1.3 µg g^{-1}	3.4 µg g^{-1}	**muestra sólida**

El límite de detección y cuantificación de los extractos acuoso y alcalino (µg l^{-1}) es común dado que la composición de la disolución final de blanco es equivalente. Una vez tenido en cuenta los cálculos de los extractos de partida y las masas de muestra, los límites obtenidos (µg g^{-1}) son más bajos para los extractos acuosos dado que el factor de dilución es sensiblemente inferior.

La sensitividad se define como la concentración de analito que proporciona una absorción del 1% o una señal de absorbancia de 0.0044 (ASTM:E663-86 1986). Para determinar este parámetro y ver si el sistema AAS tiene una respuesta adecuada, se ha calculado la sensitividad a partir de la siguiente expresión:

$$S = 0.0044 \times (C_1 / A_1)$$

En donde C_1 es la concentración de analito en la disolución patrón del calibrado o adición y A_1 la absorbancia media de C_1.

El valor obtenido ha sido de 3.40 ± 0.18 $\mu g_{Cr(VI)}\ l^{-1}$ para la especie hexavalente en calibrado acuoso y 6.5 ± 0.5 $\mu g_{Cr(III)}\ l^{-1}$ para la especie trivalente en adición estándar. Se ha empleado adición estándar en el cálculo de la sensitividad de la especie trivalente dado que presenta efecto matriz en las medidas.

5.3. Precisión y exactitud

La reproducibilidad de la inyección representa la concordancia de resultados independientes obtenidos en el mismo sistema online de preconcentración-especiación-detección de un mismo material, y bajo las mismas condiciones (mismo analista, mismo instrumental, laboratorio y en intervalos de tiempo próximos). La precisión se ha estudiado con la reproducibilidad.

La reproducibilidad de la inyección ha sido evaluada con la medida de inyecciones consecutivas en el sistema online a través del coeficiente de variación (CV / %). Este coeficiente CV se define como CV = SD / X × 100, en donde SD es la desviación estándar de la señal de absorbancia de pico de una disolución inyectada n veces y X el promedio de las señales de absorbancia de pico obtenidas.

Para el cálculo de la reproducibilidad de la inyección se han realizado diez inyecciones de una disolución que contenía 100 µg l^{-1} de cada una de las especies de cromo (n=10). Dicha disolución contenía la cantidad apropiada de sales y el pH de trabajo, como en lo descrito en apartados anteriores de este capítulo. El resultado ha sido de 7.1% y 8.7% para la especie hexavalente y trivalente respectivamente.

Se ha calculado la exactitud del procedimiento de especiación y la exactitud del procedimiento total de extracción y especiación en conjunto.

La exactitud del procedimiento de especiación se ha determinado añadiendo distintos niveles de cromo hexavalente y trivalente a una muestra de cemento. Los resultados se muestran en la Tabla 6- 8.

Tabla 6- 8: Recuperaciones obtenidas en la especiación de un cemento al que se ha adicionado diferentes concentraciones de Cr(VI) y Cr(III).

CROMO HEXAVALENTE	
Nivel de Cr(VI) añadido / µg l^{-1}	30, 60, 90, 120
Recuperación (%)	99 ± 2
CROMO TRIVALENTE	
Nivel de Cr(III) añadido / µg l^{-1}	50, 100, 150, 200
Recuperación (%)	101 ± 6

Para la exactitud del método completo de extracción y especiación se ha calculado la recuperación analítica dopando muestras de cemento con cromato potásico. La muestra y el dopado se han puesto en contacto durante cuatro horas antes de la etapa extractiva. El procedimiento con sedimentos marinos ha sido similar, con distintos tiempos de contacto. Los resultados se muestran en la Tabla 6- 9.

Tabla 6- 9: Recuperación analítica del procedimiento de extracción y especiación por FAAS de muestras de sedimento marino y cemento dopadas con Cr(VI).

Muestra dopada	**Cr(VI) dopado / µg g^{-1}**	**Recuperación analítica (%)**
Cemento 1	75	97.5
Cemento 2	75	98.0
Cemento 3	75	103.8
Cemento 4	75	96.7
Sedimento marino	25	0
Sedimento marino	50	0
Sedimento marino	75	0

En ninguno de los sedimentos marinos dopados con la especie hexavalente ha sido posible su extracción. Este punto será discutido en mayor profundidad en apartados posteriores dedicados a las características de los sedimentos utilizados.

La recuperación del procedimiento total de extracción y especiación para Cr(VI) ha sido de 99 ± 3 % (75 $\mu g_{Cr(VI)}\ g_{cemento}^{-1}$).

6. Análisis de muestras

El sistema de especiación descrito (Pazos Capeáns, P. y col. 2006) en este capítulo ha sido aplicado al análisis de cementos y sedimentos marinos. El estudio se ha enfocado a la determinación de Cr(VI) total y completado con la fracción de Cr(VI) soluble en agua. Como cabía esperar, no se ha detectado en ninguno de los extractos alcalinos especies de Cr(III).

La eficiencia de la extracción del método ha sido evaluada en el apartado anterior con el dopado de Cr(VI) en muestras de cemento.

Por una parte se ha determinado el contenido total de cromo en digestiones con agua regia de cementos por ETAAS[§] (ver Figura 6- 9) y por otra los análisis de sedimento se han realizado mediante suspensiones por ETAAS tal y como se describe en el capítulo 3.

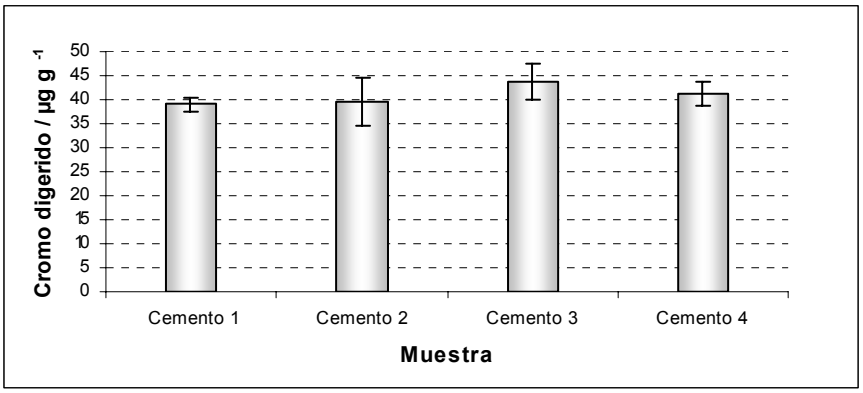

Figura 6- 9: Contenido de cromo total en muestras de cemento digeridas con agua regia.

Los valores metálicos totales en cementos se encuentran entre 34 y 41 $\mu g_{Cr}\ g_{cemento}^{-1}$. Las muestras de sedimento empleadas en este capítulo presentaron un contenido total de 60 $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$. La naturaleza de los cementos ha impedido que sea posible su cuantificación mediante el programa de suspensiones acuosas optimizado por ETAAS.

[§] Temperaturas del programa electrotérmico (ºC): Secado (120), mineralización (1400) y atomización (2500). La señal se ha registrado durante 5 segundos en la etapa de atomización sin flujo de Ar.

Los resultados de las especies de cromo extraídas aplicando el procedimiento alcalino y el procedimiento acuoso en muestras de sedimento marino y cementos se muestran en la Tabla 6- 10.

Tabla 6- 10: Cromo determinado en muestras de cemento y sedimento marino de Arousa.

Muestra	**Cr(VI) / µg g^{-1} (extracción alcalina)**	**Cr(III) / µg g^{-1} (extracción alcalina)**	**Cr(VI) / µg g^{-1} (extracción acuosa)**
Sedimentos marinos	<LOD	<LOD	No analizado
Cemento 1	4.9 ± 0.8	<LOD	2.11 ± 0.03
Cemento 2	3.2 ± 0.9	<LOD	<LOD
Cemento 3	4.5 ± 0.8	<LOD	1.9 ± 0.1
Cemento 4	1.9 ± 0.7	<LOD	< LOD

Dado que en los extractos alcalinos de los sedimentos no se ha detectado cromo hexavalente, no se ha procedido a estudiar el Cr(VI) procedente de la extracción acuosa.

La caracterización de la matriz de los sedimentos explicará en los siguientes apartados la razón por la cual en este tipo de muestras no se ha logrado ni extraer ni cuantificar la especie hexavalente, aún cuando se ha procedido a dopar las muestras con cromato potásico.

7. Comportamiento de los sedimentos marinos ante especies de cromo

Las capas orgánicas y de óxidos de hierro y manganeso en sedimentos de estuario actúan como fases adsorbentes de metales como el cromo. La estabilidad de esos metales, su precipitación y la disponibilidad de dichos metales en la fase acuosa o en los sedimentos dependen en gran medida de las características de dichos sedimentos, incluyendo composición geológica, valores de pH, potencial redox (ORP), así como el tipo de actividad industrial ejercida en la zona (Turner, A. 2000).

En los siguientes apartados de este capítulo se recogen los resultados de la cuantificación del contenido de carbono, nitrógeno e hidrógeno y los valores de pH y potencial redox (ORP) en los sedimentos de Arousa. Detalles de las muestras recolectadas en las cuatro campañas se recogen en capítulos anteriores.

El análisis de carbono, nitrógeno e hidrógeno y las medidas de pH y potencial redox han sido realizados con el objetivo de encontrar algún comportamiento característico de los sedimentos marinos. Al mismo tiempo se ha evaluado con estos datos la estabilidad relativa de las especies de cromo en las muestras sólidas y en la fase acuosa.

7.1. Composición elemental de los sedimentos de Arousa

Los análisis del contenido total en carbono, hidrógeno y nitrógeno en la fracción liofilizada de sedimentos marinos (< 63 μm) se han llevado a cabo en los servicios de análisis elemental de esta universidad. El analizador elemental está equipado con un detector de conductividad térmica (Fisons, modelo EA 1108 CHNF-0, Beverly, USA).

La variación en la concentración de carbono, nitrógeno e hidrógeno en cada estación de Arousa durante los cuatro muestreos se recoge para carbono en la Figura 6- 10, para nitrógeno en la Figura 6- 11, y para hidrógeno en la Figura 6- 12. Las figuras representan la dispersión de los datos obtenidos tras el análisis elemental en cada estación. Con ello se ha pretendido caracterizar las muestras y apreciar, a ser posible, cambios en la composición entre las distintas estaciones y las diferentes campañas de recolección de muestras.

Se muestran en la Tabla 6- 11 los valores promedio de las estaciones de mayor y menor contenido de carbono, nitrógeno e hidrógeno con las respectivas desviaciones estándar de los sedimentos muestreados a lo largo de las cuatro campañas.

Tabla 6- 11: Valores de las estaciones con mayor y menos contenido en carbono, nitrógeno e hidrógeno durante las campañas de muestreo de sedimentos en la Ría de Arousa.

	Marzo 2002	Junio 2002	Febrero 2003	Junio 2003
$mg_C\ g_{sedimento}^{-1}$	36.0 ± 1.8	38 ± 4	37.8 ± 1.4	36 ± 4
	65.2 ± 1.4	55.5 ± 1.7	54.9 ± 1.0	57.4 ± 1.3
$mg_N\ g_{sedimento}^{-1}$	7.2 ± 0.3	8.20 ± 0.10	7.3 ± 1.4	8.2 ± 0.8
	13.50 ± 0.08	13.2 ± 0.6	15.0 ± 0.4	13.8 ± 1.4
$mg_H\ g_{sedimento}^{-1}$	1.4 ± 0.5	3.32 ± 0.03	3.8 ± 0.4	2.80 ± 0.10
	5.41 ± 0.12	5.5 ± 0.4	5.9 ± 0.5	6.3 ± 0.4

Los resultados más dispersos se han obtenido en la campaña de verano de 2002. La estación 9 es la que presenta los mayores valores de concentración de carbono de todas las estaciones (65 $mg_C\ g_{sedimento}^{-1}$), y la estación 11 la de los menores en todas las campañas realizadas (36 $mg_C\ g_{sedimento}^{-1}$). A lo largo de las cuatro campañas el contenido de nitrógeno es reproducible con los mayores y menores valores, entorno a 7.2 y 15.0 $mg_N\ g_{sedimento}^{-1}$ respectivamente. El hidrógeno ha presentado el valor máximo en el cuarto muestreo en torno a 6.3 $mg_H\ g_{sedimento}^{-1}$ (estación 21) y valores mínimos durante el primer muestreo entorno a 1.4 $mg_H\ g_{sedimento}^{-1}$ (estaciones 5, 6, 12 y 13). La dispersión de resultados en cada estación a lo largo de los cuatro muestreos se muestra a continuación.

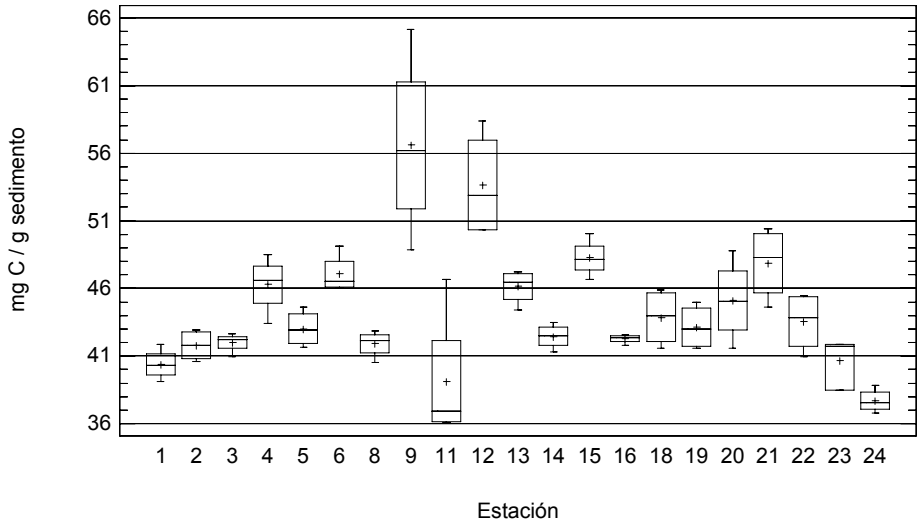

Figura 6- 10: Diagrama *Box and Whisker* del contenido de carbono en sedimentos marinos de cada estación de la Ría de Arousa durante las cuatro campañas de muestreo.

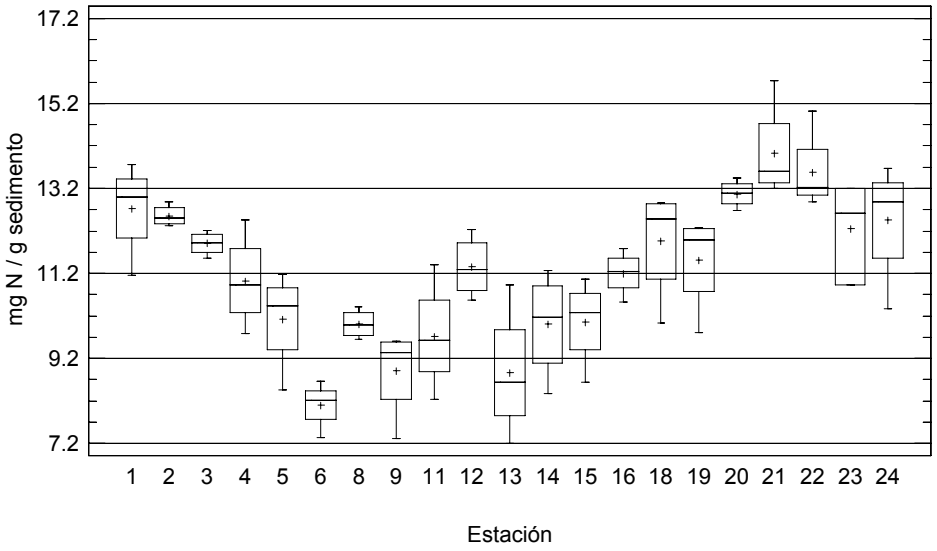

Figura 6- 11: Diagrama *Box and Whisker* del contenido de nitrógeno en sedimentos marinos de cada estación de la Ría de Arousa durante las cuatro campañas de muestreo.

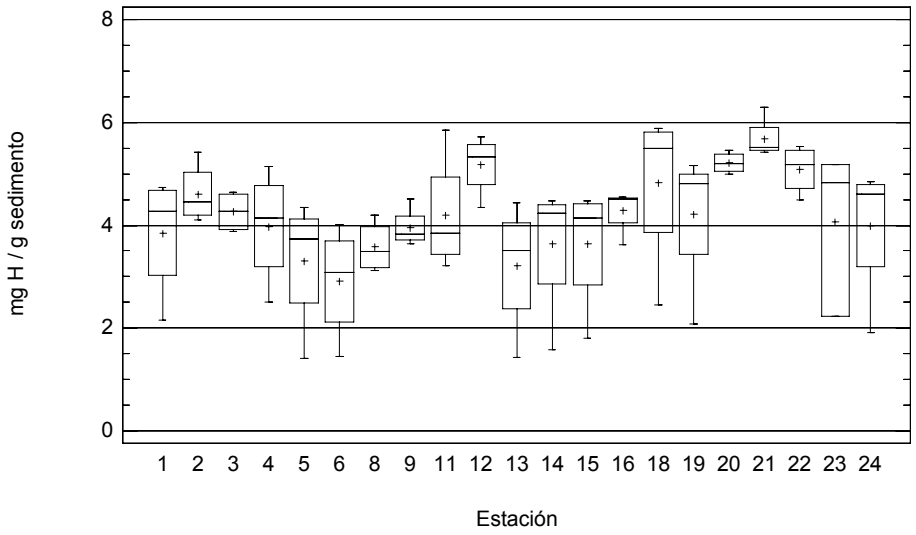

Figura 6- 12: Diagrama *Box and Whisker* del contenido de hidrógeno en sedimentos marinos de cada estación de la Ría de Arousa durante las cuatro campañas de muestreo.

Aún considerando los valores máximos y mínimos comentados de carbono, hidrógeno y nitrógeno, la distribución de la concentración de las estaciones ha

presentado un comportamiento homogéneo y los valores más representativos han sido los de concentraciones intermedias. Este comportamiento se puede observar en los histogramas de hidrógeno, nitrógeno y carbono de la Figura 6- 13 (considerando todas las estaciones muestreadas y todos los muestreos efectuados simultáneamente).

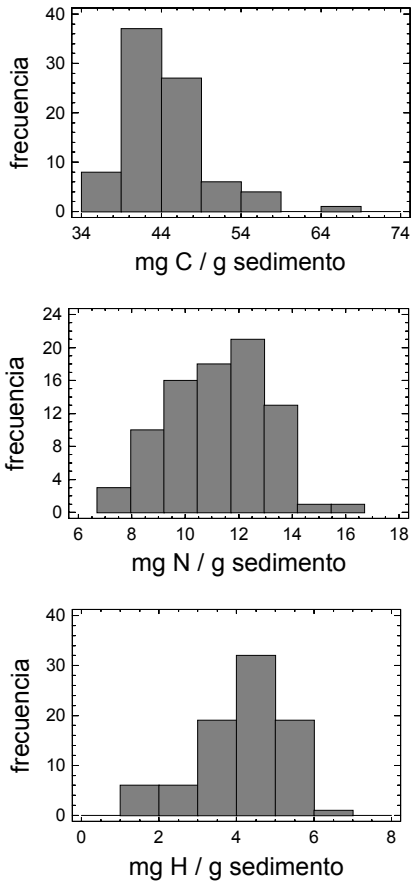

Figura 6- 13: Histogramas de concentración de hidrógeno, nitrógeno y carbono en la fracción de sedimento de Arousa <63 µm obtenidos para todas las estaciones muestreadas a lo largo de los cuatro muestreos.

En los histogramas de hidrógeno y nitrógeno de la Figura 6- 13 puede observarse que no existen claras desviaciones de subgrupos de muestras debidas a localización espacial (estación analizada) o a características temporales (época de muestreo). En el caso del histograma de carbono el comportamiento es similar. En este último existe una barra de frecuencia baja que se desvía de la distribución gaussiana y que

corresponde con un grupo particular de estaciones que ha presentado una concentración de carbono ligeramente superior al grupo de muestras restantes en la mayoría de las campañas. Esta desviación también se puede observar en la Figura 6-10, y corresponde con las concentraciones de carbono a lo largo de los cuatro muestreos obtenidas en las estaciones 9 y 12. Estas estaciones se sitúan próximas entre sí en la zona sur de la ría (ver la localización georeferenciada de las estaciones en la Figura 3- 1 del capítulo 3). Esta zona es poco profunda y se encuentra sometida a corrientes marinas menos intensas. Por otro lado, las estaciones 9 y 12 se encuentran en el grupo de concentración total de cromo inferior de los cuatro muestreos y en ambas se han recolectado siempre sedimentos con características arenosas. De hecho, el porcentaje promedio de fracción de sedimento con tamaño de partícula < 63 μm es de 2.3 ± 0.3% en la estación 12 y 1.6 ± 0.6% en la estación 9 para los sedimentos correspondientes a las cuatro campañas recolectadas.

De igual modo, en el cálculo de análisis *cluster* o de grupos del contenido de carbono en los sedimentos de Arousa en las campañas muestreadas se observa que o bien la estación 9, o bien la 12 o ambas son las que se distancian más del comportamiento de las restantes estaciones. El cálculo de los dendogramas ha aplicado los criterios descritos en el capítulo 7. Esta observación se recoge claramente en el dendograma calculado para el primer muestreo (Figura 6- 14) en donde estas estaciones forman un *cluster* ligeramente distanciado del resto de las estaciones.

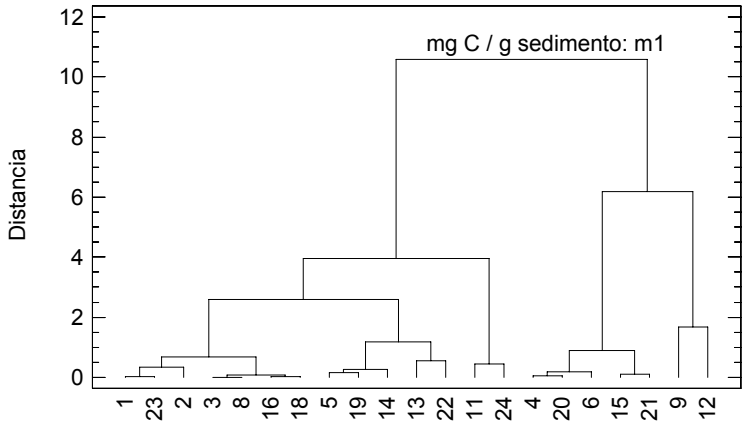

Figura 6- 14: Dendograma de la concentración de carbono en los sedimentos marinos de las estaciones muestreadas durante la campaña de invierno de 2002.

A excepción del contenido de carbono en estas dos estaciones, hemos considerado que las muestras presentan una composición de características similares. La composición elemental (C, N, H) de los sedimentos marinos de Arousa refleja las condiciones estacionarias a las que están sometidas las muestras. Estas condiciones estacionarias serán con las que se encontrará el cromo presente en la columna de agua y el cromo de los sedimentos a lo largo del tiempo e independientemente de la estación del año.

7.2. Valores de potencial redox y pH de los sedimentos de Arousa

Los sedimentos marinos son muestras ricas en material orgánico. No así muestras sólidas como cementos, a las que también se ha estudiado el contenido de cromo hexavalente extraíble en apartados anteriores de este capítulo.

La concentración y la distribución de metales en sedimentos superficiales suele emplear para estudios de biodisponibilidad extracciones químicas modelos computacionales o diagramas teóricos E_h-pH. Estos diagramas son útiles a la hora de evaluar la estabilidad de metales como el cromo (Jickells, T. D. y Rae, J. E. 1997).

Principios termodinámicos muestran de forma simple la estabilidad de las especies de cromo en la columna de agua de la Ría de Arousa y su comportamiento en los sedimentos marinos. Los análisis a lo largo del tiempo verifican dicha estabilidad.

Las variables que se han establecido como críticas a la hora de juzgar cual es el comportamiento de las especies de cromo en los sedimentos marinos han sido el pH y el potencial redox.

A continuación se muestra un diagrama teórico calculado para tal efecto (ver Figura 6- 15). El diagrama de especiación se ha construido con los programas Hydra y Medusa (Puigdomenech, I. 2001). Para estimar la distribución de especies de cromo en el agua de mar hemos usado de valor de referencia una concentración de 0.0002 μg_{Cr} ml^{-1} (Turekian, K. K. 1974) con una fuerza iónica de 0.7 mol l^{-1}. Se ha acotado la representación de las áreas de predominancia de E_h frente a pH a los intervalos de las medidas obtenidas en las muestras (ver diagrama b de la Figura 6- 15).

En general los sedimentos presentan unas condiciones de pH y potencial redox que se establecen en la zona de ‘sólidos’ del diagrama calculado, tal y como se esperaba

con los resultados experimentales y el aumento de la concentración de cromo en sedimentos con el tiempo.

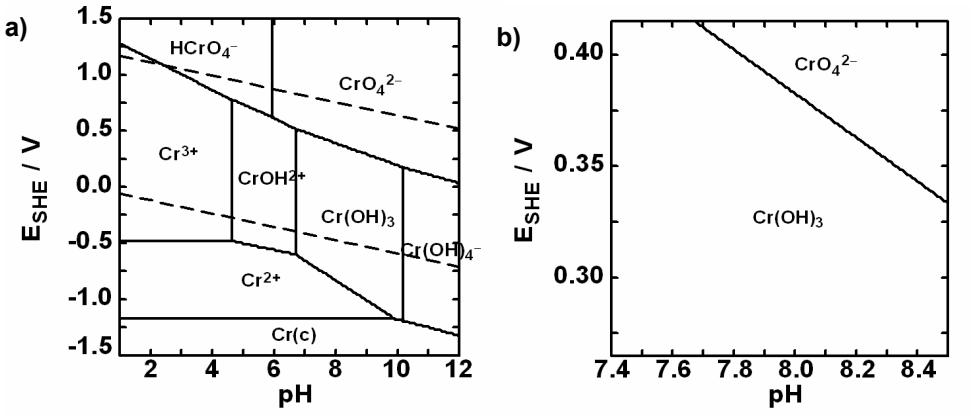

Figura 6- 15: Diagrama de estabilidad de cromo en la columna de agua calculado con una fuerza iónica de 0.7 mol l^{-1} y una concentración de cromo de 0.0002 µg ml^{-1} para todo el rango de pH (diagrama a) y para el intervalo de medidas de pH y potencial redox de las muestras de sedimento marino de Arousa (diagrama b).

En las capas superficiales de agua de la Ría de Arousa, los máximos valores de cromo total cuantificados han sido entorno a 0.7 µg l^{-1} y en las capas más profundas este valor alcanza los 0.8 µg l^{-1} (Herbello Hermelo, P. 2007). Sin embargo, en esa misma zona de la ría (estaciones 2, 23 y 24) las concentraciones de cromo total en sedimentos marinos llegan a sobrepasar los 200 µg g^{-1} en el primer muestreo y superar los 360 µg g^{-1} en el cuarto. Estas concentraciones claramente indican que los sedimentos actúan como depósito metálico y en la columna de agua la fracción de metal analizada es en comparación relativamente baja.

La determinación precisa de valores de pH y potencial redox (E_h/mV) en las capas superficiales de sedimento marino recolectadas en Arousa no ha sido posible a bordo del Buque Oceanográfico Mytilus dadas las condiciones de muestreo. Por ello, la determinación de estas magnitudes han sido realizadas en laboratorio siguiendo el Método EPA 9045 (EPA 2000). Las muestras sólidas (fracción <200 µm) se han agitado durante 30 minutos en una disolución de $CaCl_2$ 0.01 mol l^{-1} y posteriormente se ha dejado reposar la suspensión durante una hora hasta que la mayoría del material suspendido se decantara. Una vez finalizada la etapa de reposo, se ha procedido a registrar valores de pH y potencial redox con sus respectivos electrodos. Las medidas de pH fueron inmediatas a la inmersión del electrodo y cada medida de

potencial redox ha requerido un tiempo de estabilización de señal promedio de entre 10 y 20 minutos.

En general los valores obtenidos de pH fueron ligeramente inferiores a los registrados en el agua de mar muestreada en la zona en cada una de las estaciones. El pH en agua de mar registrado ha sido en torno a 8.25. Aunque el pH decrece ligeramente en la columna de agua con la profundidad (entre -6 y -60 m de profundidad), no se ha obtenido una correlación similar con los sedimentos, y las estaciones de sedimento más profundas no han sido las que han presentado los valores de pH inferiores. Los resultados de pH y potencial redox pueden observarse en la Figura 6- 16.

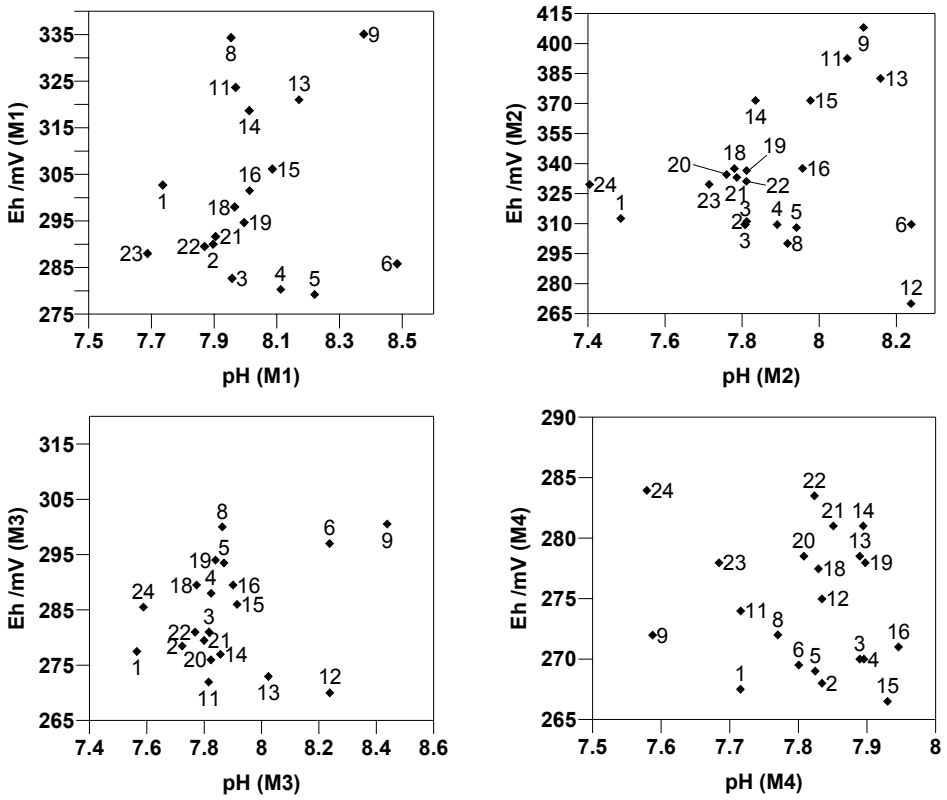

Figura 6- 16: Valores de pH y potencial redox (E_h/mV) registrado en los sedimentos marinos de Arousa durante los muestreos de invierno de 2002 (M1), verano de 2002 (M2), invierno de 2003 (M3) y verano de 2003 (M4).

El potencial redox (E_h/mV) ha sido ligeramente reductor: 200-400 mV (Mansfeldt, T. 2004). Se han obtenido valores de pH y E_h que se sitúan en la zona de transición de

estabilidad de $Cr(OH)_3$ y CrO_4^{2-}. La estimación de la estabilidad de cromo en agua de mar o en los sedimentos de Arousa ha sido útil para justificar la no detección de especies de cromo hexavalente en los sedimentos de Arousa.

