

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**  
**Departamento de Química Analítica**



**DESARROLLO DEL MUESTREADOR PASIVO  
CHEMCATCHER PARA LA MONITORIZACIÓN Y  
CUANTIFICACIÓN MEDIANTE GC-ICP-MS DE  
MERCURIO Y COMPUESTOS  
ORGANOESTÁNNICOS EN MEDIOS ACUÁTICOS.**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR**

**Rocío Aguilar Martínez**

Bajo la dirección de las doctoras

M<sup>a</sup> Antonia Palacios Corvillo  
M<sup>a</sup> Milagros Gómez Gómez

**Madrid, 2010**

• ISBN: 978-84-693-4643-3

© Rocío Aguilar Martínez, 2009

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**  
**Departamento de Química Analítica**



**Desarrollo del Muestreador Pasivo Chemcatcher para la  
Monitorización y Cuantificación Mediante GC-ICP-MS de  
Mercurio y Compuestos Organoestánicos en Medios  
Acuáticos**

Directoras

M<sup>a</sup> Antonia Palacios Corvillo

M<sup>a</sup> Milagros Gómez Gómez

**Rocío Aguilar Martínez**

**Madrid, 2009**



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Ciudad Universitaria  
28040 Madrid (España)  
Telef. 91-394 43 31  
FAX 91-394 43 29

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

M<sup>a</sup> ANTONIA PALACIOS CORVILLO, catedrática y jefa del Departamento de Química Analítica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Complutense de Madrid

M<sup>a</sup> Milagros Gómez Gómez, profesora titular del Departamento de Química Analítica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Complutense de Madrid

HACEN CONSTAR

Que el trabajo titulado "Desarrollo del muestreador pasivo Chemcatcher para la monitorización y cuantificación mediante GC-ICP-MS de mercurio y compuestos organoestánicos en medios acuáticos" ha sido realizado en este Departamento por la Licenciada D<sup>a</sup> Rocío Aguilar Martínez, bajo nuestra dirección, constituyendo la Tesis Doctoral de su autora

Madrid,

Fdo.: M<sup>a</sup> Antonia Palacios Corvillo

Fdo.: M<sup>a</sup> Milagros Gómez Gómez

Fdo.: Rocío Aguilar Martínez

Antes de comenzar, quisiera expresar mi agradecimiento a las directoras del presente trabajo, las Dras. M<sup>a</sup> Antonia Palacios y M<sup>a</sup> Milagros Gómez. Sin su dedicación, apoyo y confianza durante todos estos años, que no han sido pocos..., esta tesis no hubiera llegado a materializarse. La letra pequeña del proyecto STAMPS no advertía sobre las implicaciones derivadas de su participación: desarrollos "ingenieriles", vigilancia 24 horas, asistencia a inundaciones varias, estados carenciales.... Así mismo doy las gracias a la Dra. Carmen Cámara Rica por su acogida dentro del grupo de investigación.

Además de la dirección, en los títulos de crédito de esta tesis no pueden faltar a todos mis compañer@s de laboratorio. A los que estaban al principio (Ana, Noelia, Patricia, Pilar, Rosa, Marta...), a los que fueron llegando (Mer, Estrella, Diego, Zoyné, Carmen...) y a los que aun continúan por allí (Christian, Rian, Jon, Loli, Susana...). Ellos han participado en el soporte técnico, informático, como buenos consejeros, y principalmente en el humorístico (Gracias, Danke, Eskerrik asko). Quisiera mencionar de forma especial a Teresa, pues de su mano di los primeros pasos por esto de la investigación y me dio el empujoncito que me faltaba para adentrarme en esto del tercer ciclo y la tesis. Muchas gracias por estar ahí.

Esto de la tesis, es difícil dejárselo en el laboratorio y a salpicado a mucha gente (Sandra, las Estheres, los MIGUELES, Estefanía, Meri, Lala y sus consortes, los getafes, compañeros de trabajo), que quizá no sepan ni para qué vale pero que siempre se han interesado por ella. Ya no volveré a rajarme de los planes con la manida frase de *"no puedo ir, es que estoy con la tesis"*.

Finalmente, este trabajo está dedicado a mi familia por su apoyo incondicional, paciencia y comprensión. Principalmente a Iván por ser mi soporte y, sobretodo por su paciencia pues ha respetado mi dedicación a este trabajo sin condiciones y sin esperar nada a cambio.

P.D. También quiero autoagradecerme, sí queda muy feo pero es que estoy tan orgullosa de haber finalizado y de ver todo lo que he aprendido.

Madrid, Julio del 2009



*A mi padre*

## LISTA DE PUBLICACIONES ORIGINALES

Esta tesis doctoral se ha presentado según el formato de publicaciones, las cuales se enumeran a continuación. En todas ellas, la autora de esta tesis doctoral es la primera autora, con la salvedad de la primera publicación, siendo la responsable del diseño de los experimentos, el análisis de los resultados y la elaboración de los manuscritos.

1. "Monitoring priority pollutants in water using Chemcatcher passive sampling devices" R. Greenwood, G.A. Mills, B. Vrana, I. Allan, **R. Aguilar-Martínez** and G. Morrison" del libro: *Passive samplers techniques in environmental monitoring*, ed. R. Greenwood, G. A. Mills, B. Vrana, in *Comprehensive Analytical Chemistry*, vol. 48, ed. D. Barceló, Elsevier, Amsterdam, 2007.

2. **R. Aguilar-Martínez**, R. Greenwood, G. A. Mills<sup>c</sup>, B. Vrana, M. A. Palacios-Corvillo and M. M. Gómez-Gómez. Assessment of Chemcatcher passive sampler for the monitoring of inorganic mercury and organotin compounds in water. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 15 (2008) 75-90.

3. **R. Aguilar-Martínez**, M.A. Palacios-Corvillo, R. Greenwood, G.A. Mills, B. Vrana, M.M. Gómez-Gómez. Calibration and use of the Chemcatcher<sup>®</sup> passive sampler for monitoring organotin compounds in water. *Analytica Chimica Acta*, 618 (2008) 157-167. <http://www.sciencedirect.com/>

4. **R. Aguilar-Martínez**, M.M. Gómez-Gómez, R. Greenwood, G. A. Mills, B. Vrana, M.A. Palacios-Corvillo. Application of Chemcatcher passive sampler for monitoring levels of mercury in contaminated river water. *Talanta*, 77 (2009) 1483-1489. <http://www.sciencedirect.com/>

5. **Rocío Aguilar-Martínez**, Milagros Gómez-Gómez, María A. Palacios-Corvillo. Mercury and organotin compounds monitoring in fresh and marine waters across Europe by Chemcatcher passive sampler. Aceptado en *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*.



## **ÍNDICE Y ABREVIATURAS**

# ÍNDICE

## ABREVIATURAS

<b>A. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
CAPITULO I	
EL MERCURIO Y LOS COMPUESTOS ORGANOESTÁNNICOS EN EL MEDIOAMBIENTE	3
I.1. Propiedades físico-químicas, origen y aplicaciones del mercurio inorgánico y de los derivados orgánicos de mercurio y estaño	5
I.2. Importancia medioambiental del mercurio inorgánico y de los derivados orgánicos de mercurio y estaño	11
I.3. Toxicidad del mercurio inorgánico y de los derivados orgánicos de mercurio y estaño	17
I.4. Métodos analíticos para la especiación de mercurio y compuestos organometálicos de estaño	23
I.5. Bibliografía	40
CAPITULO II	
EL MUESTREO PASIVO	51
II.1. Introducción a las técnicas de toma de muestra	53
II.2. Muestreo por puntos	54
II.3. Muestreo biológico	56
II.4. Muestreo pasivo	59
<i>II.4.1. Muestreadores pasivos para aire</i>	<i>59</i>
<i>II.4.2. Dispositivos de muestreo pasivo acuático</i>	<i>64</i>
II.5. Aspectos cinéticos y termodinámicos del muestreo	80
<i>II.5.1. Calibración del muestreador</i>	<i>84</i>
<i>II.5.2. Factores que afectan al muestreo</i>	<i>86</i>
II.6. Bibliografía	90
<b>B. OBJETIVOS DEL TRABAJO</b>	<b>99</b>

<b>C.</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b>	<b>103</b>
III.	Metilmercurio	105
	<i>III.1 Estudio de las membranas aceptoras y procedimiento de Extracción</i>	<i>105</i>
	<i>III.2. Estudio de las membranas difusión</i>	<i>106</i>
	<i>III.3. Estimación de la velocidad de muestreo</i>	<i>107</i>
CAPITULO IV		
	CONTOL DE CALIDAD Y VALIDACIÓN	111
IV.1.	Validación de la metodología de análisis	115
IV.2.	Validación de la metodología de muestreo pasivo Chemcatcher	120
IV.3.	Normalización del Chemcatcher	130
<b>D.</b>	<b>DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>	<b>131</b>
<b>F.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>163</b>

## **ABREVIATURAS**

<b>AAS</b>	Espectroscopía de Absorción Atómica
<b>AC</b>	Acetato de Celulosa
<b>AES/AED</b>	Espectroscopía de Emisión Atómica
<b>AFS</b>	Espectroscopía de Fluorescencia Atómica
<b>APCI</b>	Ionización Química a Presión Atmosférica
<b>ASE</b>	Extracción Acelerada con Disolventes
<b>CAR</b>	Carboxeno
<b>CE</b>	Electroforesis Capilar
<b>CHE</b>	Membrana Quelatante
<b>CPE</b>	Cloud Point Extraction
<b>CPMM</b>	Comité de Protección de Medio Marino
<b>CT</b>	Atrapamiento Criogénico
<b>D</b>	Membrana de Diálisis
<b>DBT</b>	Dibutilestaño
<b>DDTC</b>	Dietil Ditiocarbamato Sódico
<b>DGT</b>	Gradiente de Difusión en Capa Fina
<b>DI</b>	Dilución Isotópica
<b>DIN</b>	Ionización Directa
<b>DLME</b>	Microextracción Líquida Dispersiva
<b>DPhT</b>	Difenilestaño
<b>DVB</b>	Divinil-benceno

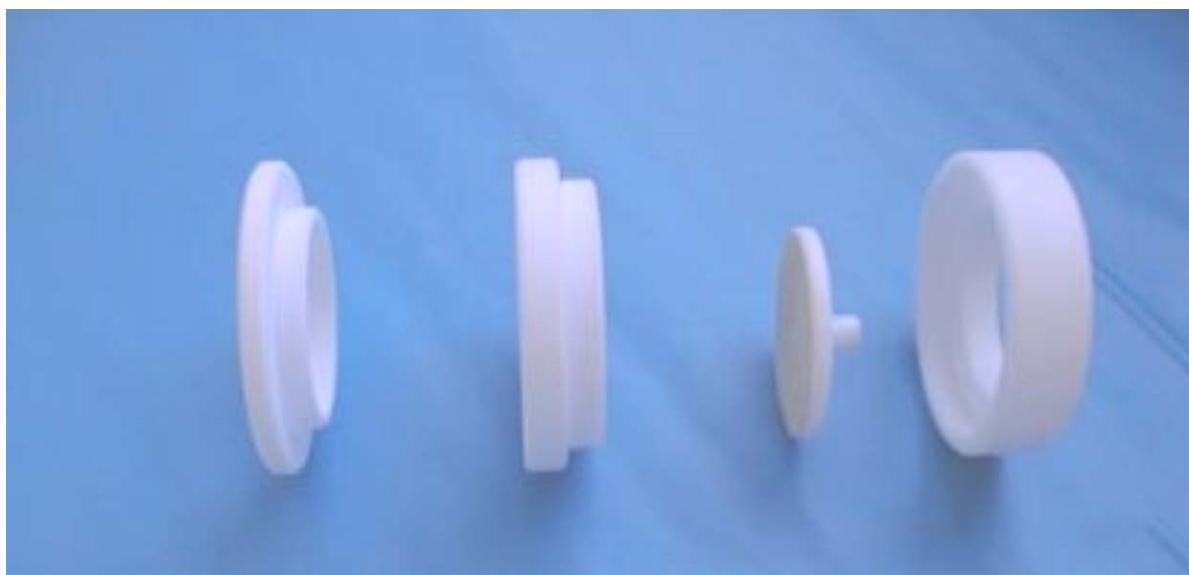
<b>E ó Et</b>	Etilo
<b>ECD</b>	Detector de Captura Electrónica
<b>EPA</b>	Environmental Protection Agency
<b>EQS</b>	Environmental Quality Standard
<b>ESI</b>	Ionización con Electrospray
<b>FA</b>	Factor de Acumulación
<b>FI / FIA</b>	Análisis por Inyección en Flujo
<b>FID</b>	Ionización de Llama
<b>FPD</b>	Detector Fotométrico de Llama
<b>GD-AES</b>	Descarga Luminiscente
<b>GC</b>	Cromatografía de Gases
<b>HPF / HHPN</b>	Nebulizador Hidráulico de Alta Presión
<b>HPLC</b>	Cromatografía Líquida de Alta Eficacia
<b>ICP-MS</b>	Espectrometría de Masas con Plasma de Acoplamiento Inductivo
<b>Kow</b>	Constante de partición octanol-agua
<b>LC</b>	Cromatografía Líquida
<b>LDPE</b>	Polietileno de Baja Densidad
<b>LLE</b>	Extracción Líquido-Líquido
<b>MAE</b>	Extracción Asistida por Microondas
<b>MBT</b>	Monobutilestaño
<b>Me</b>	Metilo
<b>MESCO</b>	Recubrimiento absorbente en el interior de una membrana
<b>MIPs</b>	Polímeros de Impresión Molecular
<b>MIP-AES</b>	Plasma Inducido por Microondas
<b>MPhT</b>	Monofenilestaño
<b>MS</b>	Espectrometría de Masas
<b>NAA</b>	Activación Neutrónica
<b>OMI</b>	Organización Marítima Internacional
<b>OTCs</b>	Compuestos Organoestánnicos
<b>PDBs</b>	Bolsas de Polietileno
<b>PDMS</b>	Polidimetilsiloxano
<b>PE</b>	Polietileno
<b>PFDP</b>	Detector FPD Pulsado
<b>pK<sub>a</sub></b>	Constante de acidez
<b>Ph</b>	Fenilo

<b>PIMS</b>	Muestreador Pasivo de Mercurio
<b>PISCES</b>	Muestreador Pasivo de Preconcentración "In Situ"
<b>PLMD</b>	Muestreador de Membrana de Permeación Líquida
<b>POCIS</b>	Dispositivo para el Muestreo Integrado de Compuestos Orgánicos Polares
<b>PRCs</b>	Patrón interno (Performance Reference Compounds)
<b>PS</b>	Poliétersulfona
<b>PSE</b>	Extracción con Disolventes a Presión
<b>PT</b>	Purga y Trampa
<b>PTFE</b>	Teflón
<b>PVC</b>	Cloruro de Polivinilo
<b>Pyro</b>	Pirólisis
<b>SDB-RPS</b>	Poli(estirenodivinilbenceno) modificado con grupos ácido sulfónico
<b>SFE</b>	Extracción con fluidos supercríticos
<b>SLMDs</b>	Dispositivos de Membrana Líquida Soportada
<b>SPE</b>	Extracción en Fase Sólida
<b>SPME</b>	Microextracción en Fase Sólida
<b>SPMDs</b>	Membranas Semipermeables
<b>TBT</b>	Tributilestaño
<b>TOF</b>	Tiempo de Vuelo
<b>TPhT</b>	Trifenilestaño
<b>TWA</b>	Time Weighted Average
<b>UE</b>	Unión Europea
<b>UV</b>	Ultravioleta
<b>VOCs</b>	Compuestos Orgánicos Volátiles
<b>WHO</b>	World Health Organization



## **A. INTRODUCCIÓN**

**CAPÍTULO I : EL MERCURIO Y LOS COMPUESTOS  
ORGANOESTÁNNICOS EN EL MEDIOAMBIENTE**



## **CAPÍTULO I : EL MERCURIO Y LOS COMPUESTOS ORGANOESTÁNNICOS EN EL MEDIOAMBIENTE**

El uso extendido de compuestos metálicos y organometálicos en las últimas décadas y, como consecuencia, su presencia en los diferentes compartimentos medioambientales, ha suscitado la necesidad de un estudio más profundo en relación a su toxicidad, movilidad y capacidad de acumulación para predecir su comportamiento y establecer medidas legales. Debido a su amplia distribución y a sus efectos tóxicos a muy bajo nivel de concentración, la búsqueda de metodologías para la determinación de compuestos de mercurio y organoestánnicos ha constituido uno de los principales objetos de investigación para un gran número de laboratorios. A continuación se detallan las principales características de dichos compuestos.