Probablemente la mayoría del cromo permanece en los sedimentos como óxido o hidróxido combinado con otros metales o solo, o también combinado con materia orgánica natural como ácidos húmicos o fúlvicos (Petronio, B. M. y col. 1993). El potencial redox medido en los sedimentos de Arousa ha sido entre 265 y 415 mV, y los valores de pH entre 7.4 y 8.5. Estos intervalos en el diagrama de especiación corresponden con la zona de predominancia de $Cr(OH)_3$ y no con la de CrO_4^{2-}. También se ha observado que la concentración de cromo decrece con la distancia a los puntos de mayor concentración de la ría, lo que apunta de nuevo a una inestabilidad de cromo en la columna de agua y un transporte del metal limitado en la distancia conforme nos alejamos de las zonas de mayor concentración (interior de Arousa) y nos acercamos al Océano Atlántico.

Para evaluar el comportamiento de la matriz de sedimentos recolectados en Arousa, se han seleccionado las estaciones del eje central (estaciones 1-9) desde la zona donde finaliza el río Ulla hasta la desembocadura en el Océano Atlántico. Estas muestras han sido agitadas durante 30 minutos con $CaCl_2$ 0.01 mol l^{-1} y, al igual que el resto de las estaciones, tras pasar una hora y dejar reposar la suspensión generada, se han registrado los valores de pH y E_h. Se ha analizado en el sobrenadante de estas suspensiones la variación de estos parámetros a lo largo de 13 días (ver Figura 6- 17).

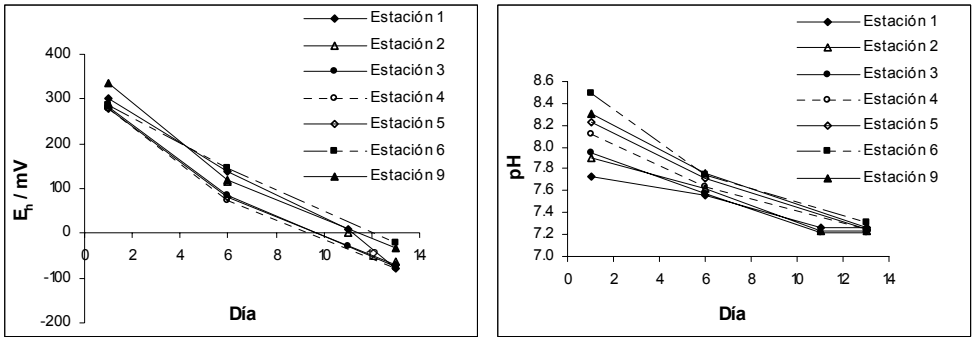

Figura 6- 17: Variación de E_h y pH en suspensiones de sedimento del eje central de la Ría de Arousa.

La suspensión de sedimento agitada en la disolución salina presenta con el tiempo diferentes valores de potencial y pH. Se obtienen valores más reductores y un pH

ligeramente más ácido. Los resultados hacen pensar que la matriz de los sedimentos afecta a la estabilidad a largo plazo de cromo en el estuario. En cualquier caso, no se descarta que esta variación registrada sea motivada por la actividad bacteriana, muy presente en este tipo de medioambiente.

Las condiciones reductoras en todas las muestras analizadas de Arousa perjudican a la estabilidad de cromo hexavalente en los sedimentos. Por ello, dopando algunas de las muestras de sedimento con Cr(VI) previamente a la extracción alcalina, al igual que se han dopado muestras de cemento, se ha obtenido una recuperación analítica extremadamente baja (ver Tabla 6- 9). No se considera, pues, ni estable ni detectable el cromo hexavalente en los sedimentos marinos de este trabajo.

CONCLUSIONES

El dispositivo en línea diseñado es simple, rápido y relativamente barato.

Los resultados se han basado en estudios previos de especiación de Cr(VI) y Cr(III). Estos estudios previos consultados en bibliografía han requerido de la retención selectiva de una de las especies de cromo preconcentrándola en la columna de alúmina. En ellos, a un pH determinado era posible la retención y cuantificación de la especie hexavalente y a otro pH la de la trivalente.

En este capítulo se ha conseguido optimizar un procedimiento de especiación selectiva de ambas especies de cromo de forma simultánea sin la necesidad de cambios de pH durante las etapas de retención y preconcentración de los extractos de muestras sólidas.

Los extractos han sido bombeados a través de la columna de alúmina y durante esta etapa de preconcentración no se ha registrado señal de metal en el dispositivo de detección (FAAS). La disolución amoniacal 2.0 mol l^{-1} bombeada a través del sistema ha sido eficaz en la liberación total de la especie hexavalente en un tiempo de elución corto (30-45 segundos) y la disolución bombeada de ácido nítrico 1.5 mol l^{-1} ha conseguido liberar la especie trivalente al mismo tiempo que limpiaba la columna para una siguiente inyección de extracto (durante 30-60 segundos).

Se han alcanzado condiciones óptimas en el flujo de bombeo a través de la columna (2 ml min^{-1}) con las concentraciones de elución óptimas de trabajo. Se ha estudiado la capacidad de retención de especies de cromo en la columna de alúmina activada (hasta 1.6 $\mu g_{Cr(VI)}\ g_{alúmina}^{-1}$ y > 6 $\mu g_{Cr(III)}\ g_{alúmina}^{-1}$), y se ha estimado la concentración salina adecuada para la especiación efectiva de las disoluciones inyectadas (un factor de dilución 50 del extracto alcalino de partida equivalente a 0.49 $g_{Na^+}\ l^{-1}$ junto con la cantidad de sulfatos procedentes de ajustar el pH a 7.5 ± 0.5).

El estudio de interferencias en el dispositivo de especiación indica que es apreciable el efecto de Fe(III) 5 µg ml^{-1} y Al(III) 0.5 µg ml^{-1} en la señal de Cr(VI), y el efecto de Fe(III) 1 µg ml^{-1} y Al(III) 0.5 µg ml^{-1} en la señal de Cr(III).

Las características analíticas se han utilizado como referencia para el análisis de muestras reales aplicando el procedimiento optimizado. Se ha medido en adición

estándar dado que existe efecto matriz con la especie trivalente en este tipo de extractos. Se ha verificado que el procedimiento de especiación es preciso (Cr(VI): 7.1 % y Cr(III): 8.7 %), exacto en el procedimiento de especiación (con recuperación de Cr(VI): 99 ± 2 % y recuperación de Cr(III): 101 ± 6 %) y exacto en el procedimiento completo de extracción y especiación de Cr(VI) (recuperación de 99 ± 3 % en un cemento dopado con 75 $\mu g_{Cr(VI)}\ g_{cemento}^{-1}$).

Se ha podido analizar Cr(VI) en las extracciones realizadas siguiendo los protocolos descritos (Método 3060, USEPA SW-846 y Método TRGS 613) en algunas de las muestras. La especie hexavalente ha sido determinada en muestras de cementos, y se ha verificado que con las extracciones alcalinas no se libera ni detecta en el sistema online de alúmina la especie trivalente.

En extractos alcalinos de muestras de sedimento marino procedente de Arousa no se ha detectado ninguna de las especies de cromo. Este hecho ha sido atribuido a la naturaleza de los sedimentos marinos (carácter reductor), capaces de transformar la especie hexavalente en la trivalente. Los cálculos teóricos (pH/E_h) así lo corroboran, y los valores de pH y E_h/mV registrados en las muestras de sedimento también lo confirman.

El análisis elemental de carbono, nitrógeno e hidrógeno de la fracción de sedimento de < 63 µm y las características observadas de los sedimentos recolectados en los cuatro muestreos de la Ría de Arousa parecen apuntar a que los sedimentos no sufren un cambio apreciable en la matriz. Una matriz que preconcentra el cromo que aparece en el estuario.

BIBLIOGRAFÍA

Ahmad, S., R. C. Murthy y S. V. Chandra. **1990**. Chromium speciation by column chromatography using a direct-current plasma atomic emission spectrometer. **Analyst** 115(3):287-289.

ASTM:E663-86, **1986**. Standard practice for flame atomic absorption analysis.

Blanco, M., R. Boqué, R. Cela, J. Coello, S. Maspoch, M. C. Ortíz, J. Riba, F. X. Rius, A. Ruíz, L. A. Sarabia y X. Tomàs. **1994**. Avances en Quimiometría práctica. Universidad de Santiago de Compostela.

Collins, C. H., S. H. Pezzin, J. F. L. Rivera, P. S. Bonato, C. C. Windmoller, C. Archundia y K. E. Collins. **1997**. Liquid chromatographic separation of aqueous species of Cr(VI) and Cr(III). **Journal of Chromatography A** 789(1-2):469-478.

Comber, S. y M. Gardner. **2003**. Chromium redox speciation in natural waters. **Journal of Environmental Monitoring** 5(3):410-413.

Das, A. K., R. Chakraborty, M. L. Cervera y M. Delaguardia. **1995**. Metal speciation in solid matrices. **Talanta** 42(8):1007-1030.

Ebdon, L., M. Foulkes y K. Sutton. **1997**. Slurry nebulization in plasmas. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 12(2):213-229.

EPA, **1996**. Test Methods for Evaluating Solid Waste, Method 3060A, Alkaline Digestion for Hexavalent Chromium. U. S. E. P. Agency, USA.

EPA, **2000**. SW-846 Method 9045 for redox potential and pH measurements in soils. U. S. E. P. Agency, USA.

Herbello Hermelo, P. **2007**. Especiación de metales pesados mediante la formación de quelatos volátiles. Distribución de las especies inorgánicas de As y Cr en la Ría de Arousa. **Tesis Doctoral**. Departamento de Química Analítica, Nutrición e Bromatoloxía. GETEE, Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela.

Jickells, T. D. y J. E. Rae. **1997**. Biogeochemistry of intertidal sediments. Cambridge University Press.

Kotás, J. y Z. Stasicka. **2000**. Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation. **Environmental Pollution** 107(3):263-283.

Kumar, S. J., P. Ostapczuk y H. Emons. **1999**. Chromium speciation in water by electrothermal AAS after simultaneous adsorption of Cr(III) and Cr(VI) on an activated alumina mini column. **Atomic Spectroscopy** 20(5):194-197.

Larsen, S. B. **1991**. Cement compositions having low water-soluble chromate content, and method for lowering the amount of water-soluble chromate in cement compositions. Patente nº 91-DK98 9115435.

Luque García, J. L. y M. D. L. de Castro. **2002**. Continuous ultrasound-assisted extraction of hexavalent chromium from soil with or without on-line preconcentration prior to photometric monitoring. **Analyst** 127(8):1115-1120.

Mansfeldt, T. **2004**. Redox potential of bulk soil and soil solution concentration of nitrate, manganese, iron, and sulfate in two Gleysols. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science-Zeitschrift Fur Pflanzenernahrung Und Bodenkunde** 167(1):7-16.

Manzoori, J. L., M. H. Sorouraddin y F. Shemirani. **1995**. Chromium speciation by a surfactant-coated alumina microcolumn using electrothermal atomic-absorption spectrometry. **Talanta** 42(8):1151-1155.

Marqués, M. J., A. Morales Rubio, A. Salvador y M. de la Guardia. **2001**. Chromium speciation using activated alumina microcolumns and sequential injection analysis-flame atomic absorption spectrometry. **Talanta** 53(6):1229-1239.

Marqués, M. J., A. Salvador, A. E. Morales Rubio y M. de la Guardia. **1998**. Analytical methodologies for chromium speciation in solid matrices: a survey of literature. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry** 362(3):239-248.

Morales Muñoz, S., J. L. Luque García y M. D. L. de Castro. **2004**. A continuous approach for the determination of Cr(VI) in sediment and soil based on the coupling of microwave-assisted water extraction, preconcentration, derivatization and photometric detection. **Analytica Chimica Acta** 515(2):343-348.

Ndung'u, K., N. K. Djane, F. Malcus y L. Mathiasson. **1999**. Ultrasonic extraction of hexavalent chromium in solid samples followed by automated analysis using a combination of supported liquid membrane extraction and UV detection in a flow system. **Analyst** 124(9):1367-1372.

Pannain, M. C. y R. E. Santelli. **1995**. On the spectrophotometric flow injection determination of chromium(VI) in natural waters after on-line preconcentration on activated alumina. **Talanta** 42(11):1609-1617.

Pazos Capeáns, P., M. C. Barciela Alonso, A. Bermejo Barrera, P. Bermejo Barrera, A. Fisher y S. J. Hill. **2006**. On-line sequential determination of Cr(III) and Cr(VI) with selective elution of solid extracts using an alumina column. **Atomic Spectroscopy** 27(4):107-116.

Petronio, B. M., B. Cosma, A. Mazzucotelli y P. Rivaro. **1993**. A multimethod approach to study humic compounds and metal speciation in marine sediment samples. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry** 54(1):45-56.

Prokisch, J., S. A. Katz, B. Kovacs y Z. Gyori. **1997**. Speciation of chromium from industrial wastes and incinerated sludges. **Journal of Chromatography A** 774(1-2):363-371.

Prokisch, J., B. Kovacs, Z. Gyori y J. Loch. **1995**. A simple and inexpensive method for chromium speciation in soil extracts. **Communications in Soil Science and Plant Analysis** 26(13-14):2051-2065.

Puigdomenech, I. **2001**. HYDRA MEDUSA PROGRAM: Make Equilibrium Diagrams Using Sophisticated Algorithms. Stockholm, Sweden.

Richard, F. C. y A. C. M. Bourg. **1991**. Aqueous geochemistry of chromium - a review. **Water Research** 25(7):807-816.

Sahayam, A. C. **2002**. Speciation of Cr(III) and Cr(VI) in potable waters by using activated neutral alumina as collector and ET-AAS for determination. **Analytical and Bioanalytical Chemistry** 372(7-8):840-842.

SCTEE. **2002**. C2/AST/csteeop/ChromiumVI 27062002/D(02): Risk to health from chromium VI in cement. Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment, Brussels.

Sperling, M., S. K. Xu y B. Welz. **1992**. Determination of chromium(III) and chromium(VI) in water using flow-injection online preconcentration with selective adsorption on activated alumina and flame atomic-absorption spectrometric detection. **Analytical Chemistry** 64(24):3101-3108.

Templeton, D. M., F. Ariese, R. Cornelis, L.-G. Danielsson, H. Muntau, H. P. Van Leeuwen y R. Łobinski. **2000**. Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches. **Pure and Applied Chemistry** 72(8):1453-1470.

Turekian, K. K. **1974**. Los Océanos. Omega.

Turner, A. **2000**. Trace metal contamination in sediments from UK estuaries: An empirical evaluation of the role of hydrous iron and manganese oxides. **Estuarine Coastal and Shelf Science** 50(3):355-371.

Ure, A. M. y C. M. Davidson. **2002**. Chemical speciation in the environment. Blackwell Science.

Ure, A. M., P. Quevauviller, H. Muntau y B. Griepink. **1993**. 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. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry** 51(1-4):135-151.

Vassileva, E., K. Hadjiivanov, T. Stoychev y C. Daiev. **2000**. Chromium speciation analysis by solid-phase extraction on a high surface area TiO2. **Analyst** 125(4):693-698.

Vitale, R. J., G. R. Mussoline, J. C. Petura y B. R. James. **1994**. Hexavalent chromium extraction from soils - Evaluation of an alkaline digestion method. **Journal of Environmental Quality** 23(6):1249-1256.

Wang, J., K. Ashley, D. Marlow, E. C. England y O. Carlton. **1999**. Field method for the determination of hexavalent chromium by ultrasonication and strong anion exchange solid phase extraction. **Analytical Chemistry** 71(5):1027-1032.

Welz, B. y M. R. Sperling. **1999**. Atomic absorption spectrometry. Wiley-VCH.

LISTADO DE TABLAS

Tabla 6- 1: Condiciones aplicadas en las extracciones de cromo hexavalente total y cromo hexavalente soluble en agua. 274

Tabla 6- 2: Disoluciones preparadas a partir de NaCl para obtener las mismas diluciones realizadas anteriormente con el extractante alcalino. 277

Tabla 6- 3: Influencia de diferentes iones como posibles interferentes de la señal de absorbancia en el área de los picos de las especies de Cr(VI). 284

Tabla 6- 4: Influencia de diferentes iones como posibles interferentes de la señal de absorbancia en el área de los picos de las especies de Cr(III). 284

Tabla 6- 5: Parámetros empleados para la extracción y especiación de cromo. 285

Tabla 6- 6: Rectas de calibrado acuoso y adición estándar de extractos de cemento. 286

Tabla 6- 7: Límites de detección y cuantificación en la determinación simultanea online de Cr(VI) y Cr(III) procedente de extractos acuosos y alcalinos de muestras sólidas. 288

Tabla 6- 8: Recuperaciones obtenidas en la especiación de un cemento al que se ha adicionado diferentes concentraciones de Cr(VI) y Cr(III). 290

Tabla 6- 9: Recuperación analítica del procedimiento de extracción y especiación por FAAS de muestras de sedimento marino y cemento dopadas con Cr(VI). 290

Tabla 6- 10: Cromo determinado en muestras de cemento y sedimento marino de Arousa. 292

Tabla 6- 11: Valores de las estaciones con mayor y menos contenido en carbono, nitrógeno e hidrógeno durante las campañas de muestreo de sedimentos en la Ría de Arousa. 293

LISTADO DE FIGURAS

Los datos empleados en las figuras de este capítulo y que no se contemplan numéricamente se recogen tabulados en el Anexo I.

Figura 6- 1: Esquemas de extracción de cromo hexavalente empleados en los que (A) se corresponde con los pasos de la extracción alcalina y (B) con los pasos de la extracción acuosa. 275

Figura 6- 2: Dispositivo de especiación de cromo hexavalente y trivalente. 276

Figura 6- 3: Estudio del efecto de Na_2CO_3 0.28 mol l^{-1}/NaOH 0.5 mol l^{-1} en la columna de alúmina a través del pico de absorbancia de las especies de cromo al variar el factor de dilución del extractante. 277

Figura 6- 4: Estudio del efecto de NaCl en la columna de alúmina a través del pico de absorbancia de las especies de cromo al variar la concentración sódica. 278

Figura 6- 5: Cambio en el perfil y tiempo de elución de los picos de cromo hexavalente y trivalente al variar el flujo de bombeo a través de la columna de alúmina. 279

Figura 6- 6: Optimización de la concentración de amoníaco para la elución de cromo hexavalente. 281

Figura 6- 7: Optimización de la concentración de ácido nítrico para la elución de cromo trivalente. 282

Figura 6- 8: Variación y respuesta lineal de la absorbancia de pico frente a la concentración de las especies de Cr(VI) y Cr(III) bombeadas a través de la columna de alúmina. 283

Figura 6- 9: Contenido de cromo total en muestras de cemento digeridas con agua regia. 291

Figura 6- 10: Diagrama *Box and Whisker* del contenido de carbono en sedimentos marinos de cada estación de la Ría de Arousa durante las cuatro campañas de muestreo. 294

Figura 6- 11: Diagrama *Box and Whisker* del contenido de nitrógeno en sedimentos marinos de cada estación de la Ría de Arousa durante las cuatro campañas de muestreo. 295

Figura 6- 12: Diagrama *Box and Whisker* del contenido de hidrógeno en sedimentos marinos de cada estación de la Ría de Arousa durante las cuatro campañas de muestreo. 295

Figura 6- 13: Histogramas de concentración de hidrógeno, nitrógeno y carbono en la fracción de sedimento de Arousa <63 µm obtenidos para todas las estaciones muestreadas a lo largo de los cuatro muestreos. 296

Figura 6- 14: Dendograma de la concentración de carbono en los sedimentos marinos de las estaciones muestreadas durante la campaña de invierno de 2002. 297

Figura 6- 15: Diagrama de estabilidad de cromo en la columna de agua calculado con una fuerza iónica de 0.7 mol l^{-1} y una concentración de cromo de 0.0002 µg ml^{-1} para todo el rango de pH (diagrama a) y para el intervalo de medidas de pH y potencial redox de las muestras de sedimento marino de Arousa (diagrama b). 299

Figura 6- 16: Valores de pH y potencial redox (E_h/mV) registrado en los sedimentos marinos de Arousa durante los muestreos de invierno de 2002 (M1), verano de 2002 (M2), invierno de 2003 (M3) y verano de 2003 (M4). 300

Figura 6- 17: Variación de E_h y pH en suspensiones de sedimento del eje central de la Ría de Arousa. 301

CAPÍTULO 7

Exploración de datos

INTRODUCCIÓN 317

EXPLORACIÓN DE DATOS 319

1. Pretratamiento de datos a explorar 319
2. Correlación de resultados 320
2.1. Matriz de correlación R....320
2.2. Análisis *cluster*: estudio de similitud entre estaciones en cada muestreo 325
2.2.1. Cromo total 327
2.2.2. Cromo de la fracción 'ácida soluble' 329
2.2.3. Cromo de la fracción 'reducible'....331
2.2.4. Cromo de la fracción 'oxidable'....333
3. Análisis de Componentes Principales (PCA) 335
3.1. Estudio de similitud entre variables químicas 335
3.1.1. Resultado de los cuatro muestreos en conjunto....335
3.1.2. Resultado individual de cada muestreo 337
3.2. Estudio de similitud por estaciones muestreadas....340
4. Estudio de grupos homogéneos: ANOVA y Test de Rangos Múltiples....343

CONCLUSIONES 345

BIBLIOGRAFÍA 347

LISTADO DE TABLAS 347

LISTADO DE FIGURAS 349

INTRODUCCIÓN

La exploración de datos se ha utilizado en este capítulo para poner de manifiesto y resaltar información que pudiera estar contenida en los siguientes parámetros:

- Estaciones muestreadas de Arousa: objetos.
- Parámetros químicos determinados en Arousa: variables.

Los datos empleados corresponden a los cuatro muestreos etiquetados con los símbolos que se recogen en la Tabla 7- 1.

Tabla 7- 1: Datos correspondientes a los muestreos realizados en Arousa.

Muestreo	Símbolo	Fecha	Época
Primer muestreo	**m1**	18/03/2002	Invierno
Segundo muestreo	**m2**	24/07/2002	Verano
Tercer muestreo	**m3**	07/02/2003	Invierno
Cuarto muestreo	**m4**	08/07/2003	Verano

Las variables, es decir, los parámetros determinados en las muestras de sedimento recolectadas, son las que corresponden a los símbolos de la Tabla 7- 2.

Tabla 7- 2: Variables analizadas en las muestras de sedimento recolectadas en Arousa.

Símbolo	Observaciones
C	Contenido en carbono, expresado en $mg_C\ g_{sedimento}^{-1}$ en la fracción < 63 µm.
N	Contenido en nitrógeno, expresado en $mg_N\ g_{sedimento}^{-1}$ en la fracción < 63 µm.
H	Contenido en hidrógeno, expresado en $mg_H\ g_{sedimento}^{-1}$ en la fracción < 63 µm.
$\mathbf{E_h}$	Potencial redox de la fracción de sedimento entre 200 y 63 µm.
pH	pH de la fracción de sedimento entre 200 y 63 µm.
$\mathbf{Cr_T}$	Concentración de cromo total analizada en suspensiones de sedimento en la fracción < 63 µm, expresada en $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$.
$\mathbf{E_1}$	Concentración de cromo extraída en la primera etapa de BCR en la fracción < 63 µm de sedimento de Arousa, expresada en $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$.
$\mathbf{E_2}$	Concentración de cromo extraída en la segunda etapa de BCR en la fracción < 63 µm de sedimento de Arousa, expresada en $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$.
$\mathbf{E_3}$	Concentración de cromo extraída en la tercera etapa de BCR en la fracción < 63 µm de sedimento de Arousa, expresada en $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$.
$\mathbf{E_r}$	Concentración de cromo residual tras finalizar el procedimiento de extracción acelerado de BCR en la fracción < 63 µm de sedimento de Arousa, expresada en $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$.

EXPLORACIÓN DE DATOS

1. Pretratamiento de datos a explorar

La exploración de datos ha requerido de una homogeneización inicial de los mismos. Tentativas de clasificaciones, correlaciones o estudios de similitudes perderían objetividad si algunas de las variables estudiadas de Arousa tienen un valor numérico sensiblemente superior al resto de las variables químicas que componen la matriz de datos. Con la homogeneización o normalización de datos se le confiere la misma importancia o peso a cada una de las variables descritas en la introducción de este capítulo. Este cálculo se ha realizado aplicando la transformación '*half-range and central value*' (Moreda Piñeiro, A. y col. 2001) en donde los valores máximos y mínimos de cada variable se transforman numéricamente en 1 y -1 respectivamente y los valores centrales en 0.

La homogeneización se ha realizado a partir de los cálculos que se describen a continuación. Se ha obtenido el valor normalizado de cada dato a partir del rango medio y el valor central de cada variable química. Las ecuaciones se recogen en la Tabla 7- 3.

Tabla 7- 3: Herramientas de cálculo para la normalización de la matriz de datos químicos.

Ecuación	Observaciones
$Z_{ij} = \frac{X_{ij} - Cv_j}{hu_j}$	Valor normalizado
$Cv_j = \frac{\left[Max\left(x_j\right) + Min\left(x_j\right)\right]}{2}$	Valor central –*central value*-
$hu_j = \frac{\left[Max\left(x_j\right) - Min\left(x_j\right)\right]}{2}$	Rango medio –*half range*-

Cada columna de la matriz de datos representa una variable química. Tenemos 10 variables químicas para cada muestreo (Tabla 7- 2). De cada columna de datos se extrae el valor máximo, Max(x_j), y el valor mínimo, Min(x_j) para los cálculos de la Tabla 7- 3 y con ellos se obtienen los valores centrales Cv_j y los rangos medios hu_j.

Los valores normalizados Z_{ij} se obtienen a partir de los valores de la matriz de datos X_{ij} y los valores Cv_j y hu_j calculados en la Tabla 7- 3.

Este tipo de cálculo normalizador no ha sido necesario en el caso de la obtención de la tabla de correlaciones R que se recoge en el siguiente apartado.

2. Correlación de resultados

2.1. Matriz de correlación R

Con la matriz de correlaciones cuadrada, R, formada por las correlaciones bivariables de los parámetros químicos de Arousa determinados en cada una de las estaciones analizadas (ver Tabla 7- 2), se ha comprobado numéricamente qué variables han aportado correlación numérica. Los resultados de la matriz de correlación se han dividido en tres partes y se han recogido por orden de variables en la Tabla 7- 4, en la Tabla 7- 5 y en la Tabla 7- 6.

Se han presentado los datos atendiendo a la siguiente clasificación:

- Las celdas sombreadas en gris son valores de $R > 0.95$
- Los valores mostrados en negrita corresponden a $\mathbf{0.90 < R \leq 0.95}$
- Los valores mostrados en letra normal corresponden a $0.85 < R \leq 0.90$
- Los valores con letra en gris corresponden a $R \leq 0.85$

De todos los parámetros analizados, los valores de potencial redox (E_h) y pH de los sedimentos muestreados en Arousa son los que menor correlación presentan tanto entre si como con el resto de variables. Únicamente los potenciales redox del primer y segundo muestreo presentan una correlación de 0.946.

La situación es similar con la concentración de carbono, hidrógeno y nitrógeno. Estos valores también presentan una correlación mínima. Únicamente la concentración de carbono de las estaciones del primer muestreo presenta una correlación de 0.934 con la concentración de carbono en las estaciones del cuarto muestreo.

Sin embargo, los resultados del contenido total de cromo, las fracciones de cromo extraídas por el procedimiento BCR y la fracción de cromo residual resultante en los cuatro muestreos se llegan a correlacionar entre sí con valores elevados (con $R > 0.95$).

Existe, como cabía esperar, una estrecha relación de cada una de las estaciones muestreadas en Arousa entre su contenido total de cromo y su contenido de cromo en las distintas fracciones de BCR. Esta correlación aparece entre las variables de

cromo de un mismo muestreo y entre muestreos distintos. No influyen aquí ni el pH, ni el potencial redox, ni la composición de carbono, nitrógeno e hidrógeno de los sedimentos recolectados. Los resultados se muestran a continuación.

Tabla 7- 4: Matriz de correlación R de todos los parámetros determinados en los sedimentos de la Ría de Arousa. Parte 1.

	C m1	N m1	H m1	pH m1	E_h m1	C m2	N m2	H m2	pH m2	E_h m2
C m1	1									
N m1	0.283	1								
H m1	-0.084	0.806	1							
pH m1	0.612	-0.332	-0.701	1						
E_h m1	0.208	0.000	-0.320	0.131	1					
C m2	0.852	0.224	-0.202	0.721	0.163	1				
N m2	0.126	0.629	0.767	-0.581	-0.316	0.045	1			
H m2	-0.205	0.471	0.795	-0.649	-0.370	-0.216	0.790	1		
pH m2	0.584	0.045	-0.484	0.878	0.240	0.619	-0.410	-0.721	1	
E_h m2	0.373	0.132	-0.289	0.181	**0.946**	0.395	-0.177	-0.405	0.425	1
C m3	0.841	0.304	-0.131	0.570	0.350	0.699	0.061	-0.417	0.740	0.530
N m3	-0.200	0.593	0.670	-0.608	-0.364	-0.151	0.717	0.588	-0.239	-0.180
H m3	-0.313	0.482	0.796	-0.762	-0.538	-0.296	0.740	0.869	-0.587	-0.473
pH m3	0.813	0.067	-0.431	0.894	0.353	0.778	-0.241	-0.665	0.860	0.505
E_h m3	0.174	-0.346	-0.339	0.538	0.028	0.022	-0.284	-0.286	0.111	-0.049
C m4	**0.934**	0.251	-0.102	0.564	0.170	0.781	0.123	-0.236	0.600	0.333
N m4	0.037	0.356	0.566	-0.486	-0.246	-0.082	0.746	0.591	-0.335	-0.161
H m4	-0.248	0.255	0.709	-0.709	-0.473	-0.355	0.681	0.788	-0.760	-0.535
pH m4	-0.030	0.012	-0.052	0.010	-0.366	0.213	-0.093	0.039	0.288	-0.174
E_h m4	-0.109	0.161	0.269	-0.271	0.102	-0.216	0.436	0.307	-0.264	0.132
Cr_T m1	-0.351	0.197	0.613	-0.640	-0.503	-0.422	0.483	0.692	-0.751	-0.483
E_1 m1	-0.011	0.516	0.775	-0.562	-0.338	-0.183	0.686	0.630	-0.450	-0.296
E_2 m1	-0.408	0.281	0.691	-0.749	-0.447	-0.461	0.644	0.773	-0.770	-0.437
E_3 m1	-0.052	-0.020	0.318	-0.404	-0.116	-0.305	0.334	0.333	-0.445	-0.276
R m1	-0.398	0.165	0.551	-0.666	-0.553	-0.421	0.421	0.537	-0.681	-0.442
Cr_T m2	-0.363	0.090	0.502	-0.669	-0.293	-0.454	0.452	0.619	-0.748	-0.299
E_1 m2	-0.331	0.176	0.519	-0.591	-0.341	-0.428	0.440	0.567	-0.683	-0.343
E_2 m2	-0.484	0.057	0.501	-0.777	-0.420	-0.571	0.434	0.614	-0.823	-0.438
E_3 m2	-0.425	0.004	0.493	-0.631	-0.352	-0.518	0.346	0.651	-0.833	-0.553
R m2	-0.211	0.115	0.350	-0.357	-0.102	-0.272	0.375	0.405	-0.461	-0.049
Cr_T m3	-0.398	-0.004	0.455	-0.664	-0.446	-0.481	0.414	0.709	-0.832	-0.438
E_1 m3	-0.288	0.087	0.338	-0.494	-0.108	-0.310	0.433	0.539	-0.597	-0.131
E_2 m3	-0.434	0.053	0.466	-0.723	-0.469	-0.504	0.430	0.692	-0.824	-0.419
E_3 m3	-0.367	0.038	0.439	-0.656	-0.330	-0.427	0.436	0.670	-0.780	-0.341
R m3	-0.290	-0.068	0.262	-0.515	-0.167	-0.274	0.340	0.518	-0.667	-0.220
Cr_T m4	-0.379	-0.019	0.410	-0.584	-0.453	-0.466	0.362	0.561	-0.737	-0.397
E_1 m4	-0.233	0.158	0.467	-0.459	-0.232	-0.300	0.440	0.626	-0.648	-0.260
E_2 m4	-0.448	0.346	0.676	-0.554	-0.288	-0.562	0.511	0.731	-0.624	-0.378
E_3 m4	-0.325	0.105	0.477	-0.505	-0.350	-0.411	0.396	0.602	-0.663	-0.340
R m4	-0.373	-0.046	0.390	-0.529	-0.451	-0.471	0.321	0.512	-0.699	-0.413

Tabla 7- 5: Matriz de correlación R de todos los parámetros determinados en los sedimentos de la Ría de Arousa. Parte 2.

	C m3	N m3	H m3	pH m3	E_h m3	C m4	N m4	H m4	pH m4	E_h m4
C m3	1									
N m3	0.028	1								
H m3	-0.333	0.781	1							
pH m3	0.803	-0.390	-0.687	1						
E_h m3	0.097	-0.450	-0.427	0.282	1					
C m4	0.821	-0.207	-0.303	0.780	0.193	1				
N m4	0.035	0.489	0.684	-0.296	-0.294	0.180	1			
H m4	-0.428	0.405	0.758	-0.636	-0.250	-0.174	0.725	1		
pH m4	-0.035	0.071	0.184	-0.056	-0.170	0.020	0.170	-0.081	1	
E_h m4	-0.088	0.267	0.361	-0.180	-0.273	-0.081	0.628	0.390	-0.180	1
Cr_T m1	-0.523	0.307	0.641	-0.604	-0.210	-0.422	0.401	0.761	-0.300	0.452
E_1 m1	-0.063	0.567	0.722	-0.311	-0.221	-0.062	0.511	0.683	-0.324	0.413
E_2 m1	-0.476	0.552	0.772	-0.670	-0.256	-0.394	0.551	0.830	-0.307	0.521
E_3 m1	-0.160	-0.025	0.232	-0.225	-0.058	-0.069	0.324	0.460	-0.322	0.313
R m1	-0.523	0.346	0.624	-0.588	-0.210	-0.450	0.369	0.705	-0.294	0.410
Cr_T m2	-0.487	0.242	0.571	-0.579	-0.101	-0.388	0.508	0.721	-0.328	0.651
E_1 m2	-0.413	0.328	0.533	-0.511	-0.159	-0.372	0.286	0.640	-0.557	0.456
E_2 m2	-0.572	0.345	0.605	-0.697	-0.250	-0.522	0.334	0.716	-0.489	0.465
E_3 m2	-0.586	0.249	0.548	-0.710	-0.164	-0.487	0.178	0.724	-0.364	0.094
R m2	-0.268	0.159	0.400	-0.310	-0.028	-0.205	0.553	0.493	-0.200	0.788
Cr_T m3	-0.566	0.253	0.605	-0.681	-0.059	-0.443	0.415	0.741	-0.314	0.507
E_1 m3	-0.328	0.291	0.414	-0.423	-0.121	-0.269	0.377	0.542	-0.455	0.525
E_2 m3	-0.584	0.298	0.596	-0.675	-0.113	-0.467	0.357	0.709	-0.429	0.505
E_3 m3	-0.506	0.286	0.569	-0.608	-0.141	-0.417	0.393	0.703	-0.408	0.543
R m3	-0.431	0.244	0.438	-0.492	-0.157	-0.367	0.223	0.551	-0.460	0.457
Cr_T m4	-0.527	0.173	0.500	-0.570	-0.029	-0.389	0.402	0.701	-0.385	0.567
E_1 m4	-0.372	0.320	0.542	-0.486	-0.197	-0.301	0.327	0.612	-0.462	0.524
E_2 m4	-0.415	0.610	0.755	-0.698	-0.251	-0.421	0.485	0.658	-0.166	0.492
E_3 m4	-0.434	0.291	0.561	-0.541	-0.129	-0.358	0.401	0.654	-0.358	0.565
R m4	-0.526	0.114	0.469	-0.543	0.028	-0.370	0.400	0.692	-0.338	0.556

Tabla 7- 6: Matriz de correlación R del cromo total y las fracciones de cromo en las muestras de sedimento de las cuatro campañas: comparación del cromo con el resto de parámetros. Parte 3.

	Cr_T m1	E_1 m1	E_2 m1	E_3 m1	R m1	Cr_T m2	E_1 m2	E_2 m2	E_3 m2	R m2
Cr_T m1	1									
E_1 m1	0.730	1								
E_2 m1	0.892	0.794	1							
E_3 m1	0.468	0.547	0.439	1						
R m1	**0.927**	0.647	0.825	0.257	1					
Cr_T m2	**0.930**	0.664	0.885	0.482	0.867	1				
E_1 m2	**0.908**	0.744	**0.911**	0.455	0.840	0.879	1			
E_2 m2	**0.919**	0.667	**0.913**	0.474	0.866	0.886	0.952	1		
E_3 m2	0.797	0.638	0.776	0.549	0.659	0.669	0.781	0.842	1	
R m2	0.719	0.471	0.672	0.290	0.721	0.889	0.661	0.633	0.255	1
Cr_T m3	**0.926**	0.623	0.893	0.446	0.867	0.960	0.886	**0.933**	0.787	0.758
E_1 m3	0.739	0.519	0.837	0.288	0.715	0.836	0.870	0.823	0.540	0.750
E_2 m3	**0.917**	0.609	**0.909**	0.370	0.884	**0.928**	**0.932**	0.972	0.778	0.721
E_3 m3	**0.928**	0.664	**0.913**	0.441	0.870	0.958	**0.937**	0.954	0.783	0.758
R m3	0.770	0.580	0.776	0.426	0.700	0.786	0.840	0.839	0.766	0.543
Cr_T m4	**0.923**	0.614	0.881	0.445	0.865	0.972	**0.913**	**0.910**	0.708	0.829
E_1 m4	0.879	0.712	0.881	0.405	0.746	0.876	**0.941**	0.894	0.755	0.674
E_2 m4	0.729	0.669	0.876	0.316	0.596	0.735	0.763	0.761	0.662	0.548
E_3 m4	**0.909**	0.698	**0.907**	0.434	0.810	**0.943**	**0.934**	0.896	0.719	0.784
R m4	**0.904**	0.605	0.841	0.477	0.854	0.959	0.871	0.861	0.671	0.835
	Cr_T m3	**E_1 m3**	**E_2 m3**	**E_3 m3**	**R m3**	**Cr_T m4**	**E_1 m4**	**E_2 m4**	**E_3 m4**	**R m4**
Cr_T m3	1									
E_1 m3	0.813	1								
E_2 m3	0.972	0.848	1							
E_3 m3	0.976	0.878	0.971	1						
R m3	0.831	0.724	0.839	0.887	1					
Cr_T m4	0.970	0.860	0.956	0.966	0.816	1				
E_1 m4	**0.916**	0.875	**0.929**	0.971	0.887	0.895	1			
E_2 m4	0.790	0.727	0.800	0.790	0.613	0.724	0.790	1		
E_3 m4	**0.943**	0.877	**0.929**	0.966	0.832	0.960	0.958	0.825	1	
R m4	**0.942**	0.803	**0.911**	**0.925**	0.779	0.987	0.833	0.671	**0.926**	1

2.2. Análisis *cluster*: estudio de similitud entre estaciones en cada muestreo

Se han empleado dendogramas para explorar la similitud entre objetos, es decir, entre las estaciones muestreadas. Estos diagramas *cluster*, en donde se agrupan estaciones de Arousa de alguno de los muestreos realizados, ya se han recogido en el capítulo anterior para describir el contenido de carbono de los sedimentos de las estaciones de Arousa.

Con este tipo de representaciones buscamos una agrupación jerárquica de acuerdo con las similitudes que pudieran presentar las distintas estaciones de sedimento marino muestreado en Arousa durante las cuatro campañas descritas en este trabajo.

El aspecto clasificatorio de un dendograma en forma de árbol hasta alcanzar tantas ramas como objetos (estaciones) se pretende agrupar o clasificar (Ramis Ramos, G. y García Álvarez-Coque, M. C. 2001) facilita la exploración visual de la similitud entre estaciones para cada una de las variables. El criterio de similitud empleado para la construcción de todos los dendogramas de este trabajo ha sido el calcular la distancia euclídea (Tabla 7- 7) por el método Ward.

Tabla 7- 7: Expresión de cálculo de una distancia euclídea.

Ecuación	Observaciones
$d(x,y)=\left(\sum_j (x_j - y_j)^2\right)^{1/2}$	La distancia euclídea entre dos puntos **x** e **y** (es decir, el *cluster* **x** y el *cluster* **y**) es una distancia geométrica, **d**, en un espacio de **j** dimensiones (Miller, N. y Miller, J. C. 2002)

De este modo, aplicando el método Ward se trabaja con un procedimiento aglomerativo que va considerando en cada etapa de cálculo la heterogeneidad de todos los posibles *clusters* o grupos. Es decir, se va calculando etapa a etapa la distancia entre dos *clusters*.

Se han recogido a continuación, de la Figura 7- 1 a la Figura 7- 16, en cinco subapartados, los dendogramas correspondientes respectivamente al cromo total y a las tres fracciones extraídas de cromo por el procedimiento BCR en las estaciones de Arousa para cada muestreo.

En la mayoría de los árboles se observa claramente la separación del grupo de estaciones 22 y 24, que son las estaciones de mayor contenido metálico, con el resto de estaciones.

También se observa que las estaciones de contenido intermedio no presentan una agrupación claramente definida ni se repiten con el tiempo.

2.2.1. Cromo total

En el primer muestreo el cromo total muestra dos subgrupos de estaciones de diferente comportamiento: el grupo de estaciones 1, 3, 20, 23, 22 y 24 (> 104 µg g^{-1}) y el resto de estaciones con niveles de cromo inferiores.

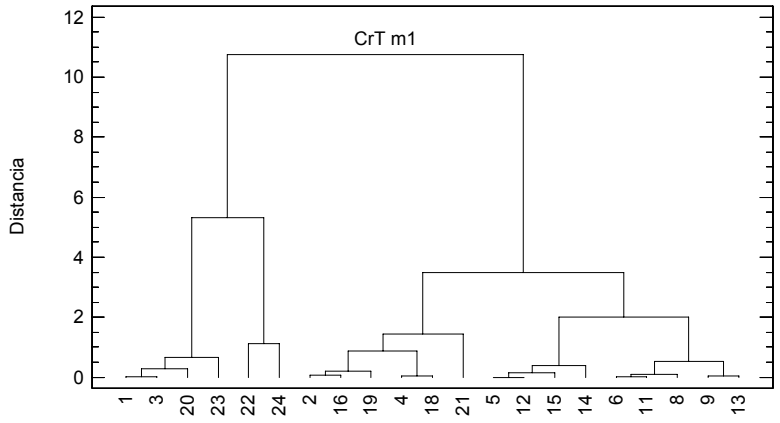

Figura 7- 1: Dendograma de las concentraciones de cromo total en el primer muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas.

En el segundo muestreo el comportamiento de las estaciones 22 y 24 difieren significativamente del resto de estaciones, presentando concentraciones muy superiores al resto (> 215 µg g^{-1}).

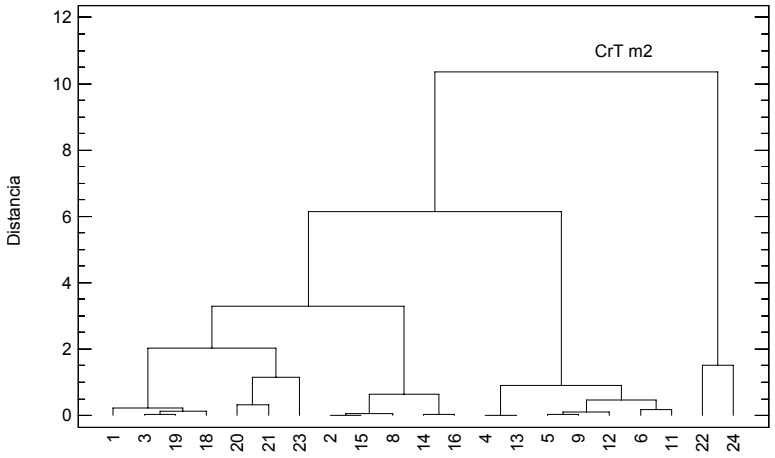

Figura 7- 2: Dendograma de las concentraciones de cromo total en el segundo muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas.

En el tercer muestreo el comportamiento de las estaciones 22 y 24 también difieren significativamente del resto de estaciones respecto al contenido total de cromo.

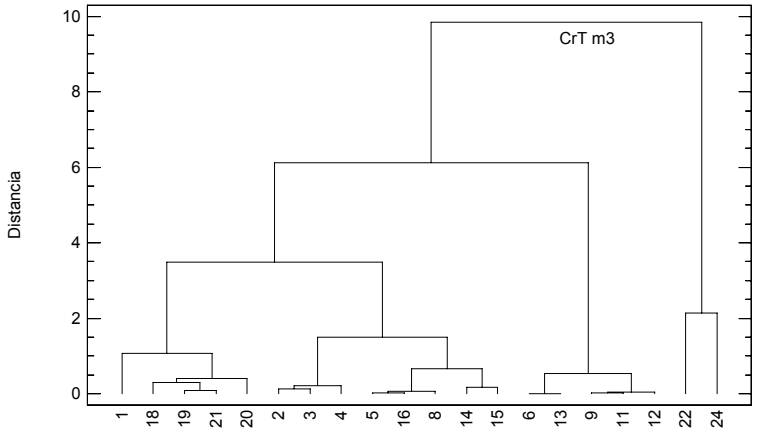

Figura 7- 3: Dendograma de las concentraciones de cromo total en el tercer muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas.

En el cuarto muestreo, el comportamiento observado en las estaciones 22 y 24 respecto al resto de estaciones es similar al encontrado en los dos anteriores muestreos. El resto de estaciones siguen presentando un comportamiento variable.

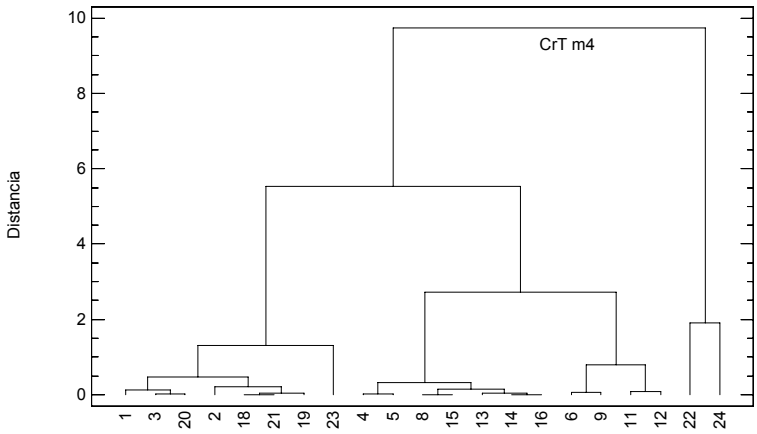

Figura 7- 4: Dendograma de las concentraciones de cromo total en el cuarto muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas.

2.2.2. Cromo de la fracción 'ácida soluble'

El cromo del primer extracto de BCR en m1 presenta un comportamiento distinto al encontrado con el contenido total. Se observan dos subgrupos: el primer grupo (1, 23, 21, 2, 19, 12, 20, 24 y 22) presenta valores >0.185 µg g^{-1}. El resto de estaciones analizado presenta un contenido en cromo inferior.

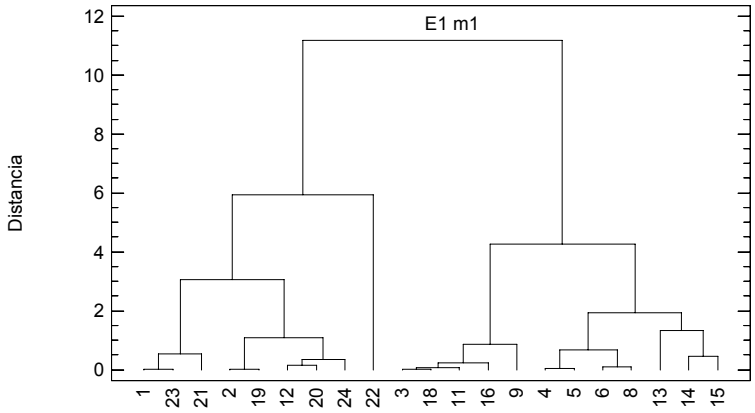

Figura 7- 5: Dendograma de las concentraciones de cromo del primer extracto en el primer muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas.

En la fracción 'ácida soluble' del segundo muestreo el comportamiento de las estaciones 22 y 24 vuelve a diferir del resto de puntos de muestreo.

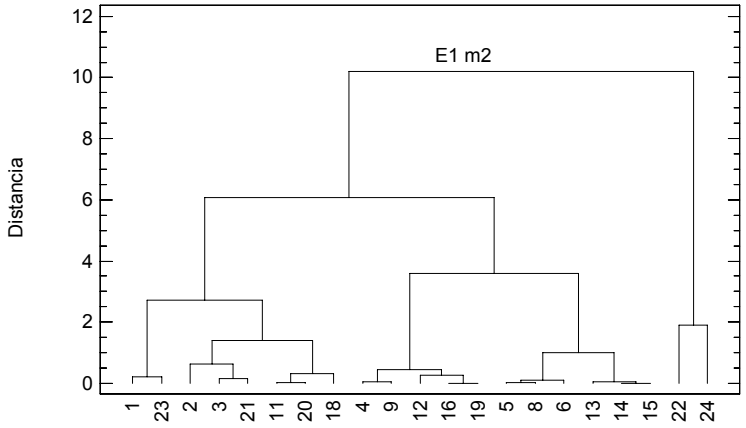

Figura 7- 6: Dendograma de las concentraciones de cromo del primer extracto en el segundo muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas.

Aún cuando la concentración de cromo en esta fracción sigue aumentando globalmente, se observa una estructura similar al muestreo anterior tanto en el tercer muestreo (Figura 7- 7) como en el cuarto muestreo (Figura 7- 8).

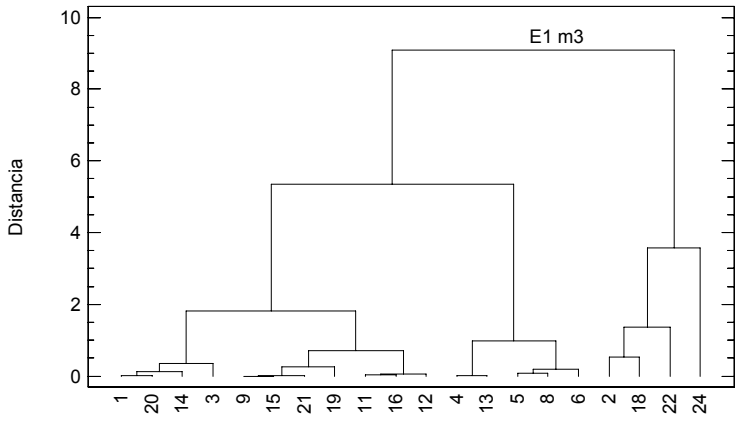

Figura 7- 7: Dendograma de las concentraciones de cromo del primer extracto en el tercer muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas.

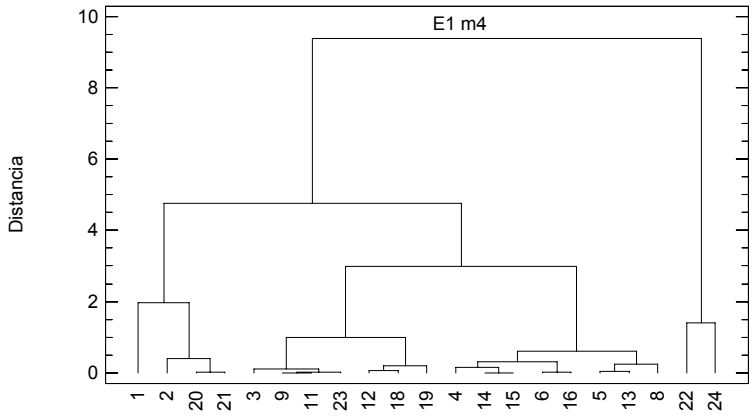

Figura 7- 8: Dendograma de las concentraciones de cromo del primer extracto en el cuarto muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas.

2.2.3. Cromo de la fracción 'reducible'

Las estaciones 1, 23, 21, 18, 2, 19, 20, 22 y 24 forman un grupo de estaciones con valores de cromo en la fracción 'reducible' >0.46 µg g^{-1}. El resto de estaciones no alcanzan este valor.

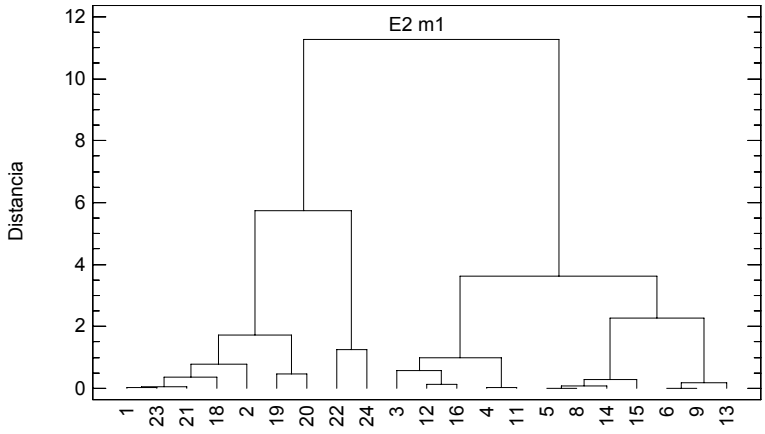

Figura 7- 9: Dendograma de las concentraciones de cromo del segundo extracto en el primer muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas.

Sin embargo durante m2 el grupo de estaciones de mayores niveles de cromo merma respecto al anterior muestreo (estaciones 1, 22, 23 y 24 con >0.70 µg g^{-1}).

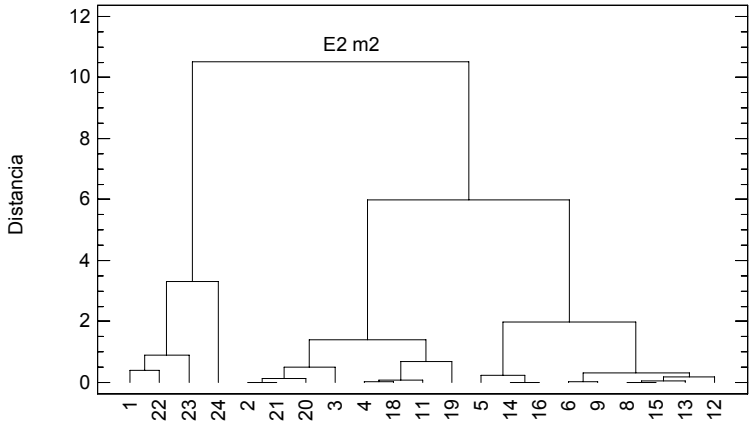

Figura 7- 10: Dendograma de las concentraciones de cromo del segundo extracto en el segundo muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas.

En el tercer muestreo la estación 24 (2.3 µg g^{-1}) presenta una concentración superior al doble de la estación de siguiente mayor nivel de cromo en la fracción 'reducible' (estación 22) no formando ningún subgrupo. El resto de estaciones presenta niveles sensiblemente inferiores a estas dos estaciones.

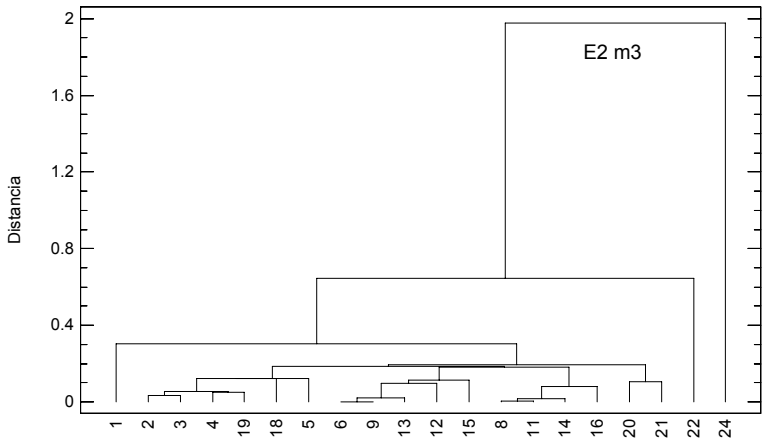

Figura 7- 11: Dendograma de las concentraciones de cromo del segundo extracto en el tercer muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas.

En el cuarto muestreo las estaciones con cromo >0.35 µg g^{-1} son las siguientes 1, 19, 11, 4, 16, 18, 21, 2, 24 y 22. Aún cuando este grupo aparece en un *subcluster*, presenta concentraciones muy distintas (hasta 1.33 µg g^{-1}). El resto de estaciones presenta valores o no detectables o próximos al límite de cuantificación.

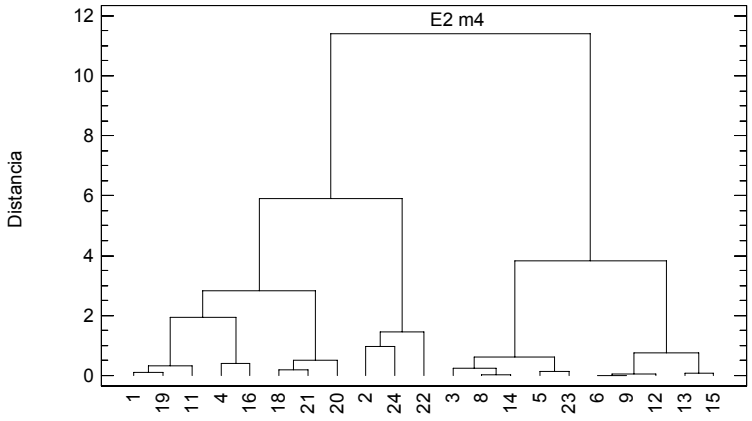

Figura 7- 12: Dendograma de las concentraciones de cromo del segundo extracto en el cuarto muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas.

2.2.4. Cromo de la fracción 'oxidable'

Durante el primer muestreo, el contenido en cromo de la fracción 'oxidable' presenta un comportamiento similar en las estaciones 1, 22, 14 y 23 (>53 µg g^{-1}). En este caso la concentración de cromo en la estación 24 es muy inferior a este grupo (28 µg g^{-1}).

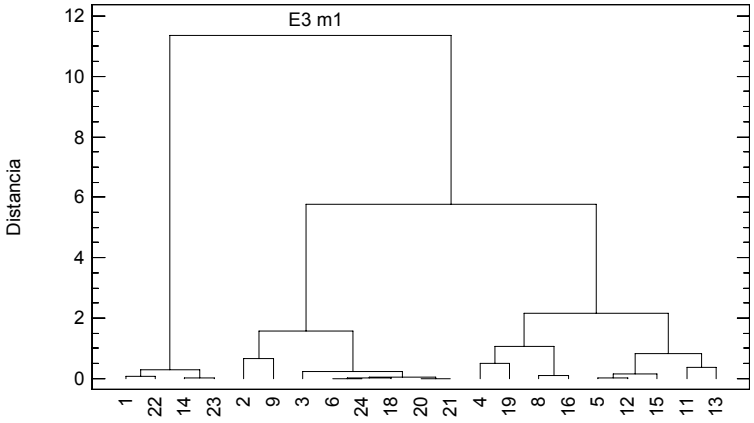

Figura 7- 13: Dendograma de las concentraciones de cromo del tercer extracto en el primer muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas.

En el tercer muestreo el grupo de estaciones de mayor contenido merma. Aparece la estación 24 y no se incluyen ahora las estaciones 14 y 23.

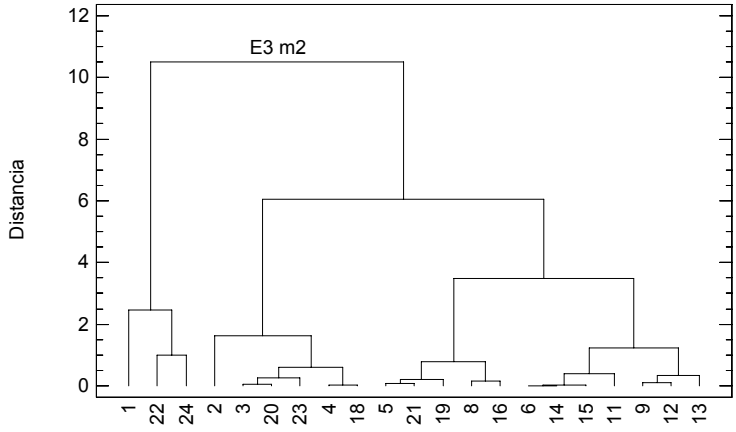

Figura 7- 14: Dendograma de las concentraciones de cromo del tercer extracto en el segundo muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas.

En el tercer muestreo nos encontramos de nuevo con el subgrupo de estaciones de mayor concentración: 1, 22 y 24. Este subgrupo aparecía en la fracción 'oxidable' del anterior muestreo.

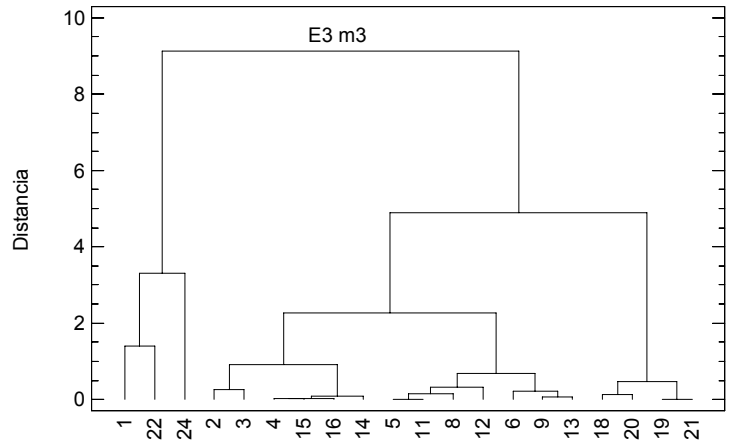

Figura 7- 15: Dendograma de las concentraciones de cromo del tercer extracto en el tercer muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas.

En la fracción 'oxidable' del cuarto muestreo el comportamiento de las estaciones 22 y 24 vuelve a diferir del resto de puntos de muestreo.