### **I.1. Propiedades físico-químicas, origen y aplicaciones del mercurio inorgánico y de los derivados orgánicos de mercurio y estaño**

*El estaño y sus derivados orgánicos:*

El estaño es un elemento metálico perteneciente al grupo 14 del sistema periódico, cuya configuración electrónica es  $[\text{Kr}] 4d^{10}5s^25p^2$ . Forma enlaces como un metal divalente o tetravalente, originando compuestos inorgánicos que presentan una toxicidad relativamente baja, ya que al pH fisiológico el metal no es reactivo y sus óxidos son insolubles. Sin embargo, puede unirse covalentemente a grupos orgánicos originando compuestos que poseen efectos tóxicos sobre la actividad biológica. Estas sustancias de fórmula general  $\text{R}_n\text{SnX}_{4-n}$  se denominan compuestos organoestánnicos (OTCs) y en ellas, el estaño se encuentra como metal tetravalente. Entre los posibles derivados orgánicos de estaño, los que presentan un mayor interés desde el punto de vista medioambiental son los butil- y fenil- sustituidos.

$\text{BuSn}^{3+}$	$\text{Bu}_2\text{Sn}^{2+}$	$\text{Bu}_3\text{Sn}^+$
Monobutilestaño	Dibutilestaño	Tributilestaño
(MBT)	(DBT)	(TBT)
$\text{PhSn}^{3+}$	$\text{Ph}_2\text{Sn}^{2+}$	$\text{Ph}_3\text{Sn}^+$
Monofenilestaño	Difenilestaño	Trifenilestaño
(MPhT)	(DPhT)	(TPhT)

En el medioambiente, los compuestos organoestánicos se encuentran en forma de cloruro, carbonato, sulfuro, sulfato, óxidos o hidróxidos, e incluso asociados a biopolímeros. También existen algunos derivados en los que el estaño se encuentra como metal divalente.

El enlace Sn-C no se rompe debido a la acción del agua, del oxígeno atmosférico ni se degrada térmicamente hasta 200 °C [1], por lo que es térmicamente estable en condiciones ambientales. Sin embargo, la radiación ultravioleta, la presencia de ácidos fuertes o agentes electrófilos producen su ruptura. Las propiedades físico-químicas de los compuestos organoestánicos dependen del número y de la longitud del sustituyente alquílico, siendo la solubilidad en agua una de las más importantes, ya que regula su distribución en el medioambiente.

Debido a la presencia de sustituyentes alquilo, los compuestos organoestánicos presentan una naturaleza hidrofóbica. Esta propiedad es mayor a medida que se incrementan el grado de alquilación y la longitud de la cadena del sustituyente. La solubilidad en agua de la mayoría de estos compuestos es baja y depende del pH, de la fuerza iónica y de la temperatura [2]. La solubilidad para estos compuestos varía entre  $5 \times 10^{-2}$  y  $5 \times 10^{-3} \text{ g L}^{-1}$ , el Log Kow entre 0.09 y 2.2, y el pKa 5.2 y 6.51.

En función de las condiciones ambientales, los compuestos organoestánicos pueden encontrarse en forma de pares iónicos neutros, formando complejos o bien en forma catiónica. Ésta última es estable si el pH es inferior a la constante de acidez ( $\text{pK}_a$ ) del compuesto [3, 4]. En el caso del TBT y del TPhT se ha observado una relación entre el

pH y el valor de la constante de partición octanol-agua (Log Kow) [5], encontrando que esta constante aumenta a medida que lo hace el pH.

Aunque el uso de estaño y sus aleaciones se remonta a la edad de Bronce, los primeros datos relativos a la existencia de compuestos organoestánicos (OTCs) datan de los últimos 150 años. Desde la síntesis del primer derivado orgánico de estaño en 1853 hasta la actualidad, se han caracterizado más de 800 compuestos en su mayoría de origen antropogénico [6] exceptuando los derivados metilados generados por biometilación [7]. En 1940, y asociado al crecimiento de la industria del cloruro de polivinilo (PVC), se encontraron sus principales aplicaciones ya que la adición de compuestos di- y triorganostanados durante la síntesis de PVC, previene su degradación térmica y lumínica [8]. En los años 50 se descubrieron las propiedades biocidas de los compuestos organoestánicos y han sido ampliamente utilizados como aditivos en pinturas anti-incrustantes, agentes de conservación de la madera, fungicidas en agricultura y biocidas en general [9]. Los derivados más aplicados con estos fines son el tributil-, trifenil y triciclohexilestaño, siendo el TBT el de mayor interés por su ubicuidad y elevada toxicidad en el medio acuático. Los principales usos industriales de los compuestos orgánicos de estaño quedan recogidos en la *Tabla 1*.

**Tabla 1** Principales aplicaciones industriales de los compuestos organoestánicos

Aplicación	Función	Compuesto**
Estabilizador de PVC	Evitar la degradación térmica y lumínica	$R_2SnX_2$ y $R_3SnX_3$
Pintura antiincrustante	Biocida	$R_3SnX$ (R= Bu, Ph)
Agroquímica	Fungicida, insecticida, acaricida	$R_3SnX$ (R= Bu, Ph, Cy*)
Conservante de la madera	Fungicida, insecticida	$Bu_3SnX$
Tratamiento del vidrio	Precursor de películas de óxidos de estaño (IV) en cristal	$Me_2SnX_2$ , $R_3SnX_3$ (R= Me, Bu)
Protección de materiales (piedra, cuero, papel)	Fungicida, alguicida, bactericida	$Bu_3SnX$
Impregnación de textiles	Insecticida	$Ph_3SnX$
Explotación avícola	Desparasitador	$Bu_2SnX_2$

\*Cy= Ciclohexano

\*\* X= Cl<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>, R= Me (CH<sub>3</sub>-), Bu (C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>-), Oct (C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>-)

*El mercurio y sus derivados orgánicos*

El mercurio, en su forma elemental y, a temperatura y presión ambiental, es un líquido plateado cuya configuración electrónica es  $[\text{Xe}] 4f^{14} 5d^{10} 6s^2$ . Su baja presión de vapor (0.16 Pa a 25°C) unida a su elevada densidad y tensión superficial determinan el comportamiento de este metal al ser vertido en la superficie terrestre.

El mercurio puede aparecer en tres estados de oxidación:  $\text{Hg}^0$  (metálico),  $\text{Hg}(\text{I})$  (mercurioso) que solo es estable en forma dimérica ( $\text{Hg}_2^{2+}$ ) y  $\text{Hg}(\text{II})$  (mercúrico). Además, forma compuestos organometálicos, muchos de los cuales presentan aplicaciones industriales y agrícolas. Las propiedades y el comportamiento ambiental del mercurio van a depender del estado de oxidación en que se encuentre. En estado univalente ( $\text{Hg}_2^{2+}$ ) forma compuestos estables con ligandos dadores de oxígeno como oxalato y succinato, que no originan complejos fuertes con  $\text{Hg}_2^{2+}$ . El mercurio inorgánico ( $\text{Hg}^{2+}$ ) es un ácido débil según la escala de Lewis que muestra una fuerte afinidad por los aniones  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$ ,  $\text{S}^{2-}$ ,  $\text{Se}^{2-}$  y ciertos ligandos nitrogenados.

En sus complejos, presenta números de coordinación de 2 a 6, con preferencia por los más bajos. El mercurio inorgánico, puede formar compuestos organometálicos simples ( $\text{R}_2\text{Hg}$ ) o mixtos ( $\text{RHgX}$ , donde  $\text{X} = \text{Cl}, \text{OH}$ ) de naturaleza lineal, en los que la unión del metal a R es covalente. Aunque muchos de estos derivados fueron sintetizados con fines industriales y agrícolas ( $\text{EtHg}^+$ ,  $\text{PhHg}^+$ , etc), las especies más abundantes en la naturaleza son metilmercurio y en menor medida dimetilmercurio. El dimetilmercurio ( $\text{Hg}(\text{CH}_3)_2$ ) es un líquido muy volátil que se elimina rápidamente de las aguas a menos que se transforme en condiciones ácidas a la forma monometilada. El ion  $\text{CH}_3\text{Hg}^+$  se forma más fácilmente que la anterior sobre todo en medios ácidos y neutros. Es muy persistente y puede formar una gran variedad de compuestos del tipo  $\text{CH}_3\text{HgX}$  donde X es un grupo unidentado o polidentado [10]. El  $\text{CH}_3\text{HgOH}$  tiene una alta solubilidad debido a la alta capacidad de formar puentes de hidrógeno del grupo OH.