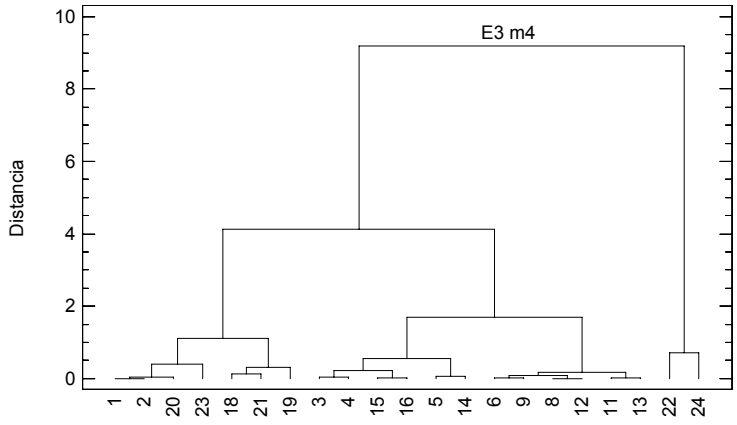

Figura 7- 16: Dendograma de las concentraciones de cromo del tercer extracto en el cuarto muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas.

3. Análisis de Componentes Principales (PCA)

Los componentes principales modelan las principales tendencias presentes en la nube de datos, que en nuestro caso corresponden a los parámetros recogidos en la Tabla 7- 2 en cada estación y en cada muestreo. En este apartado, con el análisis multivariante se buscan las variables fundamentales o factores subyacentes que obedecen a causas o fuentes de varianza con sentido físico-químico o ambiental de Arousa.

3.1. Estudio de similitud entre variables químicas

3.1.1. Resultado de los cuatro muestreos en conjunto

Una vez normalizados los datos, con el análisis de PCA se ha determinado el número de componentes necesarios para explicar todo el conjunto de datos en función de los 10 parámetros químicos descritos en el apartado introductorio. El porcentaje de varianza explicada obtenida para los tres componentes principales de mayor peso es de 75%. Los valores de la varianza explicada se muestran en la Tabla 7- 8.

Tabla 7- 8: Variabilidad acumulativa y explicada para cada componente principal calculado.

Número de componentes principales	Varianza total / %	Varianza acumulada / %
1	51.0386	51.0386
2	13.8978	64.9364
3	10.0002	**74.9366**
4	9.3355	84.2721
5	7.0522	91.3243
6	3.1046	94.4288
7	2.0052	96.4341
8	1.7645	98.1986
9	1.0062	99.2047
10	0.7952	100.0000

Cuando realizamos una representación de cada variable en los dos primeros componentes principales, vemos que se observan un grupo bien definido: los

parámetros químicos relativos a cromo (Figura 7- 17). Se refuerzan los resultados obtenidos de la tabla de correlaciones R de estos mismos parámetros químicos.

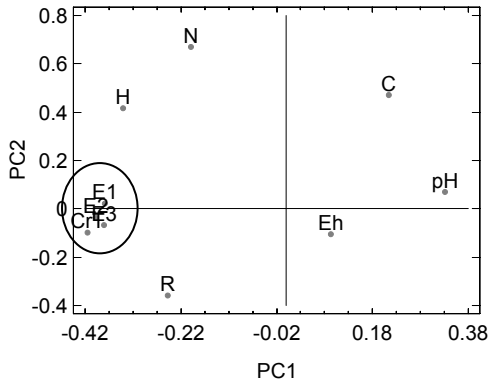

Figura 7- 17: Grafico de puntuaciones de las variables químicas de Arousa sobre los componentes principales PC1 y PC2 por estaciones.

Si ampliamos la representación a los tres componentes principales de mayor varianza, la visualización del grupo de parámetros químicos relativos a cromo se hace aún más clara y evidente. Esta representación se recoge en la Figura 7- 18.

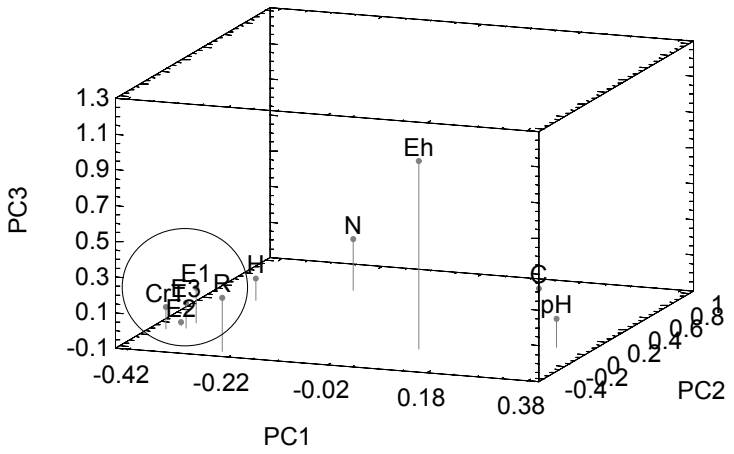

Figura 7- 18: Gráfico de puntuaciones de las variables químicas de Arousa sobre los componentes principales PC1, PC2 y PC3.

3.1.2. Resultado individual de cada muestreo

Se han tratado los datos de cada muestro como matrices individuales. De este modo se han normalizado cuatro matrices de datos correspondientes a las cuatro campañas de muestreo de sedimento realizadas en la Ría de Arousa. De cada matriz normalizada de datos se han calculado los PCA. En los cuatro casos los modelos son satisfactorios con los tres componentes principales de mayor varianza. Con tres componentes se explica un 81% de varianza para el primer muestreo, un 86% para el segundo muestreo, un 83% para el tercer muestreo y un 85% para el cuarto muestreo. Los gráficos de sedimentación de cada campaña se muestran a continuación en la Figura 7- 19, la Figura 7- 20, la Figura 7- 21 y la Figura 7- 22.

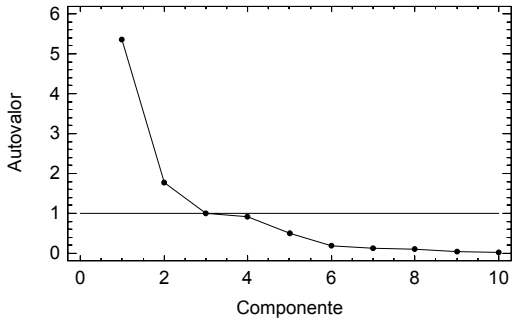

Figura 7- 19: Gráfico de sedimentación de los parámetros químicos del primer muestreo.

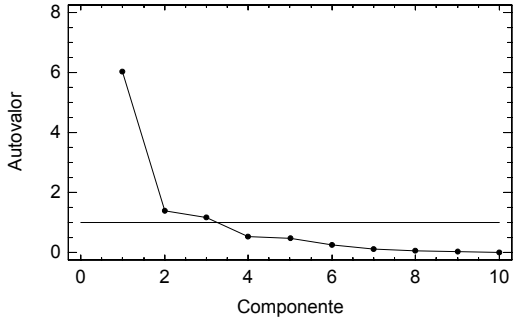

Figura 7- 20: Gráfico de sedimentación de los parámetros químicos del segundo muestreo.

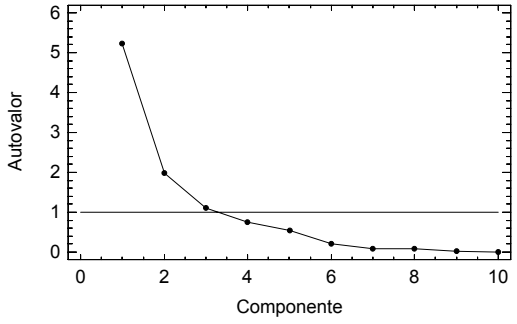

Figura 7- 21: Gráfico de sedimentación de los parámetros químicos del tercer muestreo.

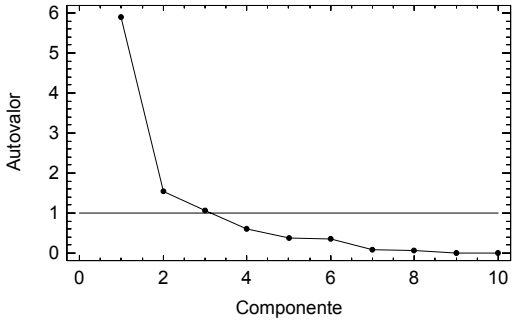

Figura 7- 22: Gráfico de sedimentación de los parámetros químicos del cuarto muestreo.

A continuación se recogen las representaciones de los tres componentes principales de mayor varianza. Se ha obtenido un grupo próximo de parámetros químicos relativos a cromo en cada uno de los muestreos. En el primer muestreo es donde este grupo de parámetros se encuentra menos agrupado. De los parámetros químicos de cromo, la fracción extraída en la tercera etapa de BCR es el que se aleja en mayor medida del resto de parámetros. Los resultados se muestran a continuación en la Figura 7- 23, la Figura 7- 24, la Figura 7- 25 y la Figura 7- 26.

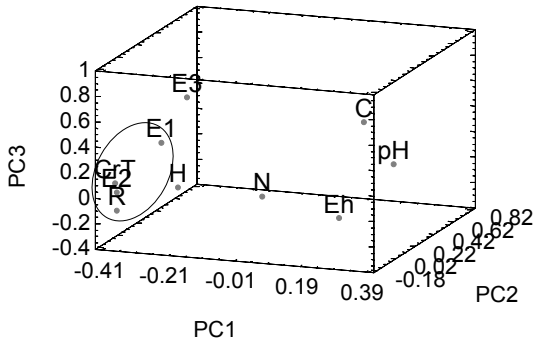

Figura 7- 23: Gráfico de puntuaciones del primer muestreo de Arousa.

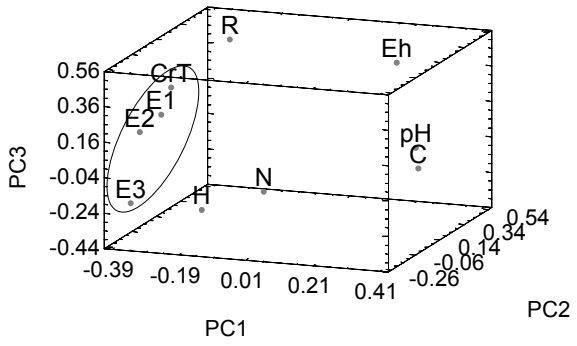

Figura 7- 24: Gráfico de puntuaciones del segundo muestreo de Arousa.

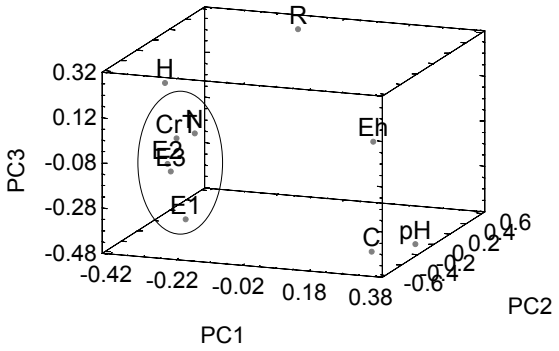

Figura 7- 25: Gráfico de puntuaciones del tercer muestreo de Arousa.

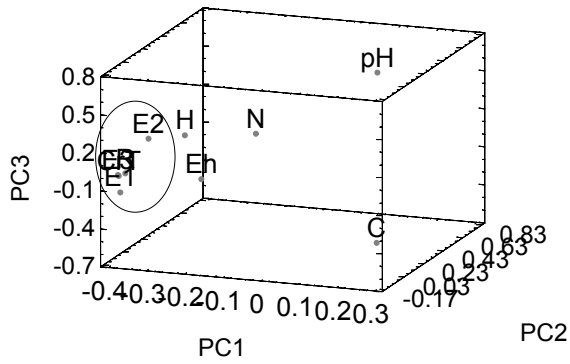

Figura 7- 26: Gráfico de puntuaciones del cuarto muestreo de Arousa.

3.2. Estudio de similitud por estaciones muestreadas

Si consideramos cada parámetro químico de cada muestreo por independiente y de nuevo realizamos un análisis por PCA, los resultados indican nuevas agrupaciones. Los valores de las mayores varianzas explicadas obtenidas se muestran en la Tabla 7- 9. En este caso las variables son un total de 40 (10 por muestreo) y se estudia su comportamiento para las 21 estaciones. El porcentaje de varianza explicada obtenida para los seis componentes principales de mayor peso es de 88%.

Tabla 7- 9: Variabilidad acumulativa y explicada para cada componente principal calculado.

Número de componentes principales	Varianza total / %	Varianza acumulada / %
1	53.712	53.712
2	11.989	65.701
3	8.998	74.699
4	5.494	80.193
5	4.263	84.456
6	4.047	**88.503**
7	2.495	90.997
8	2.054	93.051
9	1.855	94.907
10	1.535	96.442

En este caso el número de componentes principales que explican un porcentaje elevado de varianza aumenta sensiblemente respecto al caso del apartado anterior. Este aumento de componentes principales con varianza explicada elevada se observa en el gráfico de sedimentación (Figura 7- 27).

La representación de las variables en los dos primeros componentes principales (Figura 7- 28) y en los tres primeros componentes principales (Figura 7- 29) se muestra a continuación. Se observan claramente agrupaciones de cada parámetro químico para los cuatro muestreos. Obtenemos varios subgrupos de variables claramente definidos: (1) un grupo de parámetros químicos de cromo, (2) un grupo de pH, (3) un grupo de carbono, y (4) un grupo de nitrógeno.

El hidrógeno aunque próximo forma un grupo menos definido y el potencial redox es sin embargo el único parámetro químico que no se puede agrupar en los cuatro muestreos.

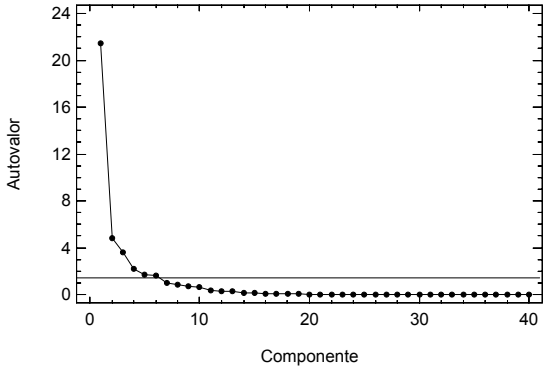

Figura 7- 27: Gráfico de sedimentación de los parámetros químicos de los sedimentos de la Ría de Arousa.

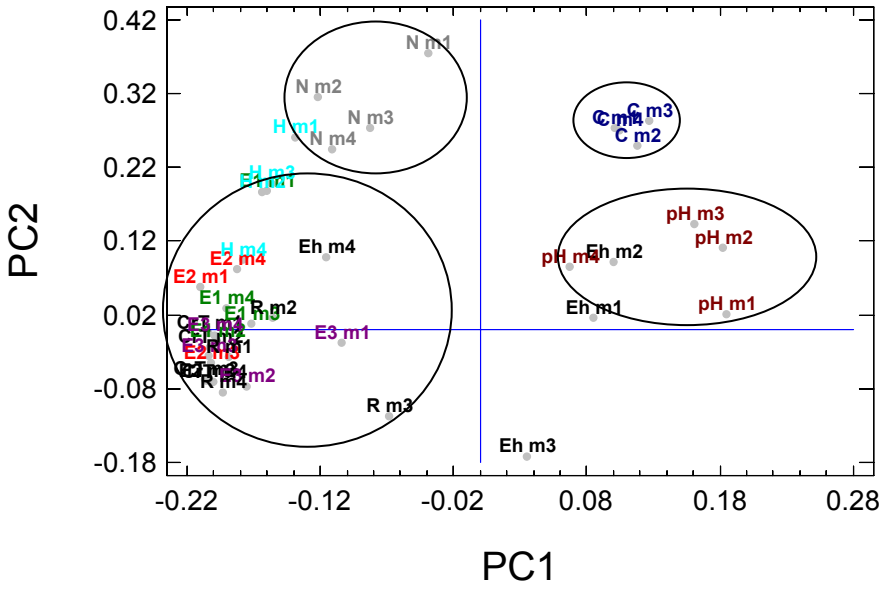

Figura 7- 28: Gráfico de puntuaciones obtenidas considerando las estaciones de Arousa sobre los componentes principales PC1 y PC2 por estaciones.

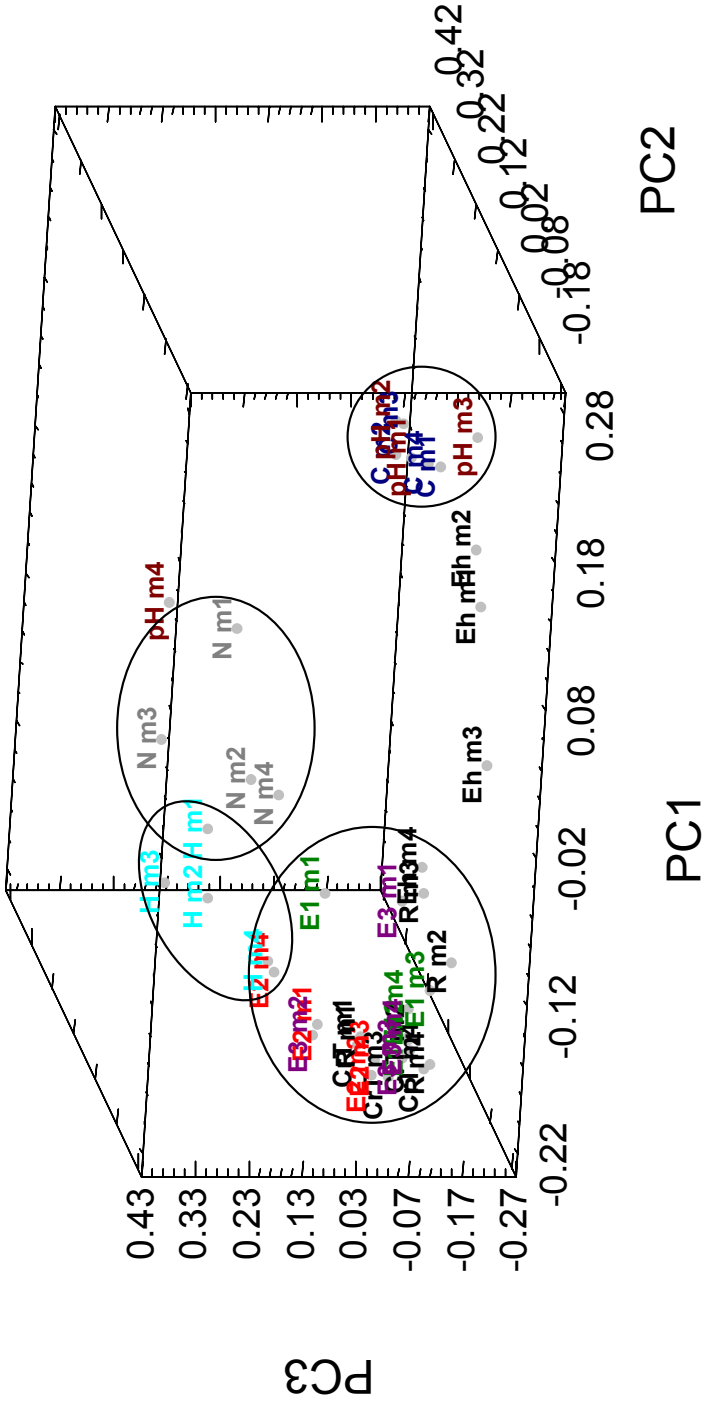

Figura 7- 29: Gráfico de puntuaciones obtenidas considerando las estaciones de Arousa sobre los componentes principales PC1, PC2 y PC3.

4. Estudio de grupos homogéneos: ANOVA y Test de Rangos Múltiples

El análisis de la varianza o ANOVA es una herramienta estadística que permite comparar simultáneamente varias medias muestrales. Las medias se comparan para establecer si son todas iguales (hipótesis nula), o si al menos una de ellas es distinta de las demás (hipótesis alternativa) (Ramis Ramos, G. y García Álvarez-Coque, M. C. 2001). El nombre de ANOVA hace alusión a que la comparación de más de dos medias se realiza mediante el cálculo y la comparación de dos varianzas.

El Test de Rangos múltiples también busca diferencias significativas entre grupos de medias a través del análisis de varianza. El procedimiento de cálculo es el de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) y se obtienen así los grupos de medias homogéneos (sin diferencias estadísticamente significativas a un 95% de nivel de confianza). Los resultados del estudio ANOVA y del Test de Rangos Múltiples se recogen a continuación en la Tabla 7- 10.

Con los resultados de este apartado se ha estudiado si con el tiempo cada parámetro químico determinado en cada muestreo de Arousa, a través de su media y su varianza, va cambiando. Se han comparado así los cuatro muestreos para cada variable.

Se observa que aunque el contenido promedio en carbono de los sedimentos es comparable a lo largo de los cuatro muestreos, no es así para el contenido en nitrógeno o hidrógeno. No forman grupos homogéneos los muestreos correspondientes a la misma estación del año (inviernos o veranos) para nitrógeno o para hidrógeno. Tampoco se obtienen grupos homogéneos en el caso del pH o del potencial redox.

Sin embargo con el resto de parámetros químicos cuantificados, relativos al contenido de cromo, vemos que cada parámetro constituye un grupo homogéneo a lo largo de los cuatro muestreos. En el caso del contenido total de cromo, es evidente el crecimiento del contenido metálico con el tiempo. Pero las diferencias entre las estaciones de mayores niveles con las de menores hacen que en conjunto el contenido de cromo total promedio de cada muestreo sea comparable a los otros tres.

En el caso de la fracción residual de cromo calculada, únicamente se observa un grupo homogéneo con el promedio de este parámetro de los dos primeros muestreos. El promedio de cromo en la fracción residual no aumenta progresivamente con el

tiempo. En los muestreos m1 y m2 los valores promedios de cromo son de 65 µg g^{-1}, y sin embargo el tercer muestreo presenta un promedio de 78 µg g^{-1} seguido en m4 de un promedio de 92 µg g^{-1}. Este cambio de concentración tan grande no se ha observado en ningún otro parámetro.

Tabla 7- 10: Resultados del estudio de grupos homogéneos de los parámetros químicos determinados en los sedimentos recolectados en Arousa.

Parámetro químico	Observaciones
C	Aplicando ANOVA no se encuentra diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los 4 muestreos a un nivel de confianza del 95.0% El test de rangos múltiples aplicado también indica que este parámetro forma un grupo homogéneo.
N	En este caso, aplicando ANOVA se encuentra una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de contenido en N en los 4 muestreos a un nivel de confianza del 95.0%. Con el test de rangos múltiples se observa un grupo homogéneo formado por los muestreos m2, m3 y m4. A este grupo no pertenece el contenido en N de m1.
H	Existen diferencias significativas a un nivel de confianza del 95%. En este caso se identifican dos grupos homogéneos: (i) m1 y m2, y (ii) m2, m3 y m4.
pH	Existen diferencias significativas a un nivel de confianza del 95%. Con el test de rangos múltiples se observa un grupo homogéneo formado por los muestreos m2, m3 y m4. A este grupo no pertenece el pH de m1.
E_h	Existen diferencias significativas a un nivel de confianza del 95%. Únicamente los muestreos m3 y m4 forman un grupo homogéneo.
Cr_T	No hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 4 variables a un 95.0%. Los cuatro muestreos constituyen un grupo homogéneo, y se explica por la varianza elevada que presenta cada uno de los muestreos, aunque el promedio aumente con el tiempo.
E_1	No hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 4 variables a un 95.0%. De nuevo los cuatro muestreos constituyen un grupo homogéneo.
E_2	No hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 4 variables a un 95.0%. De nuevo los cuatro muestreos constituyen un grupo homogéneo.
E_3	No hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 4 variables a un 95.0%. De nuevo los cuatro muestreos constituyen un grupo homogéneo.
R	Existen diferencias significativas a un nivel de confianza del 95%. Únicamente los muestreos m1 y m2 forman un grupo homogéneo.

CONCLUSIONES

La exploración de datos concuerda con las observaciones realizadas hasta el momento en este trabajo y no muestra ninguna observación adicional concluyente.

Los parámetros químicos que presentan mayor correlación son los relativos a la determinación de cromo en los sedimentos de Arousa. Los valores obtenidos en la matriz de correlación R así lo indican, al igual que los cálculos realizados por PCA. El resto de parámetros químicos no presenta una estrecha relación ni entre sí ni con los parámetros de cromo analizados. Únicamente se agrupan cada parámetro químico a lo largo de los cuatro muestreos, a excepción del potencial redox.

Los resultados del análisis ANOVA y la aplicación del test de rangos múltiples indican que los muestreos son comparables y que cada parámetro relativo a cromo forma un grupo homogéneo. Aunque en general el valor de cromo total y cromo en las distintas fracciones va aumentando con el tiempo, la variabilidad entre estaciones en cada muestreo los hace comparables en valor promedio. Evidentemente no todas las estaciones experimentan un aumento en niveles de cromo con el transcurso del tiempo y permanecen prácticamente constantes o incluso llegan a disminuir ligeramente.

Es una excepción la fracción residual calculada a partir del contenido total y las fracciones extraídas de los sedimentos de Arousa. Este parámetro, el cromo residual, no forma un grupo homogéneo básicamente por el cambio brusco de promedio que experimenta. Del segundo al tercer muestreo pasa de una media de 65 µg g^{-1} a 78 µg g^{-1} y del tercer al cuarto muestreo pasa a 92 µg g^{-1}. Este cambio tan sensible en concentración hace que el resultado en esta fracción difiera del comportamiento general del cromo total o de las fracciones de cromo extraídas.

BIBLIOGRAFÍA

Miller, N. y J. C. Miller. **2002.** Estadística y quimiometría para química analítica. Prentice-Hall, D.L.

Moreda Piñeiro, A., A. Marcos, A. Fisher y S. J. Hill. **2001**. Evaluation of the effect of data pre-treatment procedures on classical pattern recognition and principal components analysis: a case study for the geographical classification of tea. **Journal of Environmental Monitoring** 3(4):352-360.

Ramis Ramos, G. y M. C. García Álvarez-Coque. **2001.** Quimiometría. Síntesis D.L.

LISTADO DE TABLAS

Tabla 7- 1: Datos correspondientes a los muestreos realizados en Arousa. 317

Tabla 7- 2: Variables analizadas en las muestras de sedimento recolectadas en Arousa..... 317

Tabla 7- 3: Herramientas de cálculo para la normalización de la matriz de datos químicos. 319

Tabla 7- 4: Matriz de correlación R de todos los parámetros determinados en los sedimentos de la Ría de Arousa. Parte 1. 322

Tabla 7- 5: Matriz de correlación R de todos los parámetros determinados en los sedimentos de la Ría de Arousa. Parte 2. 323

Tabla 7- 6: Matriz de correlación R del cromo total y las fracciones de cromo en las muestras de sedimento de las cuatro campañas: comparación del cromo con el resto de parámetros. Parte 3. 324

Tabla 7- 7: Expresión de cálculo de una distancia euclídea. 325

Tabla 7- 8: Variabilidad acumulativa y explicada para cada componente principal calculado..... 335

Tabla 7- 9: Variabilidad acumulativa y explicada para cada componente principal calculado..... 340

Tabla 7- 10: Resultados del estudio de grupos homogéneos de los parámetros químicos determinados en los sedimentos recolectados en Arousa..... 344

LISTADO DE FIGURAS

Figura 7- 1: Dendograma de las concentraciones de cromo total en el primer muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas. 327

Figura 7- 2: Dendograma de las concentraciones de cromo total en el segundo muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas. 327

Figura 7- 3: Dendograma de las concentraciones de cromo total en el tercer muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas. 328

Figura 7- 4: Dendograma de las concentraciones de cromo total en el cuarto muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas. 328

Figura 7- 5: Dendograma de las concentraciones de cromo del primer extracto en el primer muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas. 329

Figura 7- 6: Dendograma de las concentraciones de cromo del primer extracto en el segundo muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas. 329

Figura 7- 7: Dendograma de las concentraciones de cromo del primer extracto en el tercer muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas. 330

Figura 7- 8: Dendograma de las concentraciones de cromo del primer extracto en el cuarto muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas. 330

Figura 7- 9: Dendograma de las concentraciones de cromo del segundo extracto en el primer muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas. 331

Figura 7- 10: Dendograma de las concentraciones de cromo del segundo extracto en el segundo muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas. 331

Figura 7- 11: Dendograma de las concentraciones de cromo del segundo extracto en el tercer muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas. 332

Figura 7- 12: Dendograma de las concentraciones de cromo del segundo extracto en el cuarto muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas. 332

Figura 7- 13: Dendograma de las concentraciones de cromo del tercer extracto en el primer muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas. 333

Figura 7- 14: Dendograma de las concentraciones de cromo del tercer extracto en el segundo muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas. 333

Figura 7- 15: Dendograma de las concentraciones de cromo del tercer extracto en el tercer muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas. 334

Figura 7- 16: Dendograma de las concentraciones de cromo del tercer extracto en el cuarto muestreo de las estaciones de Arousa muestreadas. 334

Figura 7- 17: Grafico de puntuaciones de las variables químicas de Arousa sobre los componentes principales PC1 y PC2 por estaciones. 336

Figura 7- 18: Gráfico de puntuaciones de las variables químicas de Arousa sobre los componentes principales PC1, PC2 y PC3. 336

Figura 7- 19: Gráfico de sedimentación de los parámetros químicos del primer muestreo. 337

Figura 7- 20: Gráfico de sedimentación de los parámetros químicos del segundo muestreo. 337

Figura 7- 21: Gráfico de sedimentación de los parámetros químicos del tercer muestreo. 337

Figura 7- 22: Gráfico de sedimentación de los parámetros químicos del cuarto muestreo. 338

Figura 7- 23: Gráfico de puntuaciones del primer muestreo de Arousa. 338

Figura 7- 24: Gráfico de puntuaciones del segundo muestreo de Arousa. 339

Figura 7- 25: Gráfico de puntuaciones del tercer muestreo de Arousa. 339

Figura 7- 26: Gráfico de puntuaciones del cuarto muestreo de Arousa. 339

Figura 7- 27: Gráfico de sedimentación de los parámetros químicos de los sedimentos de la Ría de Arousa. 341

Figura 7- 28: Gráfico de puntuaciones obtenidas considerando las estaciones de Arousa sobre los componentes principales PC1 y PC2 por estaciones. 341

Figura 7- 29: Gráfico de puntuaciones obtenidas considerando las estaciones de Arousa sobre los componentes principales PC1, PC2 y PC3. 342

CAPÍTULO 8

Discusión de resultados

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La situación y características de Arousa hacen que sea de las Rías Baixas el estuario de geometría más irregular. Las corrientes marinas justifican una dilución limitada de cromo en los sedimentos marinos con la distancia al Océano Atlántico.

El canal de entrada situado en el eje central favorece las corrientes y los fenómenos de afloramiento, comentados ambos en este trabajo. La entrada en la ría de nutrientes como fosfatos, nitratos y carbonatos hace posible la alta productividad biológica de la zona. Esta alta productividad justifica la vigilancia y el estudio de los niveles de contaminación de Arousa.

La vigilancia medioambiental debe contemplar las concentraciones metálicas existentes en los sedimentos marinos, incluyendo especialmente al cromo. Este metal ha tenido ciertos usos industriales en la zona como es el curtido de pieles.

Existen antecedentes de detección de niveles elevados de cromo en sedimentos de la Ría de Arousa y en el río Ulla que han servido de argumento para iniciar y realizar la investigación que se presenta en este trabajo.

La zona fluvial y zona fluvial fronteriza con la estuárica no han aportado valores de concentración de cromo representativos debido a la escasa reproducibilidad de las muestras de sedimento recolectadas.

La zona estuárica en sí es en la que se ha centrado la investigación de distribución y evolución temporal de cromo. Tanto la distribución como la evolución se han seguido a través de una serie de estaciones, descritas en los primeros capítulos, en las que se ha recolectado periódicamente muestras de sedimento marino.

Los procedimientos de recolección de muestra utilizados en Arousa han sido comentados con detalle. En ellos la línea de trabajo tiene como objetivos la recogida representativa de muestras de sedimento sin alterar su composición, y evitando cualquier contaminación durante su manipulación en todo el proceso analítico.

En las primeras etapas de este trabajo se han optimizado con éxito los siguientes procedimientos analíticos:

- Determinación de cromo total por ETAAS en suspensiones de sedimento marino.

- Determinación de cromo extraído en las fracciones ‘ácida soluble’, ‘reducible’ y ‘oxidable’ por ETAAS en muestras de sedimento marino. Aquí los tiempos de extracción del procedimiento BCR empleado para obtener estas fracciones han sido acortados al aplicar energía de microondas.
- Especiación de cromo en extractos alcalinos y extractos acuosos de muestras de sedimento y cemento.

Con estos procedimientos optimizados se ha podido realizar la cuantificación de cromo total y fraccionado en los sedimentos marinos recolectados en la Ría de Arousa durante las cuatro campañas de invierno y verano del 2002 y 2003, y se ha investigado cuál de las especies de cromo -trivalente, hexavalente, o ambas- está presente en los sedimentos de Arousa.

El contenido total de cromo en la fracción de sedimento de < 63 µm determinado en las 21 estaciones de la Ría de Arousa indica que el cromo aparece en la zona interna del estuario y se va diluyendo conforme nos desplazamos al Océano Atlántico. La evolución temporal indica que la fuente del metal no ha desaparecido durante las campañas de muestreo realizadas. El aumento progresivo con el tiempo de los niveles de cromo en los sedimentos de la zona más interna no va acompañado de un aumento proporcional de cromo en todas las estaciones más externas de la ría.

El comportamiento detectado del cromo en las fracciones extraídas por BCR es similar al comportamiento geográfico y temporal del contenido total de cromo en los sedimentos de Arousa. Se observa también una dilución en dirección al Atlántico y un incremento de los niveles de cromo con el transcurso del tiempo.

El contenido en cromo de las fracciones ‘ácida soluble’ y ‘reducible’ son minoritarias en comparación al cromo de la fracción ‘oxidable’ o ‘residual’. A este respecto, y atendiendo a la definición de biodisponibilidad de cromo en sedimentos propuesta en este trabajo, no se considera que el cromo de las fracciones más disponibles a la biota sea elevada.

Se ha entendido como fracciones más biodisponibles las que se comentan a continuación. En primer lugar, la fracción de cromo más intercambiable con la columna de agua (fracción ‘ácida soluble’) es la que más interaccionará con la biota marina y la que más probabilidades presenta de entrar en el ciclo vital de la fauna y la flora marina. En segundo lugar, las capas orgánicas presentes en los sedimentos se

consideran para especies como bivalvos un eslabón nutricional. Esta fracción, la 'oxidable', para ciertas especies también se considera más biodisponible. En este caso los niveles son sensiblemente superiores a los encontrados en la fracción 'ácida soluble'.

La discusión de la biodisponibilidad de cromo sería incompleta si no se aborda también el concepto de toxicidad discutido en este trabajo. Las especies de cromo, hexavalente y trivalente, presentan un comportamiento químico, medioambiental y biológico totalmente opuestos. Mientras que la especie trivalente es un elemento esencial en mamíferos, la especie hexavalente presenta una marcada toxicidad. De hecho muchos organismos internacionales citados en este trabajo clasifican a la especie hexavalente como un carcinógeno reconocido.

Dado que la especie hexavalente es potencialmente más peligrosa para organismos vivos que la trivalente, se hacía necesario completar el presente trabajo con un estudio de especiación. Los resultados de especiación y las medidas adicionales realizadas de potencial redox y pH en los sedimentos apuntan a que la matriz presente en los sedimentos se encarga de transformar, de mantener estable y por tanto de almacenar a la especie trivalente.

CAPÍTULO 9

Anexos

Anexo I

Tabulación de datos empleados en figuras

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1: Curvas de mineralización de patrón acuoso de $Cr(NO_3)_3$ 7 µg l^{-1} en ausencia y presencia de modificador de matriz (50 µg ml^{-1} de $Mg(NO_3)_2$): datos representados en la Figura 3- 7. 361

Tabla 2: Curvas de mineralización de suspensión de sedimento marino en ausencia y presencia de modificador de matriz (50 µg ml^{-1} de $Mg(NO_3)_2$): datos representados en la Figura 3- 8. 361

Tabla 3: Curvas de atomización de patrón acuoso (7µg l^{-1} $Cr(NO_3)_3$) y suspensión de sedimento marino con $Mg(NO_3)_2$ de 50 µg ml^{-1}: datos representados en la Figura 3- 9. 361

Tabla 4: Variación de absorbancia corregida en la etapa de atomización del cromo con patrón acuoso de 7 µg l^{-1} de $Cr(NO_3)_3$ y suspensión de sedimento marino variando la concentración de $Mg(NO_3)_2$: datos representados en la Figura 3- 11. 362

Tabla 5: Concentración de cromo de la fracción de sedimento < 63 µm de muestras del río Ulla: datos representados en la Figura 3- 18. 362

Tabla 6: Grados de contaminación (GC) de cromo en los sedimentos de la Ría de Arousa muestreados en las cuatro campañas: datos representados en la Figura 3- 19. 363

Tabla 7: Curvas de mineralización de la fracción ácida soluble (extracto 1 de BCR) con y sin $Mg(NO_3)_2$ como modificador: datos representados en la Figura 4- 2. 365

Tabla 8: Curvas de mineralización de la fracción reducible (extracto 2 de BCR) con y sin $Mg(NO_3)_2$ como modificador: datos representados en la Figura 4- 3. 365

Tabla 9: Curvas de mineralización de la fracción oxidable (extracto 3 de BCR) con y sin $Mg(NO_3)_2$ como modificador: datos representados en la Figura 4- 5. 366

Tabla 10: Curvas de atomización de la fracción ácida soluble (extracto 1 de BCR) con y sin $Mg(NO_3)_2$ como modificador a una temperatura de mineralización de 1500ºC: datos representados en la Figura 4- 6. 366

Tabla 11: Curvas de atomización de la fracción reducible (extracto 2 de BCR) con y sin $Mg(NO_3)_2$ como modificador a una temperatura de mineralización de 1500ºC: datos representados en la Figura 4- 7. 366

Tabla 12: Curvas de atomización de la fracción oxidable (extracto 3 de BCR) con y sin $Mg(NO_3)_2$ como modificador a una temperatura de mineralización de 1500ºC: datos representados en la Figura 4- 8. 367

Tabla 13: Optimización de la concentración de modificador de matriz: datos representados en la Figura 4- 9. 367

Tabla 14: Estudio del efecto de (Na_2CO_3 0.28 mol l^{-1}/NaOH 0.5 mol l^{-1}) en la columna de alumina a través del pico de absorbancia de las especies de cromo variando el factor de dilución del extractante: datos representados en la Figura 6- 3. 369

Tabla 15: Estudio del efecto de NaCl en la columna de alúmina a través del pico de absorbancia de las especies de cromo variando la concentración sódica: datos representados en la Figura 6- 4. 369

Tabla 16: Contenido de cromo total en muestras de cemento digeridas con agua regia: datos representados en la Figura 6- 9. 369

Tabla 17: Datos de contenido en carbono, hidrógeno y nitrógeno en la fracción < 63 µm de sedimentos marinos de Arousa del primer muestreo: datos empleados en el cálculo de las Figuras 6- 10, 6- 11 y 6- 12. 370

Tabla 18: Datos de contenido en carbono, hidrógeno y nitrógeno en la fracción < 63 µm de sedimentos marinos de Arousa del segundo muestreo: datos empleados en el cálculo de las Figuras 6- 10, 6- 11 y 6- 12. 371

Tabla 19: Datos de contenido en carbono, hidrógeno y nitrógeno en la fracción < 63 µm de sedimentos marinos de Arousa del tercer muestreo: datos empleados en el cálculo de las Figuras 6- 10, 6- 11 y 6- 12. 372

Tabla 20: Datos de contenido en carbono, hidrógeno y nitrógeno en la fracción < 63 µm de sedimentos marinos de Arousa del cuarto muestreo: datos empleados en el cálculo de las Figuras 6- 10, 6- 11 y 6- 12. 373

Tabla 21: Valores promedio de pH y potencial redox (E_h/mV) registrado en los sedimentos marinos de Arousa durante los muestreos de invierno de 2002 (M1), verano de 2002 (M2), invierno de 2003 (M3) y verano de 2003 (M4): datos representados en la Figura 6- 16. 374

Tabla 1: Curvas de mineralización de patrón acuoso de $Cr(NO_3)_3$ 7 µg l^{-1} en ausencia y presencia de modificador de matriz (50 µg ml^{-1} de $Mg(NO_3)_2$): datos representados en la Figura 3- 7.

Temperatura / ºC	Absorbancia de patrón acuoso	Absorbancia de patrón con $Mg(NO_3)_2$ de 50 µg ml^{-1}
1000	0.164	0.167
1200	0.156	0.160
1400	0.141	0.149
1500	0.133	0.144
1600	0.126	0.146
1700	0.112	0.139
1800	0.087	0.122
1900	0.056	0.065
2000	0.024	0.026

Tabla 2: Curvas de mineralización de suspensión de sedimento marino en ausencia y presencia de modificador de matriz (50 µg ml^{-1} de $Mg(NO_3)_2$): datos representados en la Figura 3- 8.

Temperatura / ºC	Absorbancia de suspensión de sedimento marino	Absorbancia de suspensión con $Mg(NO_3)_2$ de 50 µg ml^{-1}
1000	0.099	0.165
1200	0.098	0.174
1400	0.114	0.192
1500	0.117	0.198
1600	0.096	0.209
1700	0.089	0.241
1800	0.063	0.171
2000	0.025	0.028

Tabla 3: Curvas de atomización de patrón acuoso (7µg l^{-1} $Cr(NO_3)_3$) y suspensión de sedimento marino con $Mg(NO_3)_2$ de 50 µg ml^{-1}: datos representados en la Figura 3- 9.

Temperatura / ºC	Absorbancia de patrón acuoso	Absorbancia de suspensión de sedimento marino
2000	0.043	0.075
2200	0.081	0.083
2400	0.103	0.135
2500	0.117	0.256
2600	0.125	0.247
2700	0.142	0.227

Tabla 4: Variación de absorbancia corregida en la etapa de atomización del cromo con patrón acuoso de 7 µg l^{-1} de $Cr(NO_3)_3$ y suspensión de sedimento marino variando la concentración de $Mg(NO_3)_2$: datos representados en la Figura 3- 11.

$[Mg(NO_3)_2]$ / µg ml^{-1}	Absorbancia de patrón acuoso	Absorbancia de suspensión de sedimento marino
0	0.131	0.105
5	0.150	0.108
10	0.156	0.111
20	0.160	0.12
30	0.169	0.123
40	0.169	0.119

Tabla 5: Concentración de cromo de la fracción de sedimento < 63 µm de muestras del río Ulla: datos representados en la Figura 3- 18.

Estación	Concentración de cromo / $\mu g_{Cr}\ g_{sedimento}^{-1}$	Campaña
Sar	54 ± 7	Tercer muestreo
	69 ± 3	Cuarto muestreo
Herbón	108 ± 10	Tercer muestreo
Bexo	253 ± 6	Segundo muestreo
	157 ± 5	Tercer muestreo
	318 ± 50	Cuarto muestreo
Catoira	345 ± 40	Segundo muestreo
	188.2 ± 1.2	Tercer muestreo
Isorna	225 ± 10	Tercer muestreo
	172 ± 5	Cuarto muestreo
Bamio	79 ± 6	Segundo muestreo
	168 ± 12	Tercer muestreo
Carril	194 ± 13	Segundo muestreo
Rianxo	375 ± 6	Segundo muestreo

Tabla 6: Grados de contaminación (GC) de cromo en los sedimentos de la Ría de Arousa muestreados en las cuatro campañas: datos representados en la Figura 3- 19.

Estación	GC del muestreo 1	GC del muestreo 2	GC del muestreo 3	GC del muestreo 4
1	4.10	3.39	5.02	4.37
2	2.56	2.48	3.21	3.84
3	4.06	3.26	3.32	4.25
4	2.26	1.94	3.43	2.87
5	1.97	1.71	2.72	2.90
6	1.47	1.31	1.80	2.18
8	1.55	2.53	2.64	2.73
9	1.30	1.69	1.60	2.08
11	1.49	1.48	1.63	1.31
12	1.97	1.62	1.55	1.42
13	1.33	1.93	1.82	2.62
14	1.74	2.77	2.86	2.67
15	1.89	2.49	3.04	2.72
16	2.63	2.73	2.69	2.68
18	2.19	3.18	3.75	4.07
19	2.44	3.29	3.93	4.04
20	3.90	3.91	4.25	4.30
21	3.09	3.63	4.03	4.08
22	5.84	6.64	6.72	8.54
23	3.68	4.48	-	5.61
24	6.55	7.83	9.05	11.41

Tabla 7: Curvas de mineralización de la fracción ácida soluble (extracto 1 de BCR) con y sin $Mg(NO_3)_2$ como modificador: datos representados en la Figura 4- 2.

Temperatura / ºC	Absorbancia de extracto 1	Absorbancia de extracto 1 con $Mg(NO_3)_2$ de 50 µg ml^{-1}
600	0.120	0.131
800	0.107	0.119
1000	0.110	0.110
1100	0.106	0.105
1200	0.096	0.106
1300	0.099	0.101
1400	0.099	0.104
1500	0.099	0.098
1600	0.087	0.091
1700	0.074	0.068
2000	0.012	0.011

Tabla 8: Curvas de mineralización de la fracción reducible (extracto 2 de BCR) con y sin $Mg(NO_3)_2$ como modificador: datos representados en la Figura 4- 3.

Temperatura / ºC	Absorbancia de extracto 2	Absorbancia de extracto 2 con $Mg(NO_3)_2$ de 50 µg ml^{-1}
600	0.113	0.110
800	0.111	0.113
1000	0.113	0.113
1100	0.114	0.110
1200	0.116	0.115
1300	0.115	0.111
1400	0.114	0.115
1500	0.114	0.114
1600	0.109	0.113
1700	0.098	0.091

Tabla 9: Curvas de mineralización de la fracción oxidable (extracto 3 de BCR) con y sin $Mg(NO_3)_2$ como modificador: datos representados en la Figura 4- 5.

Temperatura / ºC	Absorbancia de extracto 3	Absorbancia de extracto 3 con $Mg(NO_3)_2$ de 50 µg ml^{-1}
600	0.110	0.138
800	0.109	0.136
1000	0.113	0.135
1200	0.112	0.135
1300	0.115	0.135
1400	0.112	0.135
1500	0.111	0.137
1600	0.100	0.131
1700	0.095	0.118
2000	0.032	0.034

Tabla 10: Curvas de atomización de la fracción ácida soluble (extracto 1 de BCR) con y sin $Mg(NO_3)_2$ como modificador a una temperatura de mineralización de 1500ºC: datos representados en la Figura 4- 6.

Temperatura / ºC	Absorbancia de extracto 1	Absorbancia de extracto 1 con $Mg(NO_3)_2$ de 50 µg ml^{-1}
2000	0.077	0.076
2200	0.096	0.096
2300	0.105	0.103
2400	0.106	0.100
2500	0.107	0.106
2600	0.109	0.106

Tabla 11: Curvas de atomización de la fracción reducible (extracto 2 de BCR) con y sin $Mg(NO_3)_2$ como modificador a una temperatura de mineralización de 1500ºC: datos representados en la Figura 4- 7.

Temperatura / ºC	Absorbancia de extracto 2	Absorbancia de extracto 2 con $Mg(NO_3)_2$ de 50 µg ml^{-1}
2000	0.046	0.047
2200	0.066	0.062
2300	0.067	0.075
2400	0.081	0.071
2500	0.078	0.074
2600	0.080	0.074

Tabla 12: Curvas de atomización de la fracción oxidable (extracto 3 de BCR) con y sin $Mg(NO_3)_2$ como modificador a una temperatura de mineralización de 1500ºC: datos representados en la Figura 4- 8.

Temperatura / ºC	Absorbancia de extracto 3	Absorbancia de extracto 3 con $Mg(NO_3)_2$ de 50 µg ml^{-1}
2000	0.054	0.049
2200	0.117	0.092
2300	0.119	0.122
2400	0.130	0.127
2500	0.140	0.135
2600	0.149	0.137

Tabla 13: Optimización de la concentración de modificador de matriz: datos representados en la Figura 4- 9.

$[Mg(NO_3)_2]$ / µg ml^{-1}	Absorbancia de extracto 1	Absorbancia de extracto 2	Absorbancia de extracto 3
0	0.099	0.116	0.131
30	0.101	0.118	0.124
50	0.099	0.121	0.124
100	0.102	0.118	0.132
200	0.104	0.119	0.112

Tabla 14: Estudio del efecto de (Na_2CO_3 0.28 mol l^{-1}/NaOH 0.5 mol l^{-1}) en la columna de alúmina a través del pico de absorbancia de las especies de cromo variando el factor de dilución del extractante: datos representados en la Figura 6- 3.

Factor de dilución del extractante alcalino	Absorbancia media de pico de Cr(VI)	Desviación estándar de las medidas
100	0.243	0.003
50	0.229	0.008
25	0.203	0.034
Factor de dilución del extractante alcalino	**Absorbancia media de pico de Cr(III)**	**Desviación estándar de las medidas**
100	0.138	0.002
50	0.144	0.001
25	0.174	0.021

Tabla 15: Estudio del efecto de NaCl en la columna de alúmina a través del pico de absorbancia de las especies de cromo variando la concentración sódica: datos representados en la Figura 6- 4.

$[Na^+]$ / g l^{-1}	Absorbancia media de pico de Cr(VI)	Desviación estándar de las medidas
0.24	0.275	0.002
0.49	0.270	0.009
0.97	0.278	0.002
$[Na^+]$ / g l^{-1}	**Absorbancia media de pico de Cr(III)**	**Desviación estándar de las medidas**
0.24	0.034	0.009
0.49	0.028	0.008
0.97	0.039	0.006

Tabla 16: Contenido de cromo total en muestras de cemento digeridas con agua regia: datos representados en la Figura 6- 9.

Muestra	Concentración / $\mu g_{Cr}\ g_{cemento}^{-1}$	Desviación estándar de las muestras analizadas
Cemento 1	39.0	1.5
Cemento 2	40	5
Cemento 3	44	4
Cemento 4	41	2

Tabla 17: Datos de contenido en carbono, hidrógeno y nitrógeno en la fracción < 63 µm de sedimentos marinos de Arousa del primer muestreo: datos empleados en el cálculo de las Figuras 6-10, 6- 11 y 6- 12.

Muestreo de invierno de 2002 en la Ría de Arousa			
Estación	**$mg_C\ g_{sedimento}^{-1}$**	**$mg_N\ g_{sedimento}^{-1}$**	**$mg_H\ g_{sedimento}^{-1}$**
1	41.9 ± 1.3	11.2 ± 0.3	2.1 ± 0.5
2	41 ± 0.4	12.3 ± 0.6	4.09 ± 0.15
3	42.1 ± 0.4	11.57 ± 0.08	3.88 ± 0.10
4	48.48 ± 0.09	9.8 ± 0.4	2.50 ± 0.16
5	44.6 ± 0.2	8.5 ± 0.4	1.4 ± 0.5
6	49.1 ± 0.3	7.34 ± 0.16	1.44 ± 0.19
8	42.2 ± 0.5	10.15 ± 0.12	3.25 ± 0.05
9	65.2 ± 1.4	9.1 ± 1.1	3.7 ± 0.2
11	36.1 ± 1.8	9.7 ± 0.7	4.0 ± 1.1
12	58 ± 2	11 ± 0.4	5.23 ± 0.11
13	47.0 ± 0.6	7.2 ± 0.3	1.4 ± 0.5
14	43.51 ± 0.19	8.4 ± 0.3	1.6 ± 0.2
15	50.0 ± 0.5	8.63 ± 0.11	1.80 ± 0.15
16	42.4 ± 1.1	10.53 ± 0.14	3.62 ± 0.11
18	42.5 ± 1.4	10.0 ± 0.4	2.4 ± 0.2
19	44.2 ± 0.3	9.8 ± 0.3	2.08 ± 0.19
20	48.8 ± 1.0	13.44 ± 0.14	5.00 ± 0.16
21	50.4 ± 0.05	13.5 ± 0.08	5.41 ± 0.12
22	45.46 ± 0.19	13.20 ± 0.08	4.49 ± 0.05
23	41.7 ± 1.1	10.93 ± 0.10	2.2 ± 0.3
24	37.3 ± 1.4	10.4 ± 0.4	1.92 ± 0.11

Tabla 18: Datos de contenido en carbono, hidrógeno y nitrógeno en la fracción < 63 µm de sedimentos marinos de Arousa del segundo muestreo: datos empleados en el cálculo de las Figuras 6- 10, 6- 11 y 6- 12.

Muestreo de verano de 2002 en la Ría de Arousa			
Estación	$mg_C\ g_{sedimento}^{-1}$	$mg_N\ g_{sedimento}^{-1}$	$mg_H\ g_{sedimento}^{-1}$
1	40.1 ± 0.5	12.9 ± 0.2	4.61 ± 0.05
2	40.6 ± 0.9	12.4 ± 0.9	4.63 ± 0.14
3	43 ± 16	12 ± 5	4.6 ± 1.7
4	43.7 ± 0.7	11.1 ± 0.3	4.4 ± 0.2
5	42.2 ± 0.4	10.5 ± 0.3	3.89 ± 0.08
6	46.1 ± 0.5	8.20 ± 0.10	3.37 ± 0.14
8	42.0 ± 1.0	10.4 ± 1.5	3.7 ± 0.2
9	49 ± 10	9.6 ± 1.4	4.5 ± 0.6
11	37 ± 4	9.5 ± 1.8	4.0 ± 0.6
12	55.5 ± 1.7	11.6 ± 1.0	5.4 ± 0.2
13	44.4 ± 0.5	8.5 ± 0.4	3.32 ± 0.03
14	42.2 ± 0.7	11.3 ± 0.4	4.3 ± 0.2
15	48.1 ± 0.5	10.4 ± 0.4	3.90 ± 0.06
16	42.3 ± 1.2	11.3 ± 0.8	4.48 ± 0.12
18	42 ± 2	12.1 ± 0.5	5.3 ± 0.2
19	41.6 ± 0.8	11.7 ± 0.4	4.81 ± 0.17
20	41.6 ± 1.4	12.7 ± 0.4	5.10 ± 0.09
21	44.6 ± 1.0	13.2 ± 0.6	5.5 ± 0.4
22	41.0 ± 0.8	12.89 ± 0.09	4.94 ± 0.12
23	38.4 ± 0.2	10 ± 0.4	4.80 ± 0.10
24	38.8 ± 0.7	13 ± 0.3	4.8 ± 0.2

Tabla 19: Datos de contenido en carbono, hidrógeno y nitrógeno en la fracción < 63 µm de sedimentos marinos de Arousa del tercer muestreo: datos empleados en el cálculo de las Figuras 6-10, 6- 11 y 6- 12.

Muestreo de invierno de 2003 en la Ría de Arousa			
Estación	**$mg_C\ g_{sedimento}^{-1}$**	**$mg_N\ g_{sedimento}^{-1}$**	**$mg_H\ g_{sedimento}^{-1}$**
1	40.5 ± 1.3	13.1 ± 0.9	4.7 ± 0.2
2	42.6 ± 0.9	12.6 ± 0.5	5.2 ± 0.3
3	42.3 ± 1.1	11.8 ± 0.7	4.64 ± 0.10
4	46.8 ± 1.1	12.5 ± 0.5	5.14 ± 0.12
5	41.6 ± 1.2	11.2 ± 0.2	4.35 ± 0.13
6	46.7 ± 0.7	8.2 ± 0.3	4.0 ± 0.3
8	42.8 ± 0.6	9.7 ± 0.3	4.203 ± 0.015
9	54.9 ± 1.0	7.3 ± 1.4	3.8 ± 0.4
11	47 ± 5	11.4 ± 2.0	5.8 ± 0.5
12	50 ± 4	12 ± 2	5.7 ± 0.4
13	45.9 ± 0.2	8.8 ± 1.1	3.68 ± 0.11
14	42.7 ± 0.6	10.56 ± 0.16	4.15 ± 0.10
15	48.2 ± 0.5	11.1 ± 0.2	4.48 ± 0.09
16	42.6 ± 0.7	11.8 ± 0.6	4.54 ± 0.06
18	45.9 ± 1.5	12.8 ± 0.4	5.72 ± 0.15
19	45.0 ± 1.1	12.2 ± 0.6	5.2 ± 0.3
20	46 ± 2	13.0 ± 0.7	5.5 ± 0.3
21	46.76 ± 0.10	15.75 ± 0.10	5.51 ± 0.10
22	45.3 ± 1.6	15.0 ± 0.4	5.5 ± 0.5
23	-	-	-
24	37.8 ± 1.4	12.7 ± 0.6	4.7 ± 0.3

Tabla 20: Datos de contenido en carbono, hidrógeno y nitrógeno en la fracción < 63 µm de sedimentos marinos de Arousa del cuarto muestreo: datos empleados en el cálculo de las Figuras 6-10, 6- 11 y 6- 12.

Muestreo de verano de 2003 en la Ría de Arousa			
Estación	**$mg_C\ g_{sedimento}^{-1}$**	**$mg_N\ g_{sedimento}^{-1}$**	**$mg_H\ g_{sedimento}^{-1}$**
1	39.1 ± 0.6	13.8 ± 1.4	3.91 ± 0.14
2	42.9 ± 1.7	12.9 ± 0.6	4.28 ± 0.17
3	41.0 ± 0.6	12.2 ± 0.9	3.96 ± 0.11
4	43.4 ± 1.5	10.7 ± 0.4	3.88 ± 0.11
5	43.6 ± 0.4	10.3 ± 0.5	3.56 ± 0.08
6	46.0 ± 1.8	8.6 ± 0.5	2.80 ± 0.10
8	40.5 ± 0.3	9.8 ± 1.0	3.1 ± 0.3
9	57.4 ± 1.3	9.5 ± 0.7	3.9 ± 0.3
11	36 ± 4	8.2 ± 0.8	3.2 ± 0.4
12	50 ± 2	10.58 ± 0.06	4.34 ± 0.04
13	47.2 ± 1.4	10.9 ± 0.5	4.4 ± 0.5
14	41.3 ± 1.8	9.8 ± 0.7	4.5 ± 0.4
15	46.7 ± 1.3	10.2 ± 0.8	4.37 ± 0.16
16	41.8 ± 1.7	11.2 ± 0.2	4.53 ± 0.12
18	45.5 ± 1.4	12.9 ± 0.8	5.9 ± 0.3
19	41.8 ± 1.4	12.3 ± 1.0	4.80 ± 0.15
20	44.2 ± 1.9	13.2 ± 0.3	5.30 ± 0.18
21	50 ± 2	13.7 ± 0.6	6.3 ± 0.4
22	42.4 ± 1.3	13.2 ± 0.4	5.4 ± 0.4
23	41.8 ± 1.5	13.2 ± 0.3	5.17 ± 0.05
24	37 ± 4	14 ± 2	4.5 ± 0.5

Tabla 21: Valores promedio de pH y potencial redox (E_h/mV) registrado en los sedimentos marinos de Arousa durante los muestreos de invierno de 2002 (M1), verano de 2002 (M2), invierno de 2003 (M3) y verano de 2003 (M4): datos representados en la Figura 6- 16.

	M1		M2		M3		M4	
Estación	**pH**	**E_h**	**pH**	**E_h**	**pH**	**E_h**	**pH**	**E_h**
1	7.73	303	7.49	313	7.57	278	7.72	268
2	7.9	290	7.77	311	7.73	279	7.83	268
3	7.96	283	7.81	310	7.82	281	7.89	270
4	8.11	280	7.89	310	7.82	288	7.89	270
5	8.22	279	7.94	308	7.87	294	7.82	269
6	8.48	286	8.15	310	8.24	297	7.8	270
8	7.95	334	7.78	402	7.86	300	7.77	272
9	8.38	335	8.12	408	8.44	301	7.59	272
11	7.97	324	8.00	393	7.82	272	7.72	274
12	-	-	8.08	392	8.24	270	7.83	275
13	8.17	321	8.08	383	8.03	273	7.89	279
14	8.01	319	7.84	372	7.86	277	7.89	281
15	8.08	306	7.92	372	7.92	286	7.93	267
16	8.01	302	7.9	338	7.9	290	7.95	271
18	7.97	298	7.78	338	7.78	290	7.83	278
19	7.99	295	7.81	337	7.84	294	7.9	278
20	-	-	7.76	335	7.83	276	7.81	279
21	7.9	292	7.79	333	7.8	280	7.85	281
22	7.87	290	7.81	331	7.77	281	7.82	284
23	7.69	288	7.72	330	-	-	7.68	278
24	-	-	7.41	330	7.59	286	7.58	284

Anexo II

Publicaciones

LISTADO DE PUBLICACIONES

página

Analytica Chimica Acta 524, **2004** 121–126

Chromium in marine sediment samples from the Ría de Arousa (Galicia, NW of Spain): analysis of the total content in slurries by ETAAS
P. Pazos-Capeáns, M.C. Barciela-Alonso, A. Bermejo-Barrera, P. Bermejo-Barrera

379

Talanta 65, **2005** 678–685

Chromium available fractions in arousa sediments using a modified microwave BCR protocol based on microwave assisted extraction
P. Pazos-Capeáns, M.C. Barciela-Alonso, A. Bermejo-Barrera, P. Bermejo-Barrera

385

Atomic spectroscopy 27(4), **2006** 107-116.

PerkinElmer precisely.

On-line sequential determination of Cr(III) and Cr(VI) with selective elution of solid extracts using an alumina column
P. Pazos-Capeáns, M.C. Barciela-Alonso, A. Bermejo-Barrera, P. Bermejo-Barrera, A. Fisher, S. J. Hill

393

Available online at www.sciencedirect.com
SCIENCE DIRECT®
Analytica Chimica Acta 524 (2004) 121–126
ANALYTICA CHIMICA ACTA
www.elsevier.com/locate/aca

Chromium in marine sediment samples from the Ría de Arousa (Galicia, NW of Spain): analysis of the total content in slurries by ETAAS

P. Pazos-Capeáns, M.C. Barciela-Alonso, A. Bermejo-Barrera, P. Bermejo-Barrera*

Department of Analytical Chemistry, Nutrition and Bromatology. University of Santiago de Compostela. E-15782. Santiago de Compostela Spain

Received 10 November 2003; received in revised form 16 January 2004; accepted 8 March 2004
Available online 11 May 2004

Abstract

The study attempts to measure the total chromium content in sediments of all the Ría de Arousa (Galicia, NW Spain). The method was developed by analysing slurries by electrothermal atomic absorption spectromety. The metal determination was carried out optimising the electrothermal programme and the concentration of magnesium nitrate as a chemical modifier.

What was aimed to be achieved is a general explanation of the chromium content along the estuary because there could be a chromium sink in this marine environment. Results obtained were between $43.4 \pm 1.7\ \mu g\ g^{-1}$ and $184.6 \pm 26.9\ \mu g\ g^{-1}$ from the end of the Ulla river to the Atlantic Ocean, most of them higher than the background reference levels.
© 2004 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Chromium; Marine sediments; Slurry; Electrothermal atomic absorption spectrometry; Ría de Arousa

1. Introduction

The most widely accepted explanation of the presence of chromium in the environment and the frequent estuarine spills are that this metal is a common product used in industrial applications like leather tanning, dyeing or chromium plating. Not surprisingly, large volumes of chromium waste in various chemical forms are generated from industrial processes and discharged into the environment [1]. So sediments in estuaries and coasts are a common sink for contaminants, including this metal [1,2].