Las propiedades físicas y químicas de estas especies del mercurio controlan su comportamiento atmosférico, acuático y su importancia como contaminante ambiental. Las principales son su solubilidad [11] que es de 66 g  $\text{L}^{-1}$  para el  $\text{HgCl}_2$  y de 5 g  $\text{L}^{-1}$

para  $\text{CH}_3\text{HgCl}$ , y Log Kow que es de 0.5 y 2.5 respectivamente para cada especie. A diferencia de sus compuestos inorgánicos y organometálicos, el mercurio elemental es bastante insoluble en agua [12] por ello, en los medios acuáticos, su concentración es mayor en la interfase aire-agua [13].

El mercurio es un elemento conocido desde civilizaciones antiguas. Se aísla fácilmente desde su principal mineral, el cinabrio ( $\text{HgS}$ ), el cual era utilizado por los antiguos chinos e hindúes antes del 2000 a.C. como pigmento (bermellón) [14]. El uso de mercurio como extractante de metales preciosos por amalgamación presenta una larga historia y fue ampliamente usado en España durante el siglo XVI para la extracción de plata en Méjico. Posteriormente, se ha empleado como revestimiento para la fabricación de espejos, para la cura de la sífilis y para el tratamiento de algunas enfermedades parasitarias del intestino [15]. Otras de las aplicaciones más importantes del mercurio son la fabricación de fieltro, así como detonador en la industria de los explosivos, hecho que elevó la explotación de las minas de mercurio hasta récords históricos.

En la actualidad, la mayor parte del mercurio producido anualmente se consume en la industria del clor-alkali. En pequeñas cantidades, el mercurio conduce la electricidad, responde a cambios de temperatura y presión, y forma aleaciones con la mayoría de los metales. Estas propiedades favorecen su aplicación en: lámparas fluorescentes, hilos e interruptores (termostatos) y en las baterías de óxido de mercurio. Forma parte de las amalgamas empleadas para la reparación de las caries. Otros usos incluyen amalgamación de metales reactivos y preciosos, como catalizador, como fungicida en el tratamiento de la madera, en reactores nucleares e incluso como conservante de muchos productos farmacéuticos.

Los principales compuestos organometálicos de mercurio presentes en el medioambiente tienen un origen natural debido a la metilación del mercurio inorgánico en los ecosistemas acuáticos. Aunque actualmente está prohibida, la aplicación industrial más importante de los derivados orgánicos de mercurio, y que causó entre 1970 y 1972 uno de los mayores episodios de intoxicación por este metal, fue su empleo en formulaciones agrícolas. Concretamente, el metil y etilmercurio fueron muy utilizados en Suecia como fungicidas entre 1940 y 1966 [16]. Además, el fenilmercurio ( $\text{PhHgX}$ ) se empleó en la producción de pasta de papel, así como fungicida y

bactericida. La *Tabla 2* resume los principales usos industriales de los derivados orgánicos de mercurio.

**Tabla 2** *Principales aplicaciones industriales (ya prohibidas) de los derivados orgánicos de mercurio*

Aplicación	Función	Compuestos organomercurícos
Agroquímica	Fungicida	$C_6H_5HgX$ ( $X = NO_3^-, CH_3COO^-$ ), $CH_3Hg^+$ , HgO, Acetato de metoximercurio ( $C_2H_5OHgCH_3COO$ )
Médica	Antiséptico, desinfectante	$HgX_2$ ( $X = Cl^-, Br^-, C_6H_5COO^-$ ), $CH_3Hg^+$ , $Hg_2O$ , HgI, $Hg^0$
Tratamiento de la madera	Funguicida, Insecticida	$HgCl_2$ , $CH_3Hg^+$ , fosfato de etilmercurio ( $C_2H_5HgH_2PO_4$ )

La eliminación de aditivos de mercurio en pinturas y pesticidas, y la reducción del mercurio en baterías, han favorecido una disminución de la demanda industrial. Sin embargo, la contaminación futura puede aumentar ya que en la actualidad se están recuperando las técnicas de amalgamamiento en la extracción de oro en los países en vías de desarrollo, como Brasil [17], así como el establecimiento de nuevas plantas de producción de cloro con células de mercurio en países subdesarrollados.

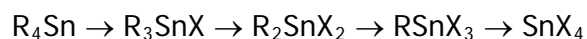
## **I.2. Importancia medioambiental del mercurio inorgánico y de los derivados orgánicos de mercurio y estaño**

### *Derivados orgánicos del estaño:*

La importancia medioambiental de los compuestos orgánicos de estaño deriva de su elevada producción y aplicación industrial. Se estima que la producción anual de estos compuestos es de aproximadamente 40.000 toneladas [18], de las que un 20% corresponde a derivados trisustituídos aplicados como biocidas, mientras que la mayoría de la producción corresponde a derivados mono y disustituídos que se aplican como estabilizantes de plásticos (76%) y catalizadores (5%). Los puertos, las zonas de elevado tráfico marítimo y fluvial, junto a los estuarios son las áreas de mayor acumulación de tributilestaño (TBT), siendo éste el derivado de mayor impacto ambiental. Las aguas de escorrentía procedentes de la agricultura, así como los lodos y aguas fecales, también constituyen un foco de entrada de compuestos organoestánnicos al agua. Entre ellos hay que destacar el TPhT que es utilizado como pesticida y que presenta un alto interés debido a sus efectos tóxicos. En cuanto a los derivados di- y monosustituídos, su presencia en el medio es debida, no solo a mecanismos de degradación del correspondiente derivado trisustituído, sino a su lixiviación desde PVC [19]. Además de las fuentes antropogénicas, los derivados orgánicos de estaño también tienen un origen biológico debido a la acción metilante de algunas bacterias (*Pseudomonas*, sulfatoreductoras) así como a reacciones de transmetilación con otros metales presentes en el medio.

La persistencia de los compuestos organoestánnicos en los diferentes ecosistemas depende de mecanismos físicos, químicos y biológicos, por lo que para conocer su ciclo en el medio ambiente es necesario estudiar su distribución y mecanismos de degradación ambiental.

La degradación medioambiental de los compuestos organoestánnicos consiste en la pérdida secuencial de los sustituyentes alquilo unidos al Sn, lo que en general origina una disminución de la toxicidad:



Este proceso tiene lugar mediante mecanismos bióticos y abióticos siendo, en este caso, la radiación UV y los mecanismos químicos los más importantes [20]. En la ruptura química del enlace Sn-C están implicados tanto agentes electrófilos como nucleófilos, entre los que se encuentran los ácidos minerales, ácidos carboxílicos y metales alcalinos. El TBT en puertos y estuarios presenta una vida media en agua que varía entre 4 y 14 días [21], en sedimentos la velocidad de degradación es más lenta, encontrando valores para la vida media del TBT de entre 1 y 5 años [22].

Una de las propiedades que favorecen la persistencia de los compuestos organoestánicos en el medio ambiente es su carácter lipofílico dado que permite su bioacumulación. El grado de bioacumulación depende de la fracción de organoestánico biodisponible, la cual es función de las condiciones ambientales. En el ecosistema acuático, la biodisponibilidad de estos compuestos depende principalmente del pH, del carbono orgánico disuelto y de la presencia de ácidos húmicos, de modo que la bioacumulación de TBT y TPhT aumenta a pH alcalino, mientras que disminuye en presencia de una elevada concentración de materia orgánica tal como los ácidos húmicos [23]. Además, un elevado porcentaje de los compuestos organoestánicos introducidos en el medio se encuentran asociados a la materia particulada y sedimentos [24]. Las arcillas y óxidos metálicos constituyen unos absorbentes muy eficaces de estos compuestos, por lo que los suelos y sedimentos juegan un importante papel en su destino. En aguas, se estima que, en función del pH y del contenido en materia orgánica, entre el 10 y el 70% de los derivados trisustituidos se encuentran asociados a la materia orgánica disuelta [25]. Un comportamiento análogo se observa para sus productos de degradación y para TPhT, por lo que los sedimentos actúan como depósito y también como futura fuente de estos compuestos. La *Tabla 3* recoge los niveles de compuestos organoestánicos presentes en el ecosistema acuático [26-28].