On the Galician coast many estuaries were investigated. Arousa is especially sensitive to anthropogenic influence due to the socio-economic importance generated in aquaculture or fishing. A range of chromium concentration in Arousa has been published by Prego and Cobelo-García [3].

Traditionally acid digestions were applied for metal quantification of solid samples. The instrumental technique depends on the metal and the matrix usually flame atomic absorption spectrometry (FAAS), electrothermal AAS (ETAAS) or inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES) [4]. Sample digestion is a pretreatment step that is time-consuming, sometimes with complex and long protocols, providing contamination risks and loss of analytes. Further, the use of dangerous corrosive chemical products, which also cause contamination, is necessary, giving rise to high blank values. The acids used diminish the lifetime of the instrumentation. For digestion, Davidson and co-workers used a mixture of nitric and hydrochloric acid [5,6], Schalscha and Escudero used a mixture of perchloric and hydrochloric acid [7] and Usero et al. [8] used hot nitric acid.

The use of slurries is well-recognised [9–12] for introducing solid samples for ETAAS. The slurry method is a procedure that has the advantage of direct measurement of a combination of a solid in a liquid medium.

Various papers have been published on the determination of heavy metals in sediment samples. To improve the accuracy and precision of the measurements different agents were applied such as Viscalex [13], glycerol [14], and organic solvents with high viscosity or thickening agents like Triton X-100. Therefore, Bermejo-Barrera et al. [15] developed a method of As, Cd, Pb and Hg determination in marine sediment samples using Triton X-100 to stabilise the slurry. Dobrowolski [16] determined chromium and nickel in slurries of soils, Terzieva and Arpedjan [17] used slurry sampling to determine different metals in atmospheric particulates and López García et al. [18] determined Pb, Cd and

* Corresponding author. Tel.: +34-981-591079; fax: +34-981-595012.
E-mail address: pbermejo@usc.es (P. Bermejo-Barrera).

0003-2670/$ – see front matter © 2004 Elsevier B.V. All rights reserved.
doi:10.1016/j.aca.2004.03.024

Tl in slurries of soils and sediments with pre-digestion with hydrofluoric acid.

There are several papers, which describe procedures for the determination of chromium in soil and sediments samples using slurries [19–22]. In some, the slurries have been prepared in an acidic medium. Therefore Campillo et al. [19] used hydrofluoric acid to prepare the slurry and used a fast graphite furnace temperature programme for Cr determination. Mierzwa et al. [20] and Klemm and Bombach [21] used nitric acid and ultrasonic agitation to prepare the slurry.

To avoid problems with matrix interferences in chromium determination by ETAAS, chemical modification is recommended. Different matrix modifiers have been used for chromium analysis in samples with a highly saline matrix. Thus, Manzoori and Saleeni [23] used NH_4VO_3, $NaWO_4{\cdot}2H_2O$ and $Pd(NO_3)_2$ and Broughriet and Wartel [24] introduced a mixture of $Mg(NO_3)_2$ and $Pd(NO_3)_2$. For digested sediments, Chakraborty et al. [25] investigated a mixture of $Pd(NO_3)_2$ and $NaVO_3$ or $Pd(NO_3)_2$ alone. As well as for aqueous solutions, many chemical modifiers have been recommended for slurries.

In this work, a method for chromium determination in slurries of marine sediment samples has been optimised and applied to real samples. This study has made a contribution towards understanding chromium variation in a marine environment researching sediments collected in the Ría de Arousa, located in the Northwest of Spain.

2. Experimental

2.1. Apparatus

Measurements were carried out using a Perkin-Elemer Model 1100B atomic absorption spectrometer equipped with an HGA-400 graphite furnace atomizer and an AS-40 autosampler. The source of radiation was a chromium hollow cathode lamp. Pyrolytic graphite-coated graphite tubes with L'vov platforms were used in the analysis. For all measurements made during this study, integrated absorbance was used with an integration time of 5 s for slurries selected as the most appropriate time, giving attention to the peak profiles obtained. The temperatures, time programmes for the atomizer and instrumental parameters are shown in Table 1. The slurry volume injected was 20 μl.

An agitator (Vibromatic) and magnetic agitator (Agimatic) from Selecta (Barcelona, Spain) were used in the slurry preparation.

2.2. Reagents

2.2.1. Chromium nitrate stock standard solution

A 1 mg ml^{-1} solution of chromium (BDH, Poole, UK) was used. Each test solution was prepared with ultrapure water immediately before use.

Table 1
Furnace conditions for total chromium determination in slurries of marine sediment samples, by ETAAS

Step	Temperature (°C)	Ramp (s)	Hold (s)	Ar flow (cm^3 min^{-1})
Dry 1	100	10	20	300
Dry 2	200	25	25	300
Pyrolysis 1	480	10	10	300
Pyrolysis 2	1700	10	15	300
Atomisation	2500	0	5	0*
Cleaning	2600	1	2	300

Spectrometer parameters: lamp current, 12 mA; injection volume, 20 ul; wavelength (λ), 357.9 nm; slit width, 0.7 nm; background correction, deuterium lamp.

* The Ar flow stopped in the atomization step and during 5 s peak absorbance was registered.

2.2.2. Triton X-100

Triton X-100 (polyethylene glycol mono(P-1, 1,3,3-tetramethylbutylphenyl)ether), for gas chromatography, was obtained from Merck (Darmstadt, Germany).

2.2.3. Magnesium nitrate

Magnesium nitrate was Suprapur (Merck).

2.2.4. Reference material PACS-2

Reference Material PACS-2 is a marine sediment (National Research Council Canada (NRCC), Ottawa, Ontario, Canada).

2.2.5. Argon

Argon *N50*, with 99.999% purity was used as sheath gas for the atomiser and to purge internally.

2.2.6. Ultrapure water

Resistivity 18 MΩ cm obtained using a Milli-Q water purification system (Millipore, Bedford, MA).

All glassware were kept in 10% nitric acid for at least 48 h and was washed three times with ultrapure water before use.

2.3. Sample collection and pre-treatment

The area researched was divided into several stations, described in Fig. 1, showing the Ría de Arousa (North West Spain) sampling points. The surface sediment samples were collected at 21 stations, on board B/O Mytilus, using a Van Been Dredge. The sample for each station was collected in triplicate.

The samples were removed from the surface layer with a polyethylene spoon to avoid contamination, and were stored in a hermetic polyethylene bottle at −20 °C, previously cleaned with 10% nitric acid for 24 h and rinsed with Milli-Q water. Sediments were lyophilised and sieved through a nylon grid to separate the fraction with particle size <63 μm and stored in polyethylene bottles. Two subsamples taken from each sediment sample were prepared

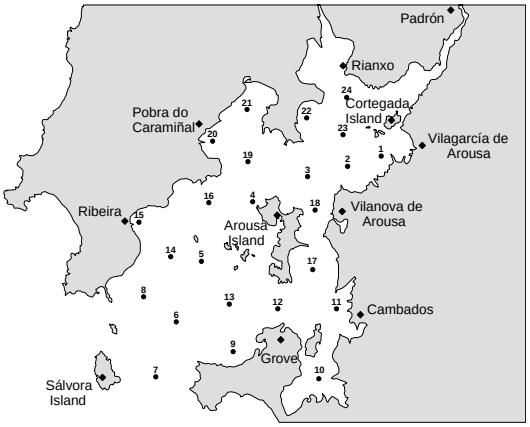

Fig. 1. Map of all the places where sediment samples were collected in the Ría de Arousa. Stations 10 and 17 were not researched; the first was in a place not possible to go by boat, as well as station 17; in station 7 there were not any sediments because the bottom presented a rocky morphology.

in the form of a slurry to determine the total chromium concentration.

2.4. Procedure for slurry preparation

A portion of 0.1 g of lyophilised marine sediment sample, with particle size <63 μm, was weighed and placed in a polyethylene vial with 5 g of zirconia beads and 3 ml of ultrapure water. The vial was agitated in a flask shaker (Vibromatic) for 60 min and the beads were separated using a sieve funnel (Haldenwanger Technische Keramic, Düsseldorf, Germany). Finally, the slurry was adjusted to its final volume (10 ml) by the addition of water and the amount of Triton X-100 necessary to obtain a concentration of 0.1%. A portion of slurry with an appropriate amount of chemical modifier was transferred into the autosampler cup and stirred magnetically before being measured. The procedure for slurry preparation was as reported in a previous work [18]. Total chromium was determined by ETAAS using the graphite furnace programme shown in Table 1.

3. Results and discussion

3.1. Total chromium determination in slurry of marine sediment samples

3.1.1. Optimisation of the graphite furnace programme

To optimise the graphite furnace programme, a lyophilised marine sediment sample with particle size <63 μm was used.

Experiments were carried out to determine the optimum temperatures and times for the drying, pyrolysis and atomisation steps. To obtain efficient pyrolysis, two charring steps were used, the first at 480 °C and the second at 1700 °C. These conditions were optimised by means of several measurements, for a slurry sediment sample and aqueous standard (7 μg l^{-1} chromium), with and without magnesium nitrate as chemical modifier. The final pyrolysis curves are shown in Fig. 2. It can be seen that chromium is stabilised, in both cases, at higher temperatures (1700 °C) in the presence of magnesium nitrate (1500 °C without magnesium nitrate). Therefore magnesium nitrate has been used in the subsequent work.

Determination of the optimum atomisation temperature was carried out by investigating different atomisation temperatures between 2000 and 2700 °C for a slurry of marine sediment sample and for an aqueous standard, in the presence of magnesium nitrate. The optimum atomisation temperature was 2500 °C in both situations, aqueous solutions and sediment slurries. The choice of this temperature was made from the atomisation curve and the peak profile (Fig. 3).

3.1.2. Amount of chemical modifier

To study the effect of the amount of magnesium nitrate added as a chemical modifier in the chromium determination, a series of measurements were carried out in the concentration range between 0–40 mg l^{-1}. The results obtained showed that the behaviour obtained is similar for sediment samples and aqueous standards, the absorbance signal increasing a little upto 20 mg l^{-1} and then remaining practi-

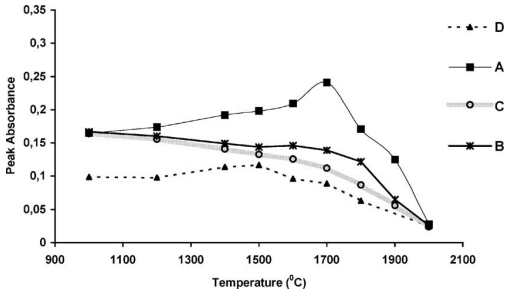

Fig. 2. Pyrolysis curves for: (A) slurry of marine sediment sample in presence of magnesium nitrate, (B) aqueous standard in presence of magnesium nitrate, (C) aqueous standard without magnesium nitrate, (D) slurry of marine sediment sample without chemical modifier.

cally constant. Therefore 20 mg l^{-1} was selected as the optimum concentration.

3.1.3. Calibration and standard addition graphs

The linear relationship between peak absorbance signals (integrated absorbance) and chromium concentration ($\mu g\,l^{-1}$) in stock solutions and slurries were achieved with a chromium concentration between 0 and 10 $\mu g\,l^{-1}$. Solutions injected in the ETAAS system provided very large signals at 5 $\mu g\,l^{-1}$, and so it was selected as the maximum level in the calibration and standard addition graphs. To obtain a calibration graph with standard aqueous chromium solutions, the concentrations analysed were 0, 2, 3 and 5 $\mu g\,l^{-1}$, adding appropriate volumes of solutions of magnesium nitrate and Triton X-100 to give concentrations of 20 mg l^{-1} and 0.1%, respectively. The standard addition method was used over the same range of concentrations using a sediment sample. The equations obtained were as follows:

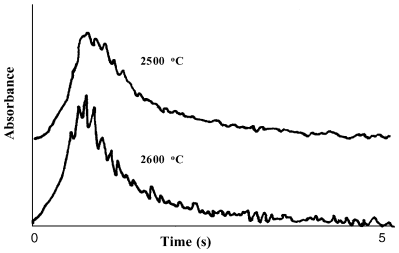

Fig. 3. Effect of the atomisation temperature on the absorbance signal for a slurry of marine sediment, in the presence of magnesium nitrate as chemical modifier.

Calibration graph

$$Q_A = 0.0011 + 2.62 \times 10^{-2}\,C, \qquad r = 0.9977\ (n = 6)$$

Standard additions

$$Q_A = 0.0642 + 2.62 \times 10^{-2}\,C, \qquad r = 0.9992\ (n = 6)$$

where Q_A is the integrated absorbance and C the chromium concentration in $\mu g\,l^{-1}$.

To compare the slopes of the calibration and slurry-addition graphs, a *t*-test (95% significance) [26] was applied and no differences were observed. Both graphs exhibit similar slopes; this meant that the aqueous calibration is a real possibility, and this type of calibration was therefore used.

3.1.4. Sensitivity

Sensitivity was studied by means of three parameters: limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ) and characteristic mass (m_0) [27]. The limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) obtained were 0.20 $\mu g\,l^{-1}$ and 0.66 $\mu g\,l^{-1}$, respectively, based on ten replicate determinations of the blank. The LOD and LOQ values for the sediment sample, using 0.1 g of sample, diluting the slurry to 10 ml and taking 25 μl to prepare the final solution with the modifier (1000 μl) were 0.80 and 2.65 $\mu g\,g^{-1}$, respectively. These limits can be improved by taking a large volume of the slurry sediment to prepare the final solution.

The characteristic mass, m_0, is defined as the mass of: in picograms analyte required to give a signal of 0.0044 for the integrated absorbance. The value obtained was 3.5±0.27 pg.

3.1.5. Precision and accuracy

The within-run precision (relative standard deviation, RSD) of the method (instrumental and matrix factors) obtained for ten replicate analyses of a single sample during the same run was 3.9% (for 6.3 $\mu g\,l^{-1}$ chromium).

The repeatability of the overall procedure was also studied by measuring five different slurries of the same sam-

Table 2
Chromium concentration ($\mu g\,g^{-1}$) obtained in marine sediment samples collected in the Ría de Arousa (NW Spain)

Number of the sampling station	Cr obtained at each station	
	Averge*	Standard deviation*
1	138.4	12.9
2	81.9	4.9
3	118.2	6.4
4	78.9	2.5
5	70.1	6.2
6	50.4	0.5
8	49.6	1.2
9	43.4	1.7
11	47.8	3.9
12	58.9	0.8
13	50.1	4.8
14	55.7	4.0
15	60.6	2.9
16	84.1	3.1
18	70.2	4.3
19	77.9	3.3
20	124.9	10.4
21	170.4	18.1
22	186.9	15.4
23	119.5	18.4
24	184.6	26.9

* The number of the analysis replicates for each station is $n = 6$ and values of average and standard deviation are calculated on this basis.

ple, so the within-batch precision (RSD) obtained was 5.3%. To study the accuracy of the method the Certified Reference Material PACS-2 with certified chromium content of $90.7 \pm 4.6\,\mu g\,g^{-1}$ was analysed. The reference material and the blank were measured three times. The results obtained, expressed as average ± S.D., were $91.0 \pm 2.3\,\mu g\,g^{-1}$. The recovery was also calculated, and was found to vary between 99.2, 102.2 and 98.1% for 2, 3 and $5\,\mu g\,l^{-1}$ chromium added. So the recovery results were in the interval $99.8 \pm 2.1\%$.

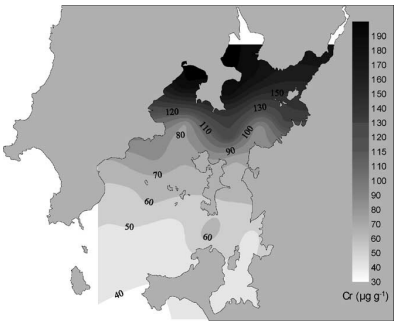

Fig. 4. Distribution of chromium ($\mu g\,g^{-1}$) along the estuary of the Ría de Arousa.

3.2. Applications

The developed method was applied to chromium determination in different marine sediment samples from Ría de Arousa (NW Spain). Three subsamples from each sediment point were prepared in a form of slurries, for total chromium determination. The results obtained are shown in Table 2 and Fig. 4.

It is clear for the current research that chromium appears inside the estuary and is diluted towards the coast. So, giving attention to chromium levels in sediments we can conclude that maximum levels are obtained near anthropogenic activities, and marine currents dilute the metal along the coast. Maximum levels are obtained between Pobra do Caramiñal and Rianxo with values around $190\,\mu g\,g^{-1}$. But it could be more accurate to say that the end of the Ulla river (between Catoira, Rianxo and Vilagarcía de Arousa) presented high levels as well. This chromium concentration dimin-

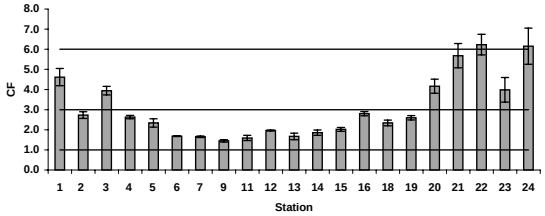

Fig. 5. Distribution of the chromium contamination levels in Arousa. CF is the contamination factor measured as the relation between chromium concentration in each sampling station and the chromium concentration related to the bottom level [29]. If the contamination factor (CF) has a value <1 the contamination level (CL) is low; if the CF is between 1 and 3 the CL is moderated; if CF is between 3 and 6, CL is considerable and if CF is >6, CL is very high.

ished gradually untill reaching the coast giving levels ca. 40 $\mu g\,g^{-1}$.

Recently Villares et al. [28] studied heavy metals in sediments of the Rías Baixas, including the Arousa estuary, and there were unsatisfactory results with Cr because of incomplete extraction of the metal by the acid digestion applied. Many authors attributed the incomplete extraction to the presence of certain chromium-containing minerals like chromite.

The degree of heavy metal pollution in the area researched could be normalised with background levels, that usually are investigated in the $<63\,\mu m$ fraction of marine sediment. To evaluate the contamination levels [29], normalisation of chromium was made and a background value of the specific morphology in the area of Arousa was applied [30]. The value applied for chromium monitoring in Arousa was 30 $\mu g\,g^{-1}$. The relation between the chromium concentration found in each sample and the background values, defined as the sediment contamination factor, is given in Fig. 5. Most of the stations have contamination levels (CL) with a moderated contamination factor (CF), between 1 and 3, and seven stations in the inner part of the estuary presented a considerable CF (between 3 and 6).

4. Conclusions

A method for total chromium determination in slurries of marine sediment samples has been developed based on ETAAS. This method presents good precision and accuracy, sample handling is minimal and possible sources of contamination are reduced.

The proposed method was applied to chromium analysis in all the Ría de Arousa samples. The impact of total chromium content on sediments is not easy to determine, but the results suggest that chromium is coming from anthropogenic sources and remains in the sediments being not easily available. The total chromium content in surface sediments of Arousa was between $43.4 \pm 1.7\,\mu g\,Cr\,g^{-1}$ and $186.9 \pm 15.4\,\mu g\,Cr\,g^{-1}$ in the sediment. Most of the higher chromium concentrations are obtained in sediments sampled inside the estuary and a long way from the coast. Ocean currents that go into the estuary give a special chromium distribution in sediments with higher concentrations in the north shore than in the south of the Arousa estuarine line. The results agree with moderated and considerable chromium contamination factors in sediments, and in general all the stations investigated presented chromium levels higher than the background value (30 $\mu g\,g^{-1}$), most stations between 3 and 6 times this concentration.

Acknowledgements

This paper is a contribution to the project Ref. PGIDT01-MAM20902PR, financed by the Consellería de Medio Ambiente y Secretaría Xeral de Investigación e Desenvolvemento da Xunta de Galicia. Paula Pazos Capeáns wishes to thank the Secretaría Xeral de Investigación e Desenvolvemento da Xunta de Galicia for a Tercer Ciclo Grant.

References

[1] M.E. Losi, C. Amrhein, W.T. Frankenberg, Rev. Environ. Contam. and Toxicol. 136 (1994) 91.
[2] D.G. Barceloux, Clin. Toxicol. 37 (2) (1999) 173.
[3] R. Prego, A. Cobelo-García, Environ. Pollut. 121 (2003) 425.
[4] S.J. Hill, S. Chenery, J.B. Dawson, E.H. Evans, A. Fisher, W.J. Price, C.M.M. Smith, K.L. Sutton, J.F. Tyson, J. Anal. At. Spectrom. 15 (2000) 763.
[5] U. Belazi, C.M. Davidson, G.E. Keating, D. Littlejohn, J. Anal. At. Spectrom. 10 (1995) 233.
[6] C.M. Davidson, R.P. Thomas, S.E. McVey, R. Perala, D. Littlejohn, A.M. Ure, Anal. Chim. Acta 291 (1994) 277.
[7] B. Schalscha, P. Escudero, Agrochimica 43 (3–4) (1999) 126.
[8] J. Usero, M. Gamero, J. Morillo, I. Gracia, Environ. Int. 24 (4) (1998) 487.
[9] C. Bendicho, M.T.C. Loos-Vollebregt, J. Anal. At. Spectrom. 6 (1991) 353.
[10] M.J. Cal-Prieto, M. Felipe-Sotelo, A. Carlosena, J.M. Andrade, P. López-Mahía, S. Muniategui, D. Prada, Talanta 56 (2002) 1.
[11] L. Ebdon, M. Foulkes, K. Sutton, J. Anal. At. Spectrom. 12 (1997) 213.
[12] N.J. Miller-Ihli, J. Anal. At. Spectrom. 12 (1997) 205.
[13] D. Littlejohn, S. C. Stephen, J.M. Ottaway. Paper number PF13 presented in SAC 86/3rd BNASS, Bristol, UK, July (1986).
[14] M. Hoeing, P. Van Hoegwehen, Anal. Chem. 58 (1986) 2614.
[15] P. Bermejo-Barrera, M.C. Barciela-Alonso, J. Moreda-Piñeiro, C. González-Xisto, A. Bermejo-Barrera, Spectrochim. Acta Part B 51 (9–10) (1996) 1235.
[16] R. Dobrowolski, Spectrochim. Acta Part B 51B (2) (1996) 221.
[17] V. Terzieva, S. Arpedjan, J. Anal. At. Spectrom. 13 (1998) 815.
[18] I. López-García, M. Sánchez-Merlos, M. Hernández-Córdoba, Anal. Chim. Acta 328 (1996) 19.
[19] N. Campillo, I. López-García, P. Viñas, I. Arnau-Jerez, M. Hernández-Córdoba, J. Anal. At. Spectrom. 17 (2002) 1429.
[20] J. Mierzwa, Y. Sun, M. Yang, Spectrochim. Acta Part B 53 (1998) 63.
[21] W. Klemm, G. Bombach, Fresenius J. Anal. Chem. 333 (1995) 12.
[22] N.J. Miller-Ihli, Spectrochim. Acta 50B (1995) 477.
[23] L. Manzoori, A. Saleemi, Anal. At. Spectrom. 9 (1994) 337.
[24] A. Boughriet, M. Wartel, J. Anal. At. Spectrom. 9 (1994) 1135.
[25] R. Chakraborty, A.K. Das, M.L. Cervera, M. de la Guardia, J. Anal. At. Spectrom. 10 (1995) 353.
[26] R. Cela, Avances en Quimiometría práctica, University of Santiago de Compostela, 1994.
[27] H. Keth, W. Crummett, J. Deegan, R.A. Libby, J.K. Taylor, G. Wentler, Anal. Chem. 55 (1983) 2210.
[28] R. Villares, X. Puente, A. Carballeira, Environ. Monit. Assess. 83 (2003) 129.
[29] E. Carral, X. Puente, R. Villares, A. Carballeira, Sci. Total Environ. 172 (2–3) (1995) 175.
[30] A. Carbelleira, E. Carral, X.M. Puente, R. Villares, Estado de la conservación de la costa de Galicia: nutrientes y metales pesados en sedimentos y organismos intermareales. Universidade de Santiago de Compostela. Consellería de Pesca, Marisqueo e Acuicultura (1997).

Available online at www.sciencedirect.com
SCIENCE DIRECT®
Talanta 65 (2005) 678–685
Talanta
www.elsevier.com/locate/talanta

Chromium available fractions in arousa sediments using a modified microwave BCR protocol based on microwave assisted extraction

P. Pazos-Capeáns, M.C. Barciela-Alonso, A. Bermejo-Barrera, P. Bermejo-Barrera*

Departments of Analytical Chemistry, Nutrition and Bromatology, University of Santiago de Compostela, E-15782, Santiago de Compostela, Spain

Received 8 March 2004; received in revised form 7 June 2004; accepted 23 July 2004
Available online 17 September 2004

Abstract

In a research of chromium availability, the three-stage sequential extraction procedure, proposed by European Community Bureau of Reference (BCR), has been applied for the metal fractionation in marine sediment samples. The procedure has been modified, evaluating the effect of microwave energy to perform the sequential method. Results achieved a substantial reduction in time in comparison to the traditional shaking technique. The time of the first and the second extractions were reduced to 30 s in both steps using microwave heating and working at 66 W of power. To the third extraction, higher power was necessary so it was chosen to work at 198 W. In the last step investigated, time was reduced to 1 min, being a great improvement respect to the conventional BCR sequential extraction protocol.

Chromium determinations in these extracts were carried out by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry (ETAAS). The developed method was applied for chromium determination in marine sediment samples from Ria de Arousa (Galicia, NW of Spain). The values obtained by our laboratory ranged from 0.10 to 1.02 $\mu g\,g^{-1}$ for soluble and reducible fractions, and from 5.5 to 60.0 $\mu g\,g^{-1}$ for the oxidisable fraction. The higher concentrations obtained were the chromium associated with the organic fraction of the marine sediments.
© 2004 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Chromium; Marine sediments; Microwave extraction; Fractionation; Electrothermal atomic absorption spectrometry; Metal sequential extraction; Chromium availability

1. Introduction

Chromium is a frequent estuarine contaminant due to its industrial applications such as leather tanning, dyeing or chromium plating, as well as other anthropogenic activities. Metals bioavailability in aquatic systems is difficult to assess due to the complexity of the matrix and many other environmental factors. A full detailed study of chromium bioavailability should consider among other sources, the chromium available fraction contained in the sediments direct in contact with the water column [1–4]. Marine sediments in estuaries and coasts are a common sink of pollutants. In fact, theories developed by earlier studies have demonstrated that chromium is liberated to the aquatic media depending on parameters such as pH, salinity or redox conditions [5,6].

The determination of chemical species is often difficult due to the composition and heterogeneity of the samples. Environmental studies developed methods to determine which metals are extracted using operationally defined procedures that employed several extractant reagents. The distribution and associated phase of a metal in a sediment usually involves the application of chemical extraction procedures. Different extraction techniques have been used to study the distribution of heavy metals throughout the different fractions in soils and sediments, including both single and sequential extraction procedures [7,8]. The determination of specific chemical species or binding forms using extraction procedures can be a good compromise to give information on environmental contamination risk and therefore to give chromium availability. The extracted fractions allow the study of bioavailability and behaviour of metals fixed to the sediments. Many different sequential extraction procedures have been recommended [9–11]. Amongst the most widely used are those of

* Corresponding author. Tel.: +34 600942346; fax: +34 981595012.
E-mail address: pbermejo@usc.es (P. Bermejo-Barrera).

0039-9140/$ – see front matter © 2004 Elsevier B.V. All rights reserved.
doi:10.1016/j.talanta.2004.07.031

Tessier et al. [12] and that developed under the auspices of the Commission of the European Communities, Community Bureau of Reference (BCR) [13]. In the BCR, sequential extraction procedure three fractions are obtained using CH_3COOH, $NH_2OH{\cdot}HCl$ and H_2O_2–CH_3COONH_4 for the first, second and third steps, respectively. Each extraction step does not differ in time consumed and they required 16 h shaking the sediment in contact with the extractant. The exchangeable, reducible and oxidisable fractions are obtained after each step. Therefore, one of the main limitations of sequential extraction procedures is that they are extremely time-consuming.

In the last years, different studies have been developed with the aim of reducing the time of these procedures. In the literature, different works have been published with this purpose, using ultrasound or microwave energy.

There are previous accelerated BCR procedures using an ultrasonic bath [14] for Cu, Fe, Mn and Zn determination in soils and sediments. The same ultrasound technique has been applied to accelerate the Tessier and BCR protocols [15–17]. A great decrease of the extraction time for Cu, Cr, Ni, Pb and Zn was obtained. The main problem is the poor sensitivity obtained with FAAS. It was not possible the determination of chromium in the first and the second fractions with the selected technique. The recovery obtained for the oxidisable and residual fractions are very low. Later, there were analyses of chromium by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry (ETAAS) in a certified sediment CRM BCR 601 [18] that only gave the certificated content of the first step of the BCR extraction procedure. Results are very interesting for chromium, despite of the problems with certification of the content in two of the three extracts of the protocol.

The second way to accelerate the procedure is by using microwave energy. Sequential extraction techniques with application of microwave heating were initially investigated [19] to improve the release of metals in each step of the sequential extraction procedure. Other works [20] used microwave conditions to accelerate the Tessier procedure for Fe, Mn, Cu, Cr, Ni and Zn. Great reduction of time was attained. Other workers [21–24] also used a microwave technique to analyse Cu, Cr, Ni, Pd and Zn and times obtained in Tessier procedure were less than 1 min. Again, the problem was the poor sensitivity of the FAAS that made impossible the chromium determination.

To avoid problems with matrix interferences in chromium determination by ETAAS, chemical modification is recommended. Different matrix modifiers have been used for chromium determination in samples with high saline matrix. Thus, researchers used NH_4VO_3, $NaWO_4{\cdot}2H_2O$ and $Pd(NO_3)_2$ [25] or introduced a mixture of $Mg(NO_3)_2$ and $Pd(NO_3)_2$ [26]. There are publications that applied a mixture of $Pd(NO_3)_2$ and $NaVO_3$ or $Pd(NO_3)_2$ for digested sediments [27].

In this work, a modified BCR procedure was developed, shortening each step using microwave heating to accelerate the action of the reagents.

The method developed was applied to the chromium determination in different marine sediment samples from the Ria de Arousa (Galicia, Spain). Each fraction reflects the availability of the metal along the estuary.

2. Experimental

2.1. Apparatus

Measurements were carried out using a Perkin-Elemer Model 1100B atomic absorption spectrometer equipped with an HGA-400 graphite furnace atomizer and an AS-40 autosampler. The source of radiation was a chromium hollow cathode lamp, operating at 12 mA, which provided a 357.9 nm line, with a spectral bandwidth of 0.7 nm. HGA Pyrocoated L'Vov Graphite Tubes were used. For all measurements made during this study, integrated absorbance with an integration time of 4 s was used. The temperature and time programmes for the atomiser are shown in Table 1. The volume injected was 20 μl.

A shaker (Vibromatic) and a magnetic stirrer (Agimatic) from Selecta (Barcelona, Spain) were used in the extraction procedures.

A microwave oven (Panasonic NN-5256) was used to accelerate the extractions, and solid residues were subsequently separated using a centrifuge Centromix, Selecta, Model 540.

2.2. Reagents

Chromium standard solution. A 1000 mg l^{-1} stock solution of chromium (Merk, Darmstadt, Germany) was used. Each test solution was prepared with ultrapure water immediately before use.
Magnesium nitrate Suprapur (Merck, Darmstadt, Germany).
Acetic acid HPLC grade 99.8% (Scharlau, Barcelona, Spain).
Hydrogen peroxide p.a. (Panreac, Barcelona, Spain).
Ammonium acetate p.a. (Panreac,. Barcelona, Spain).
Hydroxylammonium chloride Suprapur (Merck, Darmstadt, Germany).
Certified Reference Material CRM 601. Lake sediment, European Commission (Brussels).
Certified Reference Material CRM 701. Lake sediment, European Commission (Brussels).
Argon N50 99.999% purity, used as sheath gas for the atomiser and for internal purge.
Ultrapure water. Resistivity 18 MΩ cm obtained using a Milli-Q water purification system (Millipore).

All glassware was kept in 10% nitric acid at least 48 h and washed three times with ultrapure water before use.

2.3. Sample collection and pre-treatment

Surface sediment samples were collected by triplicate, from the Ria de Arousa (North West of Spain), with a grab,

Table 1
Optimized graphite furnace programme for chromium determination

Step	Temperature (°C)	Ramp time(s)	Hold time (s)	Argon flow (ml min^{-1})
Dry	120	10	20	300
Mineralization	1500	10	20	300
Atomisation	2400	0	4	0 (read)
Clean	2650	1	2	300

on board of the R/V Mytilus. The samples were removed from the surface layer with a polyethylene spoon to avoid contamination, and stored in a hermetic polyethylene bottle at 4 °C, previously cleaned with 10% nitric acid for 48 h and rinsed with Milli-Q water. The samples were lyophilised and sieved through a nylon mesh to separate the fraction with particle size less than 63 μm and stored in polyethylene bottles. Two sub-samples taken from each sediment sampling point were prepared for the BCR extraction procedure for chromium fractionation.

2.4. Accelerated sequential extraction procedure

In the first step, 10 ml of 0.11 mol l^{-1} acetic acid was added to 0.25 g of marine sediment sample in a centrifuge tube, and introduced in a microwave oven 30 s at 66 W. The tube was then removed, centrifuged (3000 rpm) and the supernatant was taken for the analysis. In the second step, 10 ml of 0.1 mol l^{-1} hydroxylammonium chloride adjusted to pH 2 with nitric acid was added to the residue from the first step, and the extraction was performed as described for the step 1. In the third step, peroxide digestion was performed according to the conventional BCR procedure. Finally, 12.5 ml of 1.0 mol l^{-1} ammonium acetate adjusted to pH 2 with nitric acid were added and the extraction was performed heating 1 min at 198 W in the microwave oven. The accelerated extraction procedure sequence is shown in Fig. 1. Chromium concentration in the three extracts was determined by ETAAS using the optimised graphite furnace programme.

Table 2
BCR sequential extraction procedure for sediments

Step	Extraction	Fraction obtained
1	CH_3COOH 0.11 M, 16 h	Exchangeable, acid- and water-soluble fraction
2	$NH_2OH.HCl$ 0.1 M, pH = 2 (with HNO_3), 16 h	Reducible fraction
3	H_2O_2 8.8 M, 3 h; extraction with ammonium acetate1 M, pH = 2 (with nitric acid), 16 h	Oxidisable fraction

3. Results and discussion

3.1. Chromium in the modified BCR fraction extracted

3.1.1. Optimisation of the graphite furnace programme

To optimise the graphite furnace programmes, a lyophilised marine sediment sample with a particle size less than 63 μm was used. The BCR standard extraction procedure (Table 2) was applied at this sample and the three extracts obtained were used to optimise the temperatures and times of the graphite furnace programme. All the extracts showed similar electrothermal results and the same programme was used for all the analysis. Optimum mineralization temperature was 1500 °C for each extract, and optimum atomisation temperature was 2400 °C. The influence of the addition of

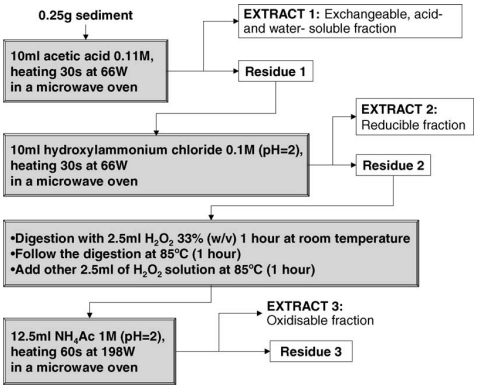

Fig. 1. Accelerated BCR sequential extraction procedure.

magnesium nitrate as chemical modifier was also studied and no improvement in the atomic absorption signal was obtained. For this reason, the ETAAS measurements were carried out in absence of matrix modifier.

3.1.2. Use of microwave energy to accelerate the extraction process

Since the BCR standard sequential extraction requires a long time in each extraction (16 h), it is no attractive to use in routine analysis of environmental samples. To accelerate the sequential extraction procedure, a microwave oven has been used. The experiments were carried out using centrifuge tubes because strong degrading conditions, such as powerful microwave digestions, were not employed. At these conditions, no extractant looses were detected and final volume was not modified through the microwave step. A conventional microwave oven has been used in other works. Neither problems have been observed nor the use of a conventional microwave has represented a danger to the analyst. No losses of analyte have been either observed, as long as the microwave power was not extremely high and the heating time was not too long [22,23]. The microwave power was recalculated to verify whether the experimental power corresponded with the one indicated by the manufacturer. The experiments were carried out using a fix volume of water and several apparatus powers were selected. The results obtained shown that the experimental power was 66% of the theoretical one. The experimentally determined power is shown through all this paper rather than the manufacturer indicative power in the apparatus.

The variables studied in this work were microwave power and time of exposition. Times studied were between 30 and 180 s for the first extraction, 30–120 s for the second extraction and between 60 and 180 s for the third extraction. Experimental microwave power studied were 66 W for the first and second extraction and 66 and 198 W for the third extraction.

Results obtained with one of our marine sediment samples in each acceleration conditions were compared with results obtained with the conventional BCR sequential extraction (Fig. 2). Chromium concentration obtained (with six subsamples of the same sediment) for the first and second extraction at 66 W was compared with the conventional BCR using a *t*-test and no differences were found at 95% of confidence level. For this reason, 30 s at 66 W were chosen as optimum conditions for the first and second extraction. For the third extraction, 66 W power was not enough to extract chromium. Therefore, experiments were done at 198 W working at different times. Chromium concentrations obtained were comparable with the value obtained for the conventional BCR extraction procedure. Thus, heating 1 min at 198 W was selected as optimum condition time for the third extraction.

In the conventional BCR sequential extraction, a digestion step with H_2O_2 was done for 3 h, heated at 85 °C previously to the third extraction. This step has not been accelerated in this work due to the foam formed during the first 2 h that made necessary stir manually the sample.

3.1.3. Calibration and standard addition graphs

The linear relationship between peak absorbance measurements (integrated absorbance) and chromium concentration ($\mu g\,l^{-1}$) in stock solutions and extracts was achieved with a chromium concentration between 0 and 10 $\mu g\,l^{-1}$. However, the solutions injected in the graphite furnace have provided very sensitive signals with 7.5 $\mu g\,l^{-1}$. Accordingly, we selected 7.5 $\mu g\,l^{-1}$ as the maximum levels used in the calibration and standard addition graphs. Standard aqueous solutions containing chromium concentrations 0, 2.5, 5 and 7.5 $\mu g\,l^{-1}$ were used to obtain a calibration graph. The standard addition method was applied over the same range of concentrations using the three different extracts of the marine sediment sample obtained in the sequential extraction procedure developed previously. To compare slopes of the calibration and addition graphs for the three extracts, the *t*-test (95% significance level) [28] was applied and no differences were observed for extracts one and two in several samples but differences were observed for the extract three. Hence, aqueous calibration was used for extracts one and two and standard addition method was used for extract three in each sample.

3.1.4. Sensitivity

Sensitivity was studied by means of three parameters: limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ) and characteristic mass (m_o) [29].

The limits of detection and quantification were 0.7 and 2.5 $\mu g\,l^{-1}$, respectively, for extract one; 0.8 and 2.7 $\mu g\,l^{-1}$, respectively, for extract two; 0.3 and 0.9 $\mu g\,l^{-1}$, respectively, for extract three. Considering that we obtained 10 ml of acetic acid extract, 10 ml of hydroxylammonium hydrochloride extract and 12.5 ml of ammonium acetate extract from 0.25 g of sediment the limits of detection and quantification obtained are 0.028 and 0.10 $\mu g\,g^{-1}$, respectively, for extract one; 0.032 and 0.11 $\mu g\,g^{-1}$, respectively, for extract two; 0.015 and 0.045 $\mu g\,g^{-1}$, respectively, for extract three.

Characteristic mass, m_o, is defined as the mass of analyte in picograms required to give a signal of 0.0044 for the integrated absorbance, the results were 3.0 ± 0.5 pg, 2.8 ± 0.5 pg and 3.0 ± 0.8 pg for extracts one, two and three, respectively.

3.1.5. Precision and accuracy

The over-all procedure was applied to five marine sediment sub-samples obtaining a chromium concentration of $0.191 \pm 0.006\,\mu g\,g^{-1}$ for the first extract, $0.126 \pm 0.008\,\mu g\,g^{-1}$ for the second and $5.85 \pm 0.16\,\mu g\,g^{-1}$ for the third. The within-batch precision obtained were 3.3, 6.2 and 2.7% for extracts one, two and three, respectively, the best reproducibility was obtained for extracts one and three. To study the accuracy of the method, the Certified Reference Material CRM 601 and the Certified Reference Material CRM 701 were used (Table 3). The CRM 601 is a lake sediment that has only certified the chromium concentration for the first extraction; the certified value is $0.36 \pm 0.04\,\mu g\,g^{-1}$. This reference material was subjected to the conventional sequential

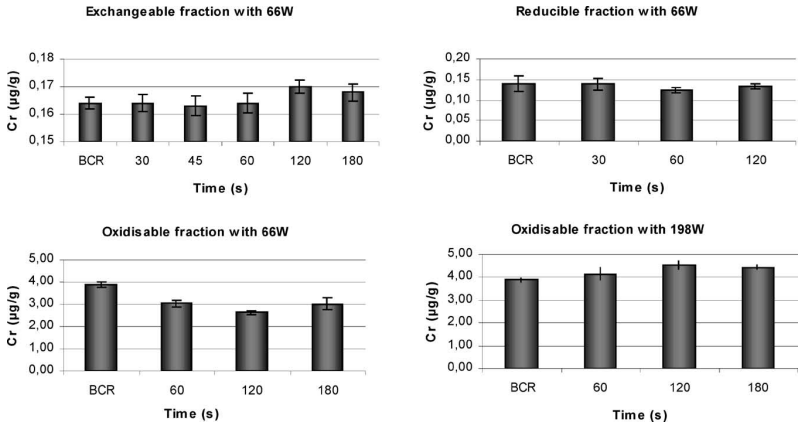

Fig. 2. Comparison of the chromium extracted with the conventional BCR protocol and the accelerated procedures, heating at different times and powers in the microwave oven.

extraction BCR procedure and the accelerated procedure developed in this work. Chromium concentrations found were $0.390 \pm 0.018\,\mu g\,g^{-1}$ and $0.390 \pm 0.015\,\mu g\,g^{-1}$, respectively.

We studied the extractable chromium content only in the first and the third step with our microwave extraction procedure, using the CRM 701, other certified lake sediment. This material follows a modified procedure in the reductive extraction with hydroxylammonium hydrochloride. Therefore, the second step is carried out following a new extraction protocol but the others follow the classic scheme. The authors of this new certified material used a concentration of $NH_2OH{\cdot}HCl$ (0.5 M) and an extractant at pH = 1.5, that was different from the conventional scheme proposed by the Bureau Community of Reference. For this reason, the first and the third steps were analysed with the accelerated optimised conditions, but not the second one. The conventional shake was followed to separate the reductive fraction. Results of our analysis are given in Table 3.

Table 3
Chromium concentration in certified material analysed with the optimised accelerated conditions using microwave energy

	Cr obtained ($\mu g\,g^{-1}$)	Certified and indicative values ($\mu g\,g^{-1}$)
CRM 601		
Fraction 1	0.39 ± 0.02	0.36 ± 0.04[c]
CRM 701		
Fraction 1	2.26 ± 0.04	2.26 ± 0.16
Fraction 2	43 ± 2[a]	46 ± 2
Fraction 3	138 ± 5	143 ± 7
Residual fraction	75 ± 3[b]	63 ± 7
Total extracted and residual	258 ± 10	254 ± 16
Total chromium content	282 ± 2[b]	272 ± 20

[a] Fraction two in the modified BCR protocol was applied by shaking.
[b] Total and residual fraction in CRM 701 were obtained analysing slurries by ETAAS [33]. The number of the analysis replicates in each sample was $n = 6$ and values of average and S.D. were consistent.
[c] Certified value ($\mu g\,g^{-1}$).

With these results, we can conclude that the method developed in this work is accurate for the first and third extractions. Results are comparable with the ones obtained with the conventional BCR procedure.

The recovery of the chromium added was studied for the three steps. Recoveries obtained with one of the marine sediment sample analysed were 97.4, 99.2 and 102.3% for extracts one, two and three, respectively. In all cases, we concluded that the recoveries obtained were suitable.

3.2. Applications

The developed method was applied to chromium fractionation in different marine sediment samples from Ria de Arousa (NW of Spain). The samples were collected by triplicate in the station points showed in Fig. 3a. Three subsamples from each sediment and two solutions were prepared for the accelerated sequential BCR extraction procedure, for chromium fractionation. The results were obtained (mean ± S.D.) by analysing six sub-samples in each sampling station of Arousa. The distribution along the estuary is shown in Fig. 3b–d. Exchangeable fraction (b) (first extract of the microwave accelerated BCR), reducible fraction (c) (second

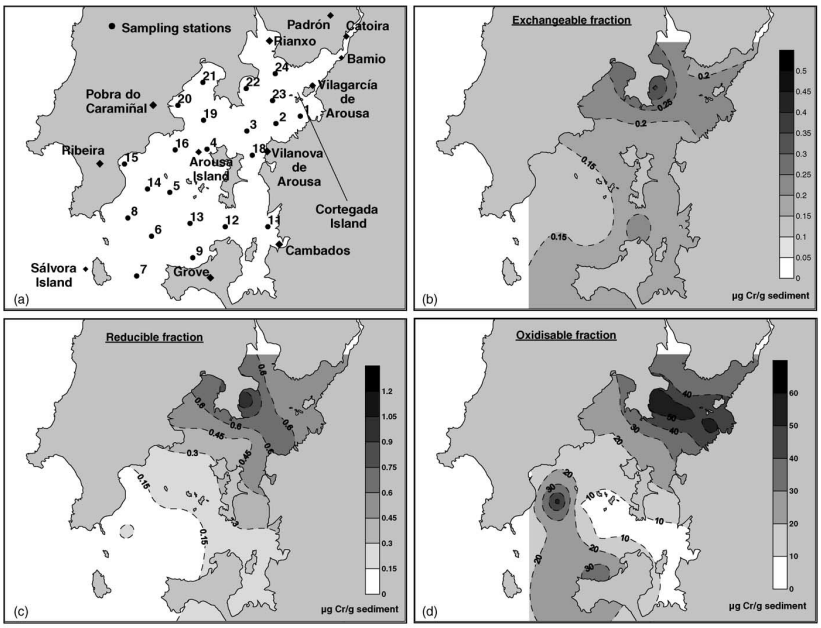

Fig. 3. (a) Sampling stations of marine sediment in Arousa estuary. (b) Chromium distribution along Arousa: exchangeable fraction. (c) Chromium distribution along Arousa: reducible fraction. (d) Chromium distribution along Arousa: oxidisable fraction.

extract) and oxidisable fraction (d) (third extract) are shown. Values obtained ranged from 0.10 to 0.36 $\mu g\,g^{-1}$ for the exchangeable fraction, 0.05 to 1.02 $\mu g\,g^{-1}$ for the reducible fraction and 5.5 to 60.0 $\mu g\,g^{-1}$ for the oxidisable fraction.

The most mobile fraction is the chromium water-soluble and chromium associated to soluble carbonates (first extract of the BCR procedure). Therefore, this fraction is the most easily exchangeable with the water column and the aquatic biota. The places that showed higher levels of exchangeable chromium were located in the northern margin of the estuary, around stations 21–24. Near to this area, anthropogenic activities are considerably higher than in the southern part of the estuary and the currents promote the accumulation of pollution close to the northern margin in the inner part of Arousa estuary. The lowest concentrations in this fraction were found near to the Atlantic Ocean end of the estuary. This suggests that the chromium concentration decreases gradually from the possible anthropogenic sources towards the ocean end.

The reducible fraction (second extract of the microwave accelerated BCR sequential extraction) is the chromium associated with iron or manganese oxides and hydroxides [13]. This sediment layer sometimes is very thin and the organic layer could be enough to obstruct the pollutant contact with the oxides. If chromium in the water column reaches the oxide layer, most of it will be trivalent chromium. The metal will combine with iron yielding a heterogeneous oxide, or it will suffer a redox reaction to be transformed into its trivalent state [30]. The behaviour of chromium distribution and the metal levels obtained in the reducible fraction agree with the results obtained in the first extract. Minimum chromium concentrations were close to the Atlantic Ocean end (between O Grove Peninsula, Sálvora Island and Ribeira). Higher chromium concentrations were found in the same area than the exchangeable fraction but also next to stations (one to two), in the southern margin of the inner estuary. Again, the lowest chromium concentrations were found close to the Atlantic Ocean end where chromium was slightly higher than the limit of detection (LOD = 0.032 $\mu g\,g^{-1}$ and minimum chromium detected was 0.050 $\mu g\,g^{-1}$).

The oxidisable fraction corresponded to the highest chromium levels obtained. This fraction is the chromium combined with the organic layer as well as the chromium associated with sulphur compounds. Although this fraction is not apparently available to the water column, this layer is the most important one in the sediments. Clams and other biota, filter and digest these organic compounds [31,32]. The inner part of the estuary is again the most contaminated. Chromium concentration range was between 40 and 60 $\mu g\,g^{-1}$ in this area. These results agree again with the higher chromium concentration in the reducible fraction. However, for the oxidisable fraction, reasonable high concentrations of chromium were also found close to the ocean end, next to stations eight and nine.

It is clear for the current research that chromium appears inside the estuary and is diluted towards the ocean. In our previous studies of Arousa about total chromium content in sediments, we found levels between 43 and 185 $\mu g\,g^{-1}$ with a similar distribution towards the ocean [33]. Carballeira and coworkers [34,35] suggested 30 $\mu g\,g^{-1}$ for chromium as the background value for this estuary (in the <63 μm fraction of the marine sediments). Therefore, according to our total metal content analysis in Arousa, the estuary could be described as a polluted area. However, results obtained with the fractionation protocol applied in the present study, show that the available fractions represent a low percentage of the total metal content.

4. Conclusions

Fast versions of the three-stage BCR sequential extraction have been developed. The use of microwave energy provides a large saving in extraction time relative to conventional shaking. The time is reduced from ca. 51 h, used in the conventional protocol, to approximately 3 h in the accelerated protocol. The results obtained with this method agree with those obtained by conventional procedure and therefore, the modified protocol is recommended. There are no changes in the sequential extraction composition of each extract, reflected clearly in results of the reference materials analysed. The developed method takes shorter than other methods proposed in the literature. For example, there are publications [36] where the researchers used an ultrasonic bath or a microwave oven for shortening the BCR protocol reducing the three steps to 100 s using microwave oven, working at 300 W, and 20 min for the first and second extraction using an ultrasonic bath. Therefore, the chromium concentration in the first fraction, obtained for these authors for the certified sediment sample BCR 601, using a microwave oven, did not agree with the certified value. There was also a time reduction [18] to 1 min for the first and second extraction and at 30 s for the third extraction for Cu, Cr, Cd, Pb, Ni determination in river sediments using an ultrasonic processor.

Chromium content in marine sediments shows that the metal appears in the river end, near to the anthropogenic activities, and it is transported along the estuary towards the open ocean. Maximum levels were obtained around the same place in the inner part of the estuary and close to the ocean end. The higher levels were analysed in the third extract of the BCR. They corresponded with the chromium associated to the organic layer. Although the exchangeable chromium is quite low, as well as the metal associated with the oxides layer, the metal combined to the organic materia was the highest percentage of the total metal extracted in Arousa sediments, and could be an uptake source to biota such as bivalves and organisms that live inside the Arousa sediments or filtrate the Arousa seawater.

Acknowledgements

This paper is a contribution to the project Ref. PGIDT01MAM20902PR, financed by the Consellería de Medio Ambiente y Secretaría Xeral de Investigación e Desenvolvemento da Xunta de Galicia. PPC wishes to thank Secretaría Xeral de Investigación e Desenvolvemento da Xunta de Galicia for funding.

References

[1] E.M. Lores, J.R. Pennock, Chemosphere 37 (1998) 861.
[2] A. Fajgelj, K. Lenart, V. Strauch, M. Schara, Vestn. Slovenskega Kemijskega Drustva 38 (1991) 469.
[3] A.C. Harzdorf, Int. J. Environ. Anal. Chem. 29 (1987) 249.
[4] L.M. Mayer, L.L. Schick, Environ. Sci. Technol. 15 (1981) 1482.
[5] D.G. Barceloux, J. Toxicol. Clin. Toxicol. 37 (1999) 173.
[6] M.E. Losi, C. Amrhein, W.T. Frankenberger, Rev. Environ. Contam. Toxicol. 136 (1994) 91.
[7] P. Quevauviller, TrAC, Trends Anal. Chem. 17 (1998) 289.
[8] G. Rauret, Talanta 46 (1998) 449.
[9] M.F. Kersten, U. Forster (Eds.), Chemical Speciation in the Environment, Glasgow, 2002.
[10] Z. Mester, C. Cremisini, E. Ghiara, R. Morabito, Anal. Chim. Acta 359 (1998) 133.
[11] J. Usero, M. Gamero, J. Morillo, I. Gracia, Environ. Int. 24 (1998) 487.
[12] A. Tessier, P.G.C. Campbell, M. Bisson, Anal. Chem. 51 (1979) 844.
[13] A.M. Ure, P. Quevauviller, H. Muntau, B. Griepink, Int. J. Environ. Anal. Chem. 51 (1993) 135.
[14] C.M. Davidson, G. Delevoye, J. Environ. Monit. 3 (2001) 398.
[15] B. Perez-Cid, I. Lavilla, C. Bendicho, Anal. Chim. Acta 360 (1998) 35.
[16] B. Perez-Cid, I. Lavilla, C. Bendicho, Fresenius J. Anal. Chem. 363 (1999) 667.
[17] B. Perez-Cid, I. Lavilla, C. Bendicho, Int. J. Environ. Anal. Chem. 73 (1999) 79–92.
[18] A.V. Filgueiras, I. Lavilla, C. Bendicho, Anal. Bioanal. Chem. 374 (2002) 103.
[19] K.I. Mahan, T.A. Foderaro, T.L. Garza, R.M. Martinez, G.A. Maroney, M.R. Trivisonno, E.M. Willging, Microw. Anal. Chem. 59 (1987) 938.
[20] C. Real, R. Barreiro, A. Carballeira, Sci. Total Environ. 152 (1994) 135.
[21] B. Perez-Cid, I. Lavilla, C. Bendicho, Anal. Chim. Acta 378 (1999) 201.

[22] B. Perez Cid, A. Fernandez Albores, E. Fernandez Gomez, E. Falque Lopez, Anal. Chim. Acta 431 (2001) 209.
[23] B. Perez Cid, A. Fernandez Albores, E. Fernandez Gomez, E. Falque Lopez, Analyst 126 (2001) 1304.
[24] B. Perez Cid, M. de Jesus Gonzalez, E. Fernandez Gomez, Analyst 127 (2002) 681.
[25] J.L. Manzoori, A. Saleemi, J. Anal. At. Spectrom. 9 (1994) 337.
[26] A. Boughriet, L. Deram, M. Wartel, J. Anal. At. Spectrom. 9 (1994) 1135.
[27] R. Chakraborty, A.K. Das, M.L. Cervera, M. De la Guardia, J. Anal. At. Spectrom. 10 (1995) 353.
[28] R. Cela (Ed.), Avances en Quimiometría práctica, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, 1994.
[29] L.H. Keith, W. Crummett, J. Deegan, R.A. Libby, J.K. Taylor, G. Wentler, Anal. Chem. 55 (1983) 2210.
[30] R.W. Puls, D.A. Clark, C.J. Paul, J. Vardy, J. Soil Contam. 3 (1994) 203.
[31] A.W. Decho, S.N. Luoma, Mar. Ecol. Prog. Series 108 (1994) 133.
[32] W.X. Wang, S.B. Griscom, N.S. Fisher, Environ. Sci. Technol. 31 (1997) 603.
[33] P. Pazos-Capeáns, M.C. Barciela-Alonso, A. Bermejo-Barrera, P. Bermejo-Barrera, Anal. Chim. Acta (2004), in press.
[34] A. Carballeira, E. Carral, X. Puente, R. Villares, Int. J. Environ. Pollut. 13 (2000) 534.
[35] E. Carral, X. Puente, R. Villares, A. Carballeira, Sci. Total Environ. 172 (1995) 175.
[36] I. Ipolyi, C. Brunori, C. Cremisini, P. Fodor, L. Macaluso, R. Morabito, J. Environ. Monit. 4 (2002) 541.

On-line Sequential Determination of Cr(III) and Cr(VI) With Selective Elution of Solid Extracts Using an Alumina Column

P. Pazos-Capeáns[a], M.C. Barciela-Alonso[a], A. Bermejo-Barrera[a], *P. Bermejo-Barrera[a], A. Fisher[b], and S. J. Hill[b]

[a] Department of Analytical Chemistry, Nutrition and Bromatology, University of Santiago de Compostela E-15782 Santiago de Compostela, Spain

[b] School of Earth, Ocean and Environmental Science, University of Plymouth, Drake Circus, Plymouth, PL4 8AA, United Kingdom

ABSTRACT

Many of the most recent developments in analytical and environmental chemistry involve metal speciation studies. For chromium it is possible to distinguish between the toxic hexavalent species and the non-toxic trivalent species. The purpose of this study was to develop a method for the quantification of chromium using an on-line system for the separation and preconcentration of both species. The research builds on previous publications using an alumina column and eluent solutions of ammonia for Cr(VI) and nitric acid for Cr(III). However, this approach facilitates either the determination of Cr(VI) or Cr(III), but not both from the same sample injection. Using standards containing both Cr(III) and Cr(VI) in Na_2CO_3/NaOH media at a pH of 7.5 ± 0.5, both species are retained on the column simultaneously, and are then eluted selectively and sequentially using ammonia solution and nitric acid. Similar results were obtained with samples containing Cr(VI). The optimum conditions obtained were 2M ammonia, 1.5M nitric acid, with a flow rate of 2 mL min^{-1}. Two types of samples, marine sediments and cements, were analyzed. The LODs were 0.45 $\mu g_{CrVI}\ g^{-1}$(alkaline extraction) / 0.38 $\mu g_{CrVI}\ g^{-1}$(water extraction), and 2.9 $\mu g_{CrIII}\ g^{-1}$(alkaline extraction) / 1.2 $\mu g_{CrIII}\ g^{-1}$(water extraction). Speciation recoveries were 102 ± 4% and 101 ± 5%, and the percent relative standard deviation of peak area was 7.1% and 8.7% for Cr(VI) and Cr(III), respectively. The overall recovery of the procedure of alkaline extraction/speciation for Cr(VI) was 99 ± 3% (75 $\mu g_{CrVI}\ g_{cement}^{-1}$); and linear ranges extended to 150 $\mu g\ L^{-1}$ for Cr(III) and 200 $\mu g\ L^{-1}$ for Cr(VI).

INTRODUCTION

Large volumes of Cr waste in various chemical forms are generated from industrial processes and discharged into the environment. These anthropogenic discharges of Cr result from industrial activities such as plating, tanning, paint and pigment production, chromite ore processing or cement production, where both the trivalent and the toxic and carcinogenic hexavalent compounds are used (1). Due to the different toxicity and bioavailability of the Cr species, environmental studies need to investigate the speciation of this metal (2). Several sample types have undergone study utilizing speciation analysis (3,4) with particular attention to pre-treatment techniques (5,6). Most of this work has focused on speciation in water samples, but additionally there are speciation studies based on industrial materials, soils, sediments, geological samples, sludge, clinical and biological samples, and also foods (7,8).

There are fewer analytical methods capable of identifying and quantifying chromium species in solid samples than there are for waters. Identifying one of the species in this kind of sample usually involves its selective extraction from the matrix. Different alkaline extraction procedures have been applied to extract all the chemical forms of Cr(VI) in solid samples. Hexavalent chromium has been extracted in these samples using sodium hydroxide or by Na_2CO_3/NaOH with and without heating (9). Cr(VI) determination in environmental media such as soils, sediments, and solid waste is routinely achieved following the USEPA Method: SW-846 Method 3060. The alkaline protocol (USEPA Method) has been evaluated positively for the accurate quantification of total Cr(VI) (10) and, therefore, the selective extraction is completed with the speciation of the extract. This should facilitate simultaneous speciation of both species, Cr(III) and Cr(VI), rather than the determination of only one of the chromium species in the alkaline extract of the solid samples investigated.

There are many publications describing the liquid chromatographic separation of aqueous species of Cr(VI) and Cr(III) (11). For solid samples, ion exchange may be applied following a previous alkaline extraction (12). Additionally, non-chromatographic solid

*Corresponding author.
E mail: pbermejo@usc.es
Tel: +34600942346
Fax: +34981547141

adsorbents have been employed in flow injection systems for preconcentration prior to the speciation of chromium. Several metal oxides, e.g., ZrO_2, TiO_2, MgO, CeO_2, or Al_2O_3, have been used as selective adsorbents in preconcentration systems for aqueous solutions (13–16). Water samples containing Cr(III) and Cr(VI) were analyzed with simultaneous preconcentration using a small column of acidic or neutral activated alumina. The species were eluted with ammonia solution for Cr(VI) and with nitric acid solution for Cr(III) (17–20). For solid samples, speciation was investigated applying weak extraction methods prior to the separation of the chromium forms; here, the acid-activated aluminium oxide adsorbed Cr(VI) at pH 2–7, while the Cr(III) was not retained (21,22). Many of the above methods are based on the simple and inexpensive chromium speciation with alumina because of its high affinity for both Cr(III) and Cr(VI), but most of the studies have been for a water matrix and required pH changes to preconcentrate and separate the species. Hence, the determination was not simultaneous.

The aim of this study was to determine the speciation of chromium in extracts from solid samples. There are no previous publications describing the use of alumina for the speciation of chromium in extracts of solid samples retaining both Cr(VI) and Cr(III) simultaneously into the alumina column from the same sample injection.

Chromium speciation in marine sediment and cement samples was investigated to complete this work. Cements were studied because of health risks and its international interest. The European Commission recommends that cement should not be placed on the market or used as a substance or be a constituent of a preparation for manual activities when there is a risk of contact to the skin, and if it contains more than 2 μg g^{-1} (0.0002%) soluble Cr(VI) (23). The other samples investigated were marine sediments where speciation is used to establish toxicity and environmental consequences. Sediments are useful indicators for monitoring heavy metals pollution since these are usually present at higher levels than in waters from the same sampling site.