**Tabla 3** Concentraciones medias de compuestos organoestánicos en diferentes compartimentos medioambientales

Matriz		MBT	DBT	TBT	TPhT
Agua ng L <sup>-1</sup>	Río	28-132	1.5-580	0.5-1150	<l.d*-20
	Mar	8.9-41	5.5-68	7.2-21.9	<l.d*-9
	Puertos	3.6-76	4.4-50	9.0-280	<l.d*-9.0
	Residual	10-440	11-523	5-277	-
Sedimentos ng g <sup>-1</sup>	Río/Estuario	1-2100	1-9600	0.6-520	0.1-3.9
	Mar	<1-2720	5.3-5500	<3.8-7673	<l.d*-896
	Lago	6-100	4-367	4-2830	-
Biota ng g <sup>-1</sup>	Alga marrón	-	-	2-6	<5-14
	Mejillón	3-2190	1-3720	3-57900	<5-98
	Ostra ( <i>C. Gigas</i> )	400	280.9	417.2	-
	Hígado delfín	150-200	800-1600	250-400	-
	Hígado humano	14-22	45-78	<2	-

\*l.d = Límite de detección

#### *Mercurio y sus derivados orgánicos*

Para conocer la procedencia del mercurio movilizado al medio ambiente, las emisiones se han clasificado en tres grupos [29]:

- *Emisiones naturales:* En ellas la movilización o liberación a la atmósfera del mercurio geológicamente unido a la corteza terrestre tiene lugar mediante procesos naturales. Las principales fuentes naturales de mercurio son la desgasificación de la corteza terrestre, las erupciones volcánicas, la erosión, los incendios forestales y la evaporación desde la hidrosfera. La cantidad de mercurio aportada por estas fuentes es del orden de 2700-6000 toneladas/año [30]
- *Emisiones antropogénicas:* El mercurio es liberado a la atmósfera debido a la actividad humana. La actividad minera junto con la combustión de combustibles

fósiles, la extracción de metales, la industria del clor-álcali y la incineración de residuos constituyen las principales fuentes antropogénicas de mercurio. Se estima que entre el 50% y el 75% del mercurio que se emite tiene esta fuente [31].

- *Re-emisiones de mercurio*: La transferencia de masa a la atmósfera se produce a través de procesos biológicos y geológicos movilizándolo el mercurio anteriormente depositado en la superficie terrestre debido a las actividades humanas y naturales. La emisión a la atmósfera desde vertidos de mercurio en suelos contaminados, o las emisiones desde aguas contaminadas son ejemplos de estas emisiones antropogénicas indirectas [32, 33].

La *Tabla 4* recoge las concentraciones medias de mercurio en diferentes compartimentos medioambientales.

**Tabla 4** *Concentraciones medias de mercurio total en diferentes compartimentos medioambientales*

	<b>Matriz</b>	<b>Mercurio total</b>
Aire	Medio rural	1-10 ng·m <sup>-3</sup>
	Medio urbano	50-170 ng·m <sup>-3</sup>
Lluvia	Medio rural	4-90 ng·L <sup>-1</sup>
	Medio urbano	100-1000 ng·L <sup>-1</sup>
Agua	Océano no contaminado	0.5-5 ng·L <sup>-1</sup>
	Río no contaminado	<5 ng·L <sup>-1</sup>
	Río contaminado	10-200 ng·L <sup>-1</sup>
	Lagos ricos en ác. húmicos	1-20 ng·L <sup>-1</sup>
Suelos	No contaminado	<200 ng·g <sup>-1</sup>
	Contaminado	0.2- 100 µg·g <sup>-1</sup>
Sedimentos	Océano no contaminado	50-500 ng·g <sup>-1</sup>
	Océano contaminado	1-100 µg·g <sup>-1</sup>
	Bahía de Minamata	908 µg·g <sup>-1</sup>
	Río contaminado	50-200 µg·g <sup>-1</sup>
Peces	Sin contaminar (río)	0.2-1 µg·g <sup>-1</sup>
	Sin contaminar (océano)	0.01-1 µg·g <sup>-1</sup>
	Contaminados	1-10 µg·g <sup>-1</sup>

Existen dos ciclos implicados en su transporte y distribución en el medio ambiente, uno de ellos relacionado con la circulación atmosférica del mercurio elemental desde sus fuentes al suelo y océano, y el segundo dependiente de la metilación del mercurio inorgánico procedente de fuentes antropogénicas.

La cantidad de mercurio elemental ( $\text{Hg}^0$ ) presente en las aguas naturales es mayor que la existente en el aire, ya que en la atmósfera el 95% del mercurio total que se encuentra en estado elemental es oxidado lentamente al estado mercuríco [13]. El oxidante más importante en este proceso es el ozono. Debido a la lenta oxidación del mercurio elemental su tiempo de residencia en la atmósfera es del orden de un año [34]. Como consecuencia, y aunque las principales emisiones de mercurio proceden de fuentes puntuales localizadas en zonas industriales, su larga permanencia hace que la contaminación por mercurio sea global y afecte a zonas remotas del planeta.

Una vez oxidado el mercurio atmosférico regresa a la superficie terrestre por deposición húmeda; el 60% del  $\text{Hg}$  (II) generado se deposita en el suelo y el 40% restante lo hace sobre el agua [35]. En el océano, tras una serie transformaciones químicas y biológicas, la mayoría del  $\text{Hg}^{2+}$  es reducido a mercurio elemental que vuelve nuevamente a la atmósfera y solo una pequeña fracción queda retenida en los sedimentos. Por el contrario, en el suelo, ocurre una pequeña re-emisión a la atmósfera del mercurio reducido a mercurio elemental, mientras que la mayoría permanece en este medio.

En las aguas superficiales de áreas no contaminadas, el  $\text{Hg}$  (II) se encuentra en concentraciones de  $1\text{-}20 \text{ ng L}^{-1}$  formando complejos con  $\text{OH}^-$  ( $\text{Hg}(\text{OH})^+$ ,  $\text{Hg}(\text{OH})_2$ ,  $\text{Hg}(\text{OH})_3^-$ ) y con cloruros ( $\text{HgCl}^+$ ,  $\text{HgClOH}$ ,  $\text{HgCl}_2$ ,  $\text{HgCl}_3^-$ ,  $\text{HgCl}_4^{2-}$ ) en función de la concentración de cloruro presente en el agua y de su pH. También es posible que una parte se una a iones sulfuro ( $\text{S}^{2-}$ ) y bisulfuro ( $\text{HS}^-$ ), o incluso a óxidos de hierro [36]. Además, una fracción de  $\text{Hg}(\text{II})$  es probable que se una a los ácidos húmicos. La reducción de  $\text{Hg}(\text{II})$  a mercurio elemental puede tener lugar mediante dos mecanismos en función de la concentración de  $\text{Hg}$  (II) en el medio circundante. Cuando esta concentración es la natural, del orden de unos pocos picogramos, la reducción es debida a un proceso fotoquímico [37]. Sin embargo, en aguas contaminadas, con concentraciones de  $\text{Hg}$  (II) superiores a  $50 \text{ pM}$ , el mecanismo predominante es de naturaleza microbiana [38].

Las principales fuentes del metilmercurio presente en las aguas superficiales son las precipitaciones, el generado en las aguas anaerobias superficiales y una pequeña fracción producida en las propias aguas aerobias debido a la acción de

microorganismos. En estas especies organometálicas, los enlaces metal-carbono son estables en agua debido a que son covalentes y su hidrólisis, aunque es termodinámicamente favorable, está impedida cinéticamente [39]. La metilación del mercurio en aguas y sedimentos se ve favorecida por la ausencia de oxígeno y puede darse mediante mecanismos fotoquímicos o, al igual que la metilación del Sn, mediante reacciones de transferencia catalizadas por microorganismos tales como las bacterias sulfato-reductoras, siendo el principal reactivo metilante la vitamina B<sub>12</sub> [40]. La cantidad neta de metilmercurio presente en las aguas es el resultado de un balance entre los procesos de metilación-desmetilación. Éste último también es un proceso biológico que implica actividad bacteriana. Ambos fenómenos dependen de la disponibilidad del carbono orgánico disuelto fácilmente degradable.

### I.3. Toxicidad del mercurio inorgánico y de los derivados orgánicos de mercurio y estaño

#### *Derivados orgánicos del estaño:*

El estaño en su forma inorgánica es un elemento inocuo para la flora y la fauna, sin embargo la presencia de sustituyentes orgánicos le confiere de un carácter lipofílico del que deriva su toxicidad. Los efectos biológicos de estas sustancias dependen de la naturaleza y número de sustituyentes, y es independiente del contraión (X) que les acompañe. Así, la actividad biológica sigue el siguiente orden:  $R_3SnX > R_2SnX_2 > RSnX_3$ . Para los derivados trisustituídos, la toxicidad depende de la longitud de la cadena hidrocarbonada, un incremento de la misma produce un descenso de la actividad biocida. Así los sustituyentes octilo son inocuos para todos los organismos, mientras que los derivados tri-butilados y etilados los más tóxicos para todos los organismos, incluso para mamíferos.

En el caso de tributilestaño (TBT), son conocidos diversos episodios de contaminación relacionados con su uso que han llevado a la extinción de especies de gasterópodos en determinadas zonas costeras del Mar del Norte en Bélgica [41], y a la reducción de la población de ostras en la Bahía de Arcachón en Francia [42]. El efecto de este compuesto sobre los organismos acuáticos tiene lugar incluso a muy bajo nivel de concentración. Así, concentraciones de  $1-2 \text{ ng L}^{-1}$  producen un efecto nocivo crónico en aquellos organismos más sensibles, como algunas especies de algas, zooplacton, moluscos y larvas de algunos peces, e incluso niveles entre  $0.04$  y  $16 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  son considerados letales para algunos organismos acuáticos [43]. Además del TBT, sus productos de degradación DBT y MBT poseen también efectos adversos derivados de su mayor solubilidad en agua.

El trifenilestaño (TPhT) también es nocivo para el ecosistema acuático. Este compuesto presenta una elevada toxicidad en los primeros estadios de vida de determinados peces pues posee una concentración letal entre  $0.15-3.9 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  para el 50% de la población de larvas de determinadas especies. Tanto el TPhT como el TBT son disruptores endocrinos capaces de producir transformaciones morfológicas en determinados organismos entre las que destacan las modificaciones en los órganos

reproductores producidas en algunas especies de gasterópodos, engrosamiento de la concha e inhibición de la liberación de larvas en ostras, retrasos en el crecimiento de mejillón, cambios histopatológicos en larvas de peces, etc [26].

Los efectos tóxicos de los derivados butilados y fenilados de estaño acumulados por ingestión en niveles tróficos superiores son poco conocidos. En general, las especies próximas a la costa presentan mayores niveles de concentración de compuestos organoestánnicos que aquéllas que habitan mar adentro. En cuanto a la distribución entre mamíferos acuáticos, el TBT es la especie predominante en la mayoría de los organismos que habitan en las profundidades. Este hecho sugiere una baja capacidad de descomposición para esta especie en estos sistemas o hábitats, que se encuentra en mayores niveles de concentración debido a la baja temperatura y luz. En cetáceos, los derivados butilados tienden a acumularse en el hígado, riñón, y en menor extensión, a pesar de su naturaleza lipofílica, en el tejido adiposo. Esta distribución es análoga a la del mercurio. En peces, también se encuentran niveles significativos en sangre. Los valores de concentración hallados siguen el siguiente orden: TBT > DBT > MBT, aunque en hígado se encuentran mayores niveles de DBT y MBT debido a la actividad metabólica de este órgano [44].

El efecto de los compuestos organoestánnicos también aparece en aves costeras debido a su transferencia a través de la cadena trófica, encontrando niveles de biomagnificación entre 1.1 y 4.1 en cormoranes [45]. El TBT y sus productos de degradación tienden a acumularse en plumas, hígado, músculo y riñón.

Para humanos, los datos de contaminación y toxicidad disponibles son el resultado de exposiciones accidentales. Existen dos vías de intoxicación de compuestos organoestánnicos, la primera es la ingestión de alimentos, y la segunda es una vía indirecta relacionada con artículos domésticos. En el primer caso, se han realizado estudios que demuestran la liberación de compuestos organoestánnicos adicionados al PVC utilizado con fines domésticos (tuberías, recipientes para el almacenamiento de alimentos, etc). La segunda de las vías está relacionada con el uso de poliuretano, polímeros, siliconas, guantes, celofán, agentes para el tratamiento de la madera, etc. La información relacionada con la concentración de compuestos organoestánnicos en humanos es escasa. Kannan y Falandysz [46] publicaron niveles de butilestaño total (MBT+DBT+TBT) entre 2.4 y 11 ng g<sup>-1</sup> para tejido húmedo de hígado. En el caso de

sangre, Kannan y col. [27] hallaron concentraciones de 8.7, 4.3 y 4.6 ng mL<sup>-1</sup> para MBT, DBT y TBT respectivamente. Por otra parte, los efectos relacionados con la manipulación de sustancias que contengan derivados de estaño trisustituídos van desde quemaduras por contacto con la piel, irritación de los folículos capilares e irritación de la mucosa nasal, hasta hemorragias nasales y secreciones mucosas si la exposición se prolonga durante varias semanas [47].

La problemática relacionada con el uso de TBT en pinturas antiincrustantes de barcos ha sido estudiada por el Comité de Protección de Medio Marino (CPMM) de la Organización Marítima Internacional (OMI) [48]. Este organismo de las Naciones Unidas es el encargado de la seguridad marítima y de la prevención de la contaminación del mar. En relación al TBT, en la década de los 90, desarrolló los instrumentos jurídicos pertinentes para limitar el uso de este compuesto en los buques de navegación marítima. Entre ellos destacan la promoción de legislación para eliminar este compuesto en barcos de menos de 25 m de eslora, la eliminación de pinturas antiincrustantes que dieran lugar a un desprendimiento de biocidas mayor de 4 µg cm<sup>-2</sup> y fomentar el uso de sistemas antiincrustantes alternativos [49]. En 1982, Francia prohibió el uso de pinturas antiincrustantes basadas en TBT en barcos de eslora inferior a 25 m. Siguiendo este ejemplo en 1990 Japón impuso reglas estrictas en cuanto a su utilización, prohibiendo su producción en 1997. Prohibiciones similares se impusieron en Reino Unido (1987), Estados Unidos (1988), Nueva Zelanda (1988), Australia (1989) y Noruega (1989) junto a otros países [50].

La Unión europea incluyó los compuestos butilados de estaño en la lista de sustancias prioritarias (Decisión 2455/2001/CE) dentro del marco comunitario de actuación en política de aguas (Directivas 2000/60/CE) y prohibió su uso y comercialización (Decisión 2002/62/CE) en todas las embarcaciones destinadas a ser utilizadas en costas. Además, el TBT y el TPhT están incluidos en la lista europea de contaminantes prioritarios (anexo de la Directiva Europea EU 76/464) [51] y en la lista medioambiental de disruptores endocrinos de la EPA (Environmental Protection Agency, EEUU) [52]. Hasta el momento en España solo se regulan los vertidos de estos compuestos realizados en aguas superficiales continentales (Real Decreto 995/2000) limitando la concentración máxima permitida a 20 ng L<sup>-1</sup> como suma de MBT, DBT y TBT.

### *Mercurio y sus derivados orgánicos*

En el caso del mercurio, su significado biológico se limita a su toxicidad, ya que no se han encontrado evidencias de que sea un elemento esencial para el hombre, la flora o la fauna. Debido a sus efectos adversos, junto a dos grandes episodios de contaminación por mercurio que tuvieron lugar al sur de Japón, en la bahía de Minamata (1940-1960), y en Irak (1971-1972), se han realizado muchos estudios sobre el metabolismo y sus efectos tóxicos en animales y seres humanos.