EXPERIMENTAL

Instrumentation

A schematic diagram of the instrumentation used is shown in Figure 1. The individual components included a Rheodyne Model 7060RV, 6 Position/6 Port standard valve (Bensheim, Germany), a Model Minipuls™-3 peristaltic pump (Gilson, Villiers le Bel, France), and a PerkinElmer® Model 3110 flame atomic absorption spectrometer (PerkinElmer Life and Analytical Sciences, Shelton, CT, USA) with a chromium hollow cathode lamp (Cathodeon, Cambridge, UK). Other instrumentation used during sample preparation included a shell freeze system (Labconco, Kansas, USA), Centromix Selecta Model 540 centrifuge (Centromix, Abrera, Spain), Sartorius Model BP121S analytical balance (Sartorius, Goettingen, Germany), "Vibromatic" shaker from Selecta, "Agimatic" magnetic stirrer from Selecta, polytetrafluoroethylene (PTFE) column (5 cm length, 3 mm i.d.), and polyethylene (PE) tubings and connectors from Gilson and PerkinElmer. Redox potential and pH measured were with a Thermo Orion Model 720 pH meter (Thermo Orion,

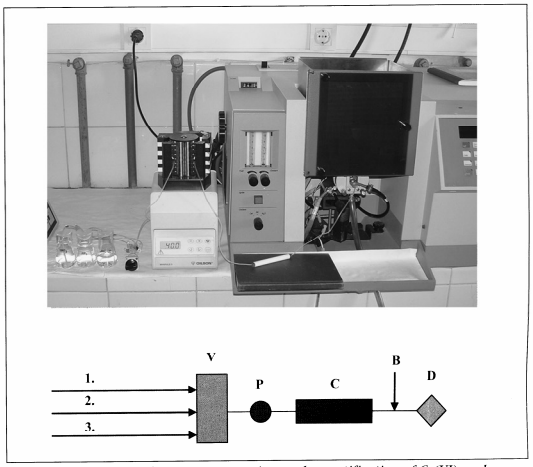

Fig. 1. On-line system for preconcentration and quantification of Cr(VI) and Cr(III) of the solid extracts: Photograph and schematic. Numbers 1, 2, and 3 correspond to the order of the pumped solutions through the system: 1(sample extract), 2(ammonia 2M), and 3(nitric acid 1.5M). V: valve; P: peristaltic pump; C: alumina column; B: air-bleed, and D: FAAS detection system.

Atomic Spectroscopy
Vol. 27(4), July/August 2006

Beverly, MA, USA) equipped with a Thermo Orion Model 8102BN glass body combination pH electrode and a Model Inlab 501 ORP electrode (Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland).

Reagents

Reagents used included chromium standard solution of $Cr(NO_3)_3$ (Merck, Darmstadt, Germany); potassium chromate PR (Panreac, Barcelona, Spain); sodium hydroxide pellets PA (Panreac, Barcelona, Spain); sodium carbonate anhydrous extrapure (Scharlau, Barcelona, Spain); ammonia solution 25% PA (Panreac, Barcelona, Spain); nitric acid 69% (Hiperpur from Panreac, Barcelona, Spain); sulphuric acid 95-98% (J.T. Baker B.V., Deventer, Holland); and aluminium oxide 90 active neutral (activity stage I) for column chromatography (Merck, Darmstadt, Germany). Where necessary, dilution was realized with Milli-Q™ water (18 MΩ cm, Millipore Corporation, Bedford, MA, USA).

Sample Collection and Pre-treatment

Extraction and speciation procedures were applied to two types of samples: environmental and industrial.

(a) The marine sediment samples were obtained from an estuary polluted with chromium compounds. The surface sediment samples were collected from the Arousa Estuary (Northwest Spain) with a grab, operated from on board the ship R/V Mytilus. The samples were removed from the surface layer with a polyethylene spatula to avoid contamination, and then stored in a hermetically sealed polyethylene bottle at –22°C to avoid changes in sample speciation. The bottles had previously been cleaned with 10% nitric acid for 24 hours and rinsed with Milli-Q water. The samples were lyophilized in a shell-freeze system and then sieved through a 63-µm nylon mesh before storing in polyethylene bottles. In heavy metal studies, the effect of variable grain size is reduced by the separation of the fine fraction of the sediment (24). The size-normalized data for chromium was obtained analyzing the sediment fraction of <63 µm.

(b) The cement samples used for this study were collected from four sampling points in the line production of a factory and stored in hermetically sealed polyethylene bottles at room temperature. The particle size was again <63 µm.

Alumina On-line Speciation System

The speciation and preconcentration system employed used an activated acidic alumina column that was prepared, as in previous chromium concentration works published (25), by mixing 2 g of Al_2O_3 with 3–5 mL nitric acid (6M), boiling for 5 minutes, rinsing with water, and then packing into the PTFE column. The column capacity was 0.5 g of Al_2O_3. Stock solutions and sample solutions were introduced into the system using a 6-port valve. First, sample/standard was pumped through the column, followed by the elution of Cr(VI) with ammonia, and finally by the elution of Cr(III) with nitric acid solution (Figure 1).

RESULTS AND DISCUSSION

Chromium Extraction and Speciation

Two different extraction procedures were applied to determine the total Cr(VI) and the water-soluble Cr(VI) levels. In addition, an evaluation was made as to whether or not Cr(III) was extracted simultaneously.

For the total extraction of one of the chromium species from the solid samples, the alkaline extraction procedure described in the USEPA SW-846 Method 3060 was evaluated. With this extraction, the total hexavalent species was obtained with a pH of >12, which also renders the trivalent chromium insoluble. The extractant was a mixture of Na_2CO_3 (0.28M)/NaOH (0.5M) which liberated all the chemical forms of Cr(VI) from the solid sample.

The study of water-soluble Cr(VI) in cements followed the TRGS 613 procedure (26) which involved a shaking step of the sample with Milli-Q water. Both the total Cr(VI) and the water-soluble Cr(VI) extraction methods listed in Table I completed the study of the forms of Cr(VI) in the samples. Both extracts were separated from the residual solid fraction by centrifuging at 3000 rpm for 10 minutes. Once separated, the alkaline

TABLE I
Conditions Applied to the Solid Samples to Extract Total Soluble and Insoluble Cr(VI)[a] or Water-soluble Cr(VI)[b]

Item	Alkaline Extraction[a]	Water-soluble Extraction[b]
Weight of sample with particle size of < 63 µm taken / g	2	1
Extractant Solution	Na_2CO_3(0.28M)/ NaOH(0.5M)	Milli-Q Water
Extractant Solution Volume (mL)	20	6
Extraction Temperature (°C)	90–95	Ambient
Extraction Time (min)	60	15
Extraction Conditions	Magnetic Stirring	Mechanical Shaking
Acidification	pH between 7–8	pH between 7–8

extract was diluted 50-fold with Milli-Q water and the pH adjusted to 7.5 ± 0.5 with 3M sulphuric acid. The pH working range used for the alumina column was between 6–8, and avoiding other pH values where the simultaneous retention and sequential elution of chromium species was not possible. The solution was then injected into the on-line alumina system (Figure 1). The water extract was also centrifuged and its salt composition was modified by adding an aliquot of the of Na_2CO_3/NaOH solution using the same pH working interval (7.5 ± 0.5). The volume of the saline solution added was sufficient to achieve an overall 50-fold dilution, but not the same dilution of the sample extract.

On-line Speciation Using an Activated Alumina Column

For the initial investigations, only single chromium species solutions were used. It was found that Cr(III) was not liberated by the ammonia solution, but conversely Cr(VI) was liberated with ammonia while not giving any signal during the nitric elution/cleaning step. The concentration of the extractant solution (Na_2CO_3/NaOH) was found to be critical for the working conditions of the Al_2O_3 column.

Two parallel studies (Figure 2) were carried out to invcstigatc thc working conditions of the chromium speciation in the alumina column:

(a) Na_2CO_3 (0.28M) / NaOH (0.5M) (concentration of the USEPA Method SW 846 3060 for alkaline extraction) diluted and the pHs adjusted to 7.5 ± 0.5. All pH of the extractant solutions (Na_2CO_3/NaOH) were adjusted with sulphuric acid to give a working pH between 7–8 in order to achieve relative stability of both chromium species. The original alkaline extractant was eluted at different times (25-, 50-, and 100-fold) with Milli-Q water. All dilutions were spiked with 100 µg L^{-1} of Cr(III) and 100 µg L^{-1} of Cr(VI), then injected into the on-line system.

(b) Synthetic solutions containing sodium concentrations were prepared with NaCl to achieve an equivalent sodium content in the alkaline dilutions. To study the cationic effect in chromium speciation, different sodium concentrations equivalent to the extractant solutions studied were analyzed to compare the results of Cr(III)/Cr(VI) retention and the elution in the alumina column (Figure 2). These different concentrations of the sodium solutions were prepared with NaCl at the same pH interval and the pH was adjusted where necessary with the ammonia used for the Cr(VI) elution. The sodium chloride solutions were spiked with the same chromium content of both species; but the absence of sulphates (anions that interact with alumina) in the sample solutions (NaCl) makes total preconcentration of the Cr(III) species not possible and gives a chromium signal with the sample pumping step.

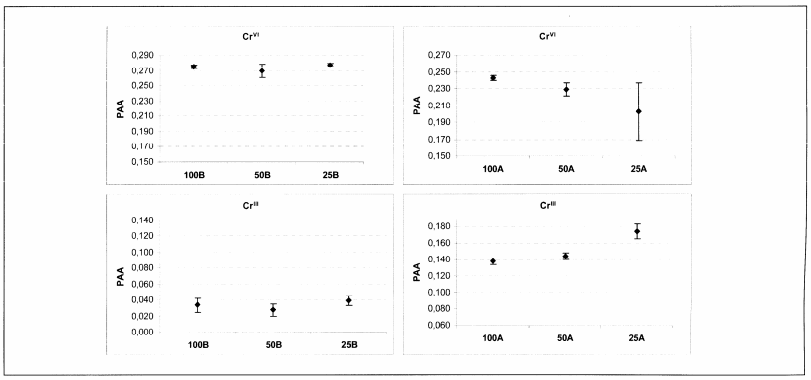

Fig. 2. Study of Na_2CO_3 (0.28M) / NaOH (0.5M) effect in the alumina column by means of peak absorbance area (PAA) of chromium species, and parallel study with the same sodium content (NaCl) in all dilutions.
A: Na_2CO_3 (0.28M) / NaOH (0.5M) solution with 100-, 50-, and 25-fold dilutions;
B: NaCl solutions with dilutions having the same concentration of sodium content in A solutions.

Atomic Spectroscopy
Vol. 27(4), July/August 2006

The results demonstrate that the sodium concentration is not enough for the speciation work. The column needed both an anionic and cationic charge and interaction with the chromium retention and speciation. Figure 2 shows that diluting the extractant only 25-fold results in the smallest absorbance peaks for Cr(VI) (corresponding to the highest sulphate concentration added) but the highest peaks for Cr(III). Although a 100-fold dilution gave better results for Cr(VI), they were poorest for Cr(III). Reversible and reproducible injections of both species were obtained using at a 50-fold water dilution of the Na_2CO_3 (0.28M) / NaOH (0.5M) solution where both species are reproducible, with reversible retention and elution.

Optimization of the Pumping Flow Rate

Peak profiles depend directly on the pumping flow rate introduced into the air-acetylene flame and the flame aspiration flow. Coupling of the column with the FAAS instrument was achieved by the simple connection of the aspiration tube of the nebulizer to the end tube of the column. Since the flow rate of the pump through the column has little effect on the aspiration flow rate, an air flow was added to compensate for this change between pump and nebulizer. The air flow was introducted with a T-connection at the end of the column. The post-column flow rate (mL min^{-1}) versus the pump speed (rpm) was studied and a linear working range was obtained up to 40 rpm (flow rate = 0.0516 × rpm + 0.0340; $r^2 = 0.9996$) without leaking. The higher flow rates of the system (2 mL min^{-1}) gave the best absorbance peak shapes. Pump speeds higher than 40 rpm, the last point of the linear range, led to a leaking of the aqueous solution. The changes in time elution and peak shapes are shown in Figure 3.

Optimization of Cr(III) and Cr(VI) Elution

The mentioned amphoteric properties of aluminium oxide and its interaction with metals like chromium are well known for workers who started studies of metal adsorption onto alumina at a different pH. Previously mentioned studies of chromium speciation have used ammonia and nitric acid solutions for the selective elution of chromium species. The pH was critical and in most studies the preconcentration and speciation was not simultaneous. Publications concerning chromium speciation in water using alumina columns have focused on the retention of the hexavalent chromium that is eluted using ammonia solutions at a specific pH. In this study, by changing the pH, the trivalent chromium becomes retained on the alumina and is then eluted with nitric acid. The alkaline matrix in the present study completely changed the mechanism of the adsorption properties of the alumina. A change in pH was not necessary when the alkaline saline concentration of the solutions, pumped through the alumina column, was kept constant. Both Cr(VI) and Cr(III) were retained and preconcentrated simultaneously for the same sample injection: Cr(VI) eluted first with ammonia, followed by Cr(III) with nitric acid. The nitric acid also served to clean the system.

The initial concentration of eluents during the optimizations was 1.5M for ammonia and 1M for HNO_3. The first eluent studied was ammonia. The results of the univariant optimization of the ammonia concentration for the liberation of the hexavalent chromium species are shown in Figure 4(a). With 0.5M ammonia, the peaks were broad and the analysis was more time-consuming. At higher concentrations of ammonia (2M and 3M), sharper peaks were obtained and the total liberation of the analyte was more rapid. A concentration of 2M (30–45 seconds at 2 mL min^{-1}; see Table II) was selected to avoid degradation of the alumina column arising from extreme changes in pH.

For the trivalent species, the peak shapes were better when the nitric acid concentration was higher. As with ammonia, the lowest acid concentration that yielded a well-shaped absorbance peak while eluting all of the analyte was selected. Figure 4(b) shows that a concentration of 1.5M (30–60 seconds at 2 mL min^{-1}; see Table II) was sufficient to achieve a good peak shape.

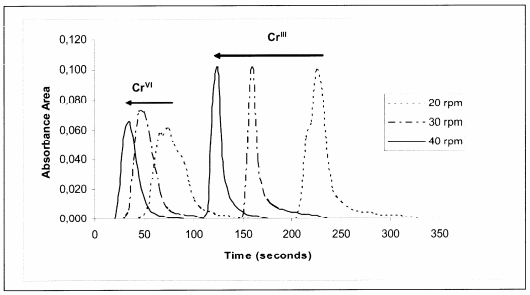

Fig. 3. Peak profiles obtained for elution of both chromium peaks with different flow rates.

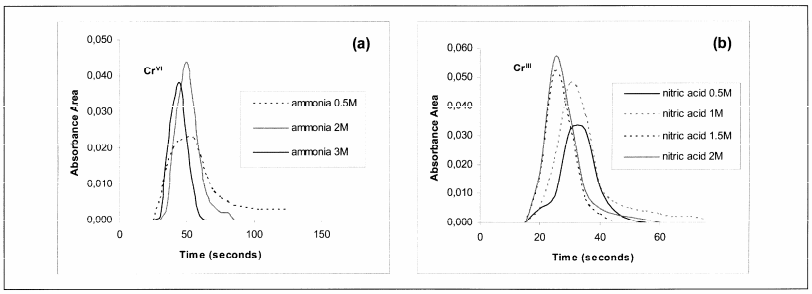

Fig. 4. (a) Peak profiles obtained for elution of Cr(VI) with different ammonia solution concentrations and (b) peak profiles obtained for elution of Cr(III) with different nitric acid concentrations. For Cr(III) elution, the ammonia concentration used was the optimum obtained [Cr(VI) with ammonia 2M].

TABLE II
Analytical Characteristics in the On-line Simultaneous Determination of Cr(III) and Cr(VI) in Alkaline and Water Extracts of Solid Samples

Item	Cr(VI)	Cr(III)
LOD (n=11) Alkaline Extract	0.45 μg g^{-1}	2.9 μg g^{-1}
LOD (n=11) Water Extract	0.38 μg g^{-1}	1.2 μg g^{-1}
LOQ (n=11) Alkaline Extract	1.52 μg g^{-1}	9.6 μg g^{-1}
LOQ (n=11) Water Extract	1.26 μg g^{-1}	3.4 μg g^{-1}
Calibration Graph	A=0.0013C-0.0001	A=0.0010C-0.0033
	R=0.9977	R=0.9997
Addition Graph	A=0.0013C+0.0366	A=0.0007C-0.0013
	R=0.9979	R=0.9972
Matrix Effect in the On-line System	No	Yes
%RSD (CV%) n = 11	7.1	8.7
Working Range	0-150 μg L^{-1}	0-200 μg L^{-1}
Time of Peak Elution	30-45 sec	30-60 sec

Atomic Spectroscopy
Vol. 27(4), July/August 2006

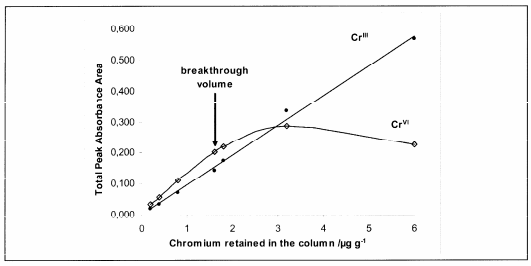

Fig. 5. Variation and lineal response of Total Absorbance Peak Area versus Cr(III/VI) concentration pumped through the alumina column and breakthrough volume of Cr(III).

Adsorption Capacity of Alumina for Cr(VI) and Cr(III)

The column (5 cm long, 3 mm i.d.) contained 0.5 g of Al_2O_3. The maximum loading of the column was studied by pumping a 100-µg L^{-1} Cr(III) / 100-µg L^{-1} Cr(VI) solution over different time periods. Total peak absorbance areas (TPAAs) obtained are shown in Figure 5 and demonstrate a linear response for Cr(VI) and Cr(III) with different concentrations. The maximum Cr(VI) that could be retained on the alumina column was 1.6 µg per g of Al_2O_3 (TPAA [Cr(VI)] = 0.1227 × C + 0.0118; r^2 = 0.9991 where C is µg of Cr(VI/III) per g of Al_2O_3). However, a linear response was still obtained with more than 6 µg of Cr(III) per g of Al_2O_3 (TPAA [Cr(III)] = 0.0964 × C – 0.0005; r^2 = 0.9958). The maximum chromium concentration selected for routine analysis using this system was therefore the last point of linear response of Cr(VI).

Analytical Characteristics

Calibration graphs were measured with a diluted and a pH-adjusted Na_2CO_3/NaOH solution. The addition graphs were obtained with a cement extract following the alkaline extraction procedure, adjusting the pH and diluting (50-fold with Milli-Q water, pH 7.5±0.5 with sulphuric acid). A comparison of the slopes of the calibration and the standard addition graphs using a *t*-test (95% significance level) (27) was made and no differences were observed for Cr(VI), but significant differences were observed for Cr(III), indicating that there was a matrix effect with Cr(III) in the column-FAAS detection system but not with Cr(VI) (Table II). This matrix effect is basically due to the different column interaction with Cr(III) of the sample and the stock solutions.

The limit of detection (LOD) and the limit of quantification (LOQ) were calculated from 11 blank injections introduced through the on-line system. The injection repeatability was calculated from 11 injections of the same solution containing 100 µg L^{-1} of each chromium species. The limit of detection is defined as 3×SD/m, where SD is the standard deviation of the measurements and m is the slope of the calibration (for the hexavalent chromium) or the slope of the standard addition (for the trivalent chromium) graphs. LOQ is defined as 10×SD/m. The injection repeatability is the closeness of agreement between independent results obtained with the same on-line preconcentration/speciation/detection method on an identical test material, under the same conditions (same operator, same apparatus, same laboratory, and after short intervals of time). Injection repeatability was evaluated by measuring the consecutive injections in the system (n=11) by means of the percent relative standard deviation (%RSD). The %RSD or CV(%) is defined as SD/X*100, where SD is the standard deviation of the peak absorbance signal of the solution injected n times, and X is the average of the peak absorbance signals obtained. The results are given in Table II.

Interferences

Alumina is an amphoteric oxide that retains both chromium species in the conditions explained in this work. Cr(III) is retained in the column because of its cationic behavior with alumina and Cr(VI) is retained like a typical anion (28). Cation sorption favors electrostatic adsorption of Cr(VI) anions but does not improve the cationic retention of Cr(III) as we concluded in the sodium chloride studies. The Cr(III) and Cr(VI) sorption in the alumina column was evaluated in the presence of different cations, interferences that could be co-eluted or could be competing with chromium species. The effect of the metals investigated demonstrates that there are no obvious interferences to be expected. Only the study gives sensible interferences with Fe(III) at 5 µg mL^{-1} and Al(III) at 0.5 µg mL^{-1}. The results are shown in Table III.

Applications

The speciation system described above was applied to the analysis of cements and marine sediment samples. The study was focussed on total Cr(VI) content and was completed with the water-soluble frac-

tion. The results are given in Table IV. No Cr(III) was detected in any of the alkaline extracts, as we expected.

The alkaline extraction procedure was also examined (Table V). To verify the efficiency of the extraction procedure, four cement samples were spiked with Cr(VI) (75 $\mu g_{CrVI}\ g_{cement}^{-1}$), followed by the extraction and speciation steps to obtain the recoveries of the overall process. The concentration of Cr(VI) spiked in the sediments were 25–50–75 $\mu g_{CrVI}\ g_{sediment}^{-1}$. The total Cr content determined was between 34 and 41 $\mu g_{Cr}\ g_{cement}^{-1}$ (determination by ETAAS of an acid digestion with aqua regia); and around 60 $\mu g_{Cr}\ g_{sediment}^{-1}$ (determination by ETAAS in slurries) (29). For the marine sediments, the sample matrix was rich in organic material. Values of pH/E_h(mV) were obtained following EPA Method 9045 (30), shaking the solid samples for 30 minutes with 0.01 mol L^{-1} $CaCl_2$, and letting the slurry stand undisturbed for about one hour to allow most of the suspended clay to settle out. The results of the redox potential (E_h/mV) were weakly reducing (31): 400–200 mV, and pH values around 7.5–8.2. Therefore, the pH/E_h values were found to be near the solid $Cr(OH)_3/CrO_4^{-2}$ interface, since the hydroxide form is the most stable.

TABLE III
Influence on Absorbance Area of Cr Species Peaks Adding Different Ions as Potential Interference

Ion	[Interference] (μg mL^{-1})	Cr(VI) Signal Variation(%)[a]
Al(III)	0.5	16.8
	0.25	1.0
Cd(II)	5	5.1
Cu(II)	5	1.8
Fe(III)	5	10.5
	1	-3.4
Mn(II)	5	7.8
	3	-1.0
Ni(II)	0.25	-1.0
Pb(II)	5	-1.7
Zn(II)	10	8.7
Ion	**[Interference] (μg mL^{-1})**	**Cr(III) Signal Variation(%)[a]**
Al(III)I	0.5	-13.5
	0.25	1.9
Cd(II)	5	8.2
Cu(II)	5	6.5
Fe(III)I	5	64.9
	1	32.8
	0.5	-10.9
	0.25	6.1
Mn(II)	5	15.3
	3	-6.3
Ni(II)	0.25	3.8
Pb(II)	5	4.6
Zn(II)	10	3.9

[a] Signal variation of Cr was obtained adding interference ions in a solution of 100 μg L^{-1} Cr(III) / 100 μg L^{-1} Cr(VI) and compared with the signal without any interference.

TABLE IV
Chromium Determination in Cement and Estuarine Sediment Samples From Arousa (μg g^{-1})

Sample	Cr(VI) (μg g^{-1}) (Alkaline Extraction)	Cr(VI) (μg g^{-1}) (Water Extraction)	Cr(III) (μg g^{-1})
Marine Sediments	<LOD	Not analyzed	<LOD
Cement 1	4.9 ± 0.8	2.11 ± 0.03	<LOD
Cement 2	3.2 ± 0.9	<LOD	<LOD
Cement 3	4.5 ± 0.8	1.9 ± 0.1	<LOD
Cement 4	1.9 ± 0.7	< LOD	<LOD

Atomic Spectroscopy
Vol. 27(4), July/August 2006

It was concluded that Cr(VI) was not stable in the sediment samples because of the reducing conditions. This lack of stability was demonstrated by spiking Cr(VI) into the sediments before the alkaline extraction, as in the cements. Recovery was found to be extremely low when the sediments were extracted using the standard method (Table V). The effects of the organic material, the pH of the water, and the general reductive nature of the sediments make it unlikely that the Cr(VI) will remain stable. However, with the cements, Cr(VI) was detected and found to be stable.

Recovery values of the speciation method were obtained with different concentrations of Cr(VI) and Cr(III) spiked into the cement extract (Table VI). The objective of this experiment was to evaluate the recovery of both the trivalent and hexavalent Cr from the alumina system at different chromium levels. The material was deliberately not spiked in these experiments because the extraction step is reportedly selective for Cr(VI).

TABLE V
Cement and Marine Sediment Samples Spiked With Potassium Chromate for Different Times Before Extraction Step[a]

Spiked Sample	Cr(VI) Spiked (μg g^{-1})	Recovery (%)
Cement 1[a]	75	105
Cement 2[a]	75	96
Cement 3[a]	75	100
Cement 4[a]	75	95
Marine Sediment[b]	25	0
Marine Sediment[b]	50	0
Marine Sediment[b]	75	0

[a] Potassium chromate was in contact with cements for 4 hours before the extraction step.
[b] Potassium chromate was in contact with marine sediments at different times up to 24 hours.

TABLE VI
Speciation Recoveries Obtained for Cement Extract Spiked at Different Cr(VI-III) Levels

Cr(VI)	
Spiked Levels	30, 60, 90, 120 μg L^{-1}
Recovery	99 ± 2%
Cr(III)	
Spiked Levels	50, 100, 150, 200 μg L^{-1}
Recovery	101 ± 6%

CONCLUSION

The on-line system described is simple to construct, rapid, and relatively inexpensive. The results agree well with those obtained in previous Cr(III) and Cr(VI) speciation studies. However, in those investigations using alumina for the speciation, changes in pH were required for the selective retention of one of the chromium species. In our present study, a simultaneous and selective procedure to speciation and preconcentration of Cr(III) and Cr(VI) in solid sample extracts is described without requiring pH changes during the retention phase. The sample extracts were pumped through the alumina column and no chromium species were lost during this step. Ammonia solution was then pumped through the column, and Cr(VI) eluted and determined by FAAS. Finally, nitric acid was used to liberate Cr(III) and to clean the system prior to a further sample injection.

Optimization of flow rate, concentration of ammonia and nitric acid, capacity of the alumina column, and salt concentration in the extracts injected in the on-line system was established. The analytical characteristics are presented and the optimized procedure was applied to real samples. Extraction of materials (cements and sediment samples) was performed using a standard USEPA method and, depending on the sample matrix, Cr(VI) was extracted and detected. Cr(VI) was detected in cement samples, but neither Cr(VI) nor Cr(III) were detected in alkaline extracts of marine sediment samples. This was attributed to the strongly reducing nature of the sediment samples in converting Cr(VI) to Cr(III).

ACKNOWLEDGMENTS

This paper is a contribution to project Ref. P6IT0IMAM20902DR, financed by the Conselleria de Medio Ambiente e Secretaría Xeral de Investigación e Desenvolvemento da Xunta de Galicia. In addition, PPC wishes to thank the Ministerio de Educación, Ciencia y Deportes, for supplying her a grant to make this work possible.

Received March 30, 2006.

REFERENCES

1. M.E. Losi, C. Amrhein, W.T. Frankenberger, Env. Biochem. of Chromium 136, 91 (1994).
2. D.G. Barceloux, J. Toxicol.-Clin. Toxicol. 37(2), 173 (1999).
3. A.K. Das and R. Chakraborty, Fresenius J. Anal. Chem. 357(1), 1 (1997).
4. L.A. Ellis and D.J. Roberts, J. Chromatogr. A 774(1-2), 3 (1997).
5. J. Kotas and Z. Stasicka, Environ. Pollut. 107(3), 263 (2000).
6. M.J. Marques, A. Salvador, A. Morales-Rubio, and M. de la Guardia, Fresenius J. Anal. Clicm. 367(7), 601 (2000).
7 A.K. Das, R. Chakrabory, M.L. Cervera, and M. de la Guardia, Talanta 42(8),1007 (1995).
8 M.J. Marques, A. Salvador, A.E. Morales-Rubio, and M. de la Guardia, Fresenius' J. Anal. Chem. 362(3), 239 (1998).
9. B.R. James, J.C. Petura, R.J. Vitale, and G.R. Mussoline, Environ. Sci. Technol. 29(9), 2377 (1995).
10. R.J. Vitale, G.R. Mussoline, J.C Petura, and B.R. James, J. Environ. Qual. 23(6), 1249 (1994).
11. C.H.Collins, S.H. Pezzin, J.F.L. Rivera, P.S. Bonato, C.C. Windmoller, C. Archundia, and K.E.Collins, J. Chromatogr. A789(1-2), 469 (1997).
12. S. Morales-Munoz, J.L. Luque-Garcia, and M.D. Luque de Castro, Anal. Chim. Acta 515(2), 343 (2004).
13. S.J. Kumar, P. Ostapczuk, and H. Emons, At. Spectrosc. 20(5), 194 (1999).
14. J.L. Manzoori, M.H. Sorouraddin, and F. Shemirani, Talanta 42(8), 1151(1995).
15. M.C. Pannain and R.E. Santelli, Talanta 42(11), 1609 (1995).
16. E. Vassileva, K. Hadjiivanov, T. Stoychev, and C. Daiev, Analyst 125(4), 693 (2000).
17. S. Ahmad, R.C. Murthy, and S.V. Chandra, Analyst 115(3), 287 (1990).
18. M.J. Marques, A. Morales-Rubio, A. Salvador, and M. de la Guardia, Talanta 53(6), 1229 (2001).
19. A.C. Sahayam, Anal. Bioanal. Chem. 372(7-8), 840 (2002).
20. M. Sperling, S.K. Xu, and B. Welz, Anal. Chem. 64(24), 3101 (1992).
21 J. Prokisch , S.A. Katz, B. Kovacs, and Z. Gyori, J. Chromatogr. A 774(1-2), 363 (1997).
22 J. Prokisch, B. Kovacs, Z. Gyori, and J. Loch, Commun. Soil Sci. Plant Anal. 26(13-14), 2051 (1995).
23 Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment (CSTEE) (2002) C2/AST/csteeop/ChromiumVI 27062002/D(02): Risk to Health From Chromium VI in Cement, Brussels, Belgium.
24. G.F. Birch and S.E. Taylor, Hydrobiologia 431(2-3), 129 (2000).
25. L. Ebdon, A.S. Fisher, and P.J. Worsfold, J. Anal. At. Spectrom. 9(5), 611 (1994).
26. S.B. Larsen, PCT Int. Appl. (Aalborg Portland A/S, Den.), Patent 9115435 (1991).
27. M. Blanco, R. Boqué, R. Cela, J. Coello, S. Maspoch, M.C. Ortíz, J. Riba, F.X.Rius, A. Ruíz, L.A. Sarabia, and X. Tomàs (eds), "Avances en Quimiometria Práctica," Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela (1994).
28. F.C. Richard and A.C.M. Bourg, Water Res. 25(7), 807 (1991).
29. P. Pazos-Capeans, M.C. Barciela-Alonso, A. Bermejo-Barrera, P. Bermejo-Barrera, Anal. Chim. Acta 524(1-2), 121 (2004).
30. EPA, SW-846 Method 9045 for Redox Potential and pH Measurements in Soils, USA (2000).
31. T.J. Mansfeldt, Plant Nutr. Soil Sci.-Z. Pflanzenernahr. Bodenkd. 167(1), 7 (2004).

Universidade de Santiago de Compostela
Departamento de Química Analítica, Nutrición e Bromatoloxía
Grupo de Elementos Traza, Espectroscopía e Especiación