La exposición en lugares de trabajo o accidentes son las principales causas de contaminación por mercurio vapor [30]. Al ser un gas monoatómico sin carga, presenta una alta difusibilidad y es soluble en lípidos, por lo que es capaz de atravesar las paredes celulares. Los órganos diana son los pulmones, los riñones y el cerebro. Es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica y, una vez en el cerebro, es oxidado a Hg(II) por medio de un mecanismo que implica a las enzimas catalasa e hidrógeno peroxidasa. Una oxidación similar también tiene lugar en la sangre. La exposición aguda a niveles altos de mercurio vapor ( $>1000 \mu\text{g m}^{-3}$ ) puede causar neumonía y otros signos de daño pulmonar. Exposiciones más largas a niveles menores ( $100 \mu\text{g m}^{-3}$ ) dan lugar a *gingivitis*, temblores de manos y *eretismo* (desórdenes de personalidad y psicológicos que incluyen delirio, alucinaciones, cambios de comportamiento, etc.). Las exposiciones crónicas a niveles más bajos ( $25\text{-}100 \mu\text{g m}^{-3}$ ) están asociadas con síntomas más suaves como temblores, irritabilidad, insomnio o lasitud. También se ha observado disminución de la memoria a corto plazo o disminución de la respuesta nerviosa. En estos niveles, el mercurio vapor produce afecciones renales. La eliminación tiene lugar a través de la orina, heces, saliva, sudor y aire exhalado y va a depender de la extensión en la que el mercurio elemental haya sido oxidado.

La química del Hg (II) dentro de los seres vivos viene determinada por su alta tendencia a unirse a los grupos tiol que abundan en los diferentes tejidos, bloqueando de este modo grupos biológicos esenciales. En concreto, se une a los grupos -SH de los restos del aminoácido cisteína que constituye el centro catalítico activo de determinadas enzimas por lo que se inhibe su actividad.

La principal vía de entrada de las especies de mercurio (II) a los seres vivos son las pequeñas partículas de polvo o aerosol, o bien por su presencia en alimentos o agua. La absorción a través del tracto gastrointestinal varía con la sal mercúrica implicada ya que disminuye al reducirse la solubilidad del compuesto. Así, las especies menos solubles, como HgS o HgSe, prácticamente no presentan toxicidad mientras que los cloruros son los derivados más tóxicos. Una vez incorporado a través del tracto gastrointestinal (7-15% de efectividad si se trata de HgCl<sub>2</sub>) o la piel, el Hg(II) tiende acumularse en los riñones donde afecta a los túbulos renales proximales [53].

El metilmercurio es el compuesto más peligroso de todas las especies de mercurio debido a su liposolubilidad y a que se trata de una especie ávidamente acumulada por los organismos. En peces y mamíferos la mayor parte del mercurio se encuentra en esta forma. La toxicidad del metilmercurio quedó patente en 1952, cuando una planta de fabricación de acetaldehído y derivados vinílicos en Minamata (Japón) vertió a la bahía cercana los productos sobrantes en la reacción, entre ellos, metilmercurio junto a otros subproductos orgánicos de mercurio. El metilmercurio alcanzó niveles de hasta 100 mg Kg<sup>-1</sup> en pescados, principal componente de la dieta de la zona, causando la muerte de 61 personas, y la hospitalización y posteriores secuelas para más de 2200. Otro episodio importante de contaminación por metilmercurio tuvo lugar en Irak en el invierno de 1971-1972. La importación de una gran cantidad de grano y su tratamiento por error con metilmercurio como fungicida, condujo a la hospitalización de cerca de 6500 personas y a la muerte de 459. Desde entonces ha sido prohibido su uso como biocida en semillas y plantas, y se ha eliminado en alguno de los procesos industriales en los que se usaba [30, 31].

El metilmercurio es absorbido, posiblemente como MeHgCl, a través del tracto intestinal con un 95% de efectividad. También puede absorberse por inhalación o a través de la piel. Sorteada con facilidad la barrera hematoencefálica convirtiéndose en una potente neurotoxina capaz de bloquear los centros activos de las enzimas, interferir en la síntesis de proteínas, impedir la incorporación de la timina en el ADN, etc. La gran afinidad del metilmercurio por los grupos tiol es la responsable de la alta movilidad de esta especie a través de tejidos y células [54]. Además, el metilmercurio es capaz de atravesar la placenta produciendo graves daños en el cerebro en desarrollo del embrión.

Debido a la elevada toxicidad del mercurio y de sus derivados, se halla en la lista de contaminantes prioritarios de la Unión Europea (UE) según la Directiva comunitaria 76/464/CEE [51] que versa sobre el vertido de sustancias a las aguas. Este hecho ha supuesto una reducción en sus aplicaciones. También, la Unión Europea incluye al  $\text{MeHg}^+$  en la lista de compuestos a controlar en productos de pesca dentro del Reglamento 221/2002/CE, estableciendo un límite máximo de  $1 \text{ mg Kg}^{-1}$  de  $\text{MeHg}^+$  por peso fresco de pescado. Además, la Directiva 89/677/EEC prohíbe el uso de compuestos orgánicos de mercurio en pinturas antiincrustantes, conservación de la madera, tratamiento de aguas industriales y tinte de telas e hilos en la industria textil. Actualmente el uso de mercurio se ha prohibido en equipos electrónicos y eléctricos mediante la Directiva 2002/95/CE. El máximo nivel permitido para la concentración total de mercurio en agua de consumo es de  $2 \mu\text{g L}^{-1}$  (US EPA) [52] y de  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  (EU and WHO) [55].

#### **I.4. Métodos analíticos para la especiación de mercurio y compuestos organometálicos de estaño**

En las últimas décadas el desarrollo de la metodología analítica y de la instrumentación han permitido obtener información, e incluso legislar, sobre los niveles, biodisponibilidad y toxicidad de los niveles de las especies de mercurio y de los derivados butilados de estaño presentes en una muestra. Los métodos analíticos a desarrollar deben tener en cuenta las siguientes etapas [17, 56]:

- 1. Extracción** de las especies desde la muestra medioambiental, asegurando la integridad tanto de la forma química como de la concentración de la especie buscada.
- 2. Preconcentración** de las especies en el extracto obtenido con el objeto de alcanzar un nivel de concentración final detectable con la técnica elegida.
- 3. Separación** de las especies sin alterar los niveles de concentración iniciales.
- 4. Detección y determinación** individual de cada especie separada previamente.

Debido a que los niveles de concentración de las especies, tanto de mercurio como de estaño, en las muestras medioambientales son muy bajos, estas cuatro etapas deben estar perfectamente acopladas con el fin de desarrollar un método de especiación adecuado. La *Tabla 5* resume las técnicas más utilizadas para la especiación de mercurio y estaño.

**Tabla 5** *Técnicas aplicadas a la especiación de estaño y mercurio en muestras medioambientales*

Preparación Muestras		Análisis Instrumental		
Técnica extracción	Preconcentración	Derivatización	Separación	Detección
MAE	PT	Generación de	GC	Absorción atómica
US	SPME	Hidruros	HPLC	Emisión atómica
ASE	SPE	Alquilación	CE	Captura electrónica
PSE	LLE	(reactivos de		Espectrometría de
	CT	Grignard,		masas
	Amalgamas de oro	alquilboratos)		Fluorescencia atómica
				Electroquímica

**Abreviaturas:** ASE (*Extracción Acelerada con Disolventes*), CE (*Electroforesis Capilar*), CT (*Atrapamiento Criogénico*), GC (*Cromatografía de Gases*), HPLC (*Cromatografía Líquida de Alta Eficacia*), LLE (*extracción Líquido-Líquido*), MAE (*Extracción Asistida por Microondas*), PSE (*Extracción con Disolventes a Presión*), PT (*Purga y Trampa*), SPE (*Extracción en Fase Sólida*), SPME (*Microextracción en Fase Sólida*) y US (*Ultrasonidos*).

#### *Técnicas de extracción del mercurio y sus derivados orgánicos*

Teniendo en cuenta que su concentración total en agua varía normalmente entre 0.5 y 200 ng L<sup>-1</sup>, y aproximadamente de 0.05 a 1.0 ng L<sup>-1</sup> corresponden a metilmercurio, los métodos analíticos para la especiación están basados en el procesamiento de grandes volúmenes de muestra y una etapa eficiente de preconcentración unida a técnicas de separación y detección de alta sensibilidad. Las técnicas de preconcentración comúnmente utilizadas son las siguientes:

- Extracción líquido-líquido (LLE), en la que se utiliza la capacidad de formación de complejos del mercurio con N y S. Entre los extractantes más utilizados se

encuentran la cisteína y el tiosulfato sódico. Logar y col. [57] desarrollaron un método para la extracción simultánea de  $\text{Hg}^{2+}$  y  $\text{MeHg}^+$  de aguas naturales e incluso agua de mar utilizando carboxilato de ditizona (ácido 4-hidroxibenzoico) y una extracción posterior en  $\text{Na}_2\text{S}$  previa a su separación cromatográfica. En la actualidad se ha desarrollado un nuevo método de extracción líquido-líquido basado en la transformación de los analitos en un derivado hidrofóbico y su posterior extracción en un surfactante no iónico mediante la ayuda de un ligero calentamiento. Este método denominado Cloud Point Extraction (CPE) ha sido aplicado, acoplado a HPLC-ICP-MS, a la especiación de metil-, fenilmercurio y mercurio inorgánico. Para ello las especies se transforman en un quelato hidrofóbico mediante reacción con dietil ditiocarbamato sódico (DDTC) y el surfactante Titron X-114 en un baño a  $40^\circ\text{C}$ . Los límites de detección obtenidos se encuentran en el rango  $6\text{-}13.8 \text{ ng L}^{-1}$  [58].

- Atrapamiento criogénico (CT), el cual permite extraer y preconcentrar los derivados volátiles de los analitos de interés mediante una etapa previa de derivatización por generación de hidruros o etilación, y su posterior purga con una corriente gaseosa hacia una columna con un relleno análogo al de una columna cromatográfica sumergida en nitrógeno líquido. Posteriormente las especies se desorben y separan en función de su punto de ebullición por calentamiento de la columna [59].
- Extracción en fase sólida (SPE), en este caso la inmovilización de un grupo funcional con una elevada afinidad y selectividad por las especies de interés sobre un soporte sólido de naturaleza inorgánica (gel de sílice, alúmina, magnesia, etc.) u orgánica (polímeros) permite el enriquecimiento de la muestra en los analitos, así como la eliminación parcial de interferentes. Entre los primeros materiales empleados en la preconcentración de mercurio mediante extracción en fase sólida se encuentran los cartuchos de fibra de algodón con grupos  $-\text{SH}$  inmovilizados. En ellos el metilmercurio retenido procedente de una muestra acuosa es eluido con  $\text{HCl}$  2M y re-extraído posteriormente en benceno para su análisis mediante GC-ECD [60]. Posteriormente se han desarrollado otras fases para su utilización en cartuchos y minicolumnas dispuestas en un sistema en flujo. Algunos ejemplos son:
  - ✘ Dietilditiocarbamatos inmovilizados en minicolumnas de C18 para la retención de  $\text{Hg(II)}$  y  $\text{MeHg}^+$ . La elución se realiza con tiourea al 5% (m/v) en  $\text{HCl}$  0.5% (v/v) [61].

- ✗ Gel de sílice impregnada con ditizona para la retención de Hg(II) y posterior elución con HCl 10 M [62].
- ✗ Ditizona inmovilizada en C18 para la preconcentración de Hg(II), MeHg<sup>+</sup> y PhHg<sup>+</sup> y elución con MeOH [63].
- ✗ Modificación de columnas de gel de sílice con 2-mercaptobencimidazol. El Hg(II) y MeHg<sup>+</sup> retenidos son eluidos con KCN 0.05 M y HCl 2 M respectivamente [64].
- ✗ Resina quelatante selectiva para Hg (II) y MeHg<sup>+</sup> con grupos sulfuro y nitrógeno procedentes de 1,2-bis(o-aminofenil)etano y elución selectiva con EtOH y tiourea al 10% (m/v) [65].
- ✗ Resina quelatante 1,5-bis(2-piridil)-3-sulfofenil metileno tiocarbonyl hidrazida para la retención selectiva de mercurio inorgánico que es eluido con tiourea [66].
- Microextracción en fase sólida (SPME), esta técnica unifica la etapa de muestreo, aislamiento y preconcentración de una forma sencilla que permite su acoplamiento a una gran variedad de detectores. Su empleo se basa en el establecimiento de un equilibrio de absorción de los analitos, previamente derivatizados, sobre el recubrimiento de una fibra de sílice fundida (divinilbenceno (DVB), carboxeno (CAR) y la ampliamente utilizada polidimetilsiloxano (PDMS)) y su posterior desorción, separación y cuantificación. La fibra se puede disponer en el espacio de cabeza o bien sumergida en la disolución, obteniéndose mejores resultados de la primera forma [67]. Para mejorar la eficacia de la microextracción, en el caso del metilmercurio se han utilizado fibras de sílice fundida sin recubrimiento tratadas con HF durante tres horas y posteriormente acondicionadas a 200°C [68]. De forma análoga, el uso de una barra agitadora con un recubrimiento de PDMS permite la especiación de mercurio inorgánico, metil-, etil- y fenilmercurio mediante la acumulación de las especies derivatizadas mediante propilación y su posterior desorción térmica y análisis mediante cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas (GC-MS) [69].

*Técnicas de extracción de los derivados orgánicos del estaño:*

Al igual que el mercurio y sus especies, los compuestos organoestánicos se encuentran en las aguas al nivel de ng L<sup>-1</sup>, por lo que para su cuantificación se

requiere una etapa de preconcentración. Entre las técnicas más utilizadas para aislar y preconcentrar las especies se encuentran las siguientes técnicas:

- Extracción líquido-líquido, en la que se han utilizado tanto disolventes apolares como hexano, benceno, tolueno, diclorometano o mezclas de los mismos, así como disolventes polares como metanol, acetona, mezclas metanol-acetato de etilo, diclorometano-metanol, acompañados, en ambos casos, por agentes complejantes como la tropolona, o bien empleados tras un tratamiento en medio ácido (clorhídrico, acético, bromhídrico). Para reducir el tiempo de extracción se recomienda el uso de ultrasonidos o bien la extracción asistida por microondas [71-73]. Además para minimizar el consumo de disolventes y de ácidos también se aplica la extracción con fluidos supercríticos (SFE) [70]. Sin embargo, estos métodos de extracción no siempre mantienen la integridad de las especies.
- Como alternativa a la extracción líquido-líquido, la extracción en fase sólida presenta un mayor número de ventajas en cuanto al consumo de disolventes, tiempo de extracción, factores de preconcentración y estabilidad de las especies. Desde 1980 la mayoría de los métodos de SPE desarrollados para compuestos organoestánicos en muestras de agua marina están basados en la preconcentración de la muestra en discos de C18 [74]. Para mejorar la eficiencia y selectividad de la retención se ha impregnado tropolona sobre un soporte de Amberlita XAD-2, que es un polímero de poliestireno de naturaleza hidrofóbica [75]. También se han ensayado otros absorbentes como intercambiadores catiónicos unidos a una matriz de sílice (Bond-Elut SCX) o a una matriz polimérica (Oasis-MCX) [76], así como el polímero OASIS HLB formado por monómeros lipofílicos de m-divinilbenceno e hidrofílicos de N-vinilpirrolidina [77]. Sin embargo, los mejores rendimientos en cuanto a retención y elución son los obtenidos para C18 unidos a una matriz de sílice. En los últimos años se ha introducido el uso de polímeros de impresión molecular (MIPs) como material para SPE en sensores y como fase estacionaria en columnas de cromatografía líquida. Aunque aun es una herramienta emergente, para compuestos organoestánicos se ha sintetizado un MIP no covalente utilizando TBT como molde. Este MIP es aplicable a este compuesto y a sus productos de degradación DBT, MBT, y a estaño en muestras de agua de mar, consiguiendo factores de preconcentración de 150 y un límite de detección de

30 ngL<sup>-1</sup> [77]. Además, también ha sido sintetizado un MIP covalente que presenta una mayor selectividad que el anterior y que permite la determinación de hasta 0.04 µg L<sup>-1</sup> TBT en agua de mar [78].

- La SPME ha sido aplicada a la preconcentración de compuestos organoestánicos tras una etapa de derivatización. Entre los materiales más utilizados se encuentra el PDMS y la mezcla PDMS-DVB [79-81]. Una nueva técnica aplicada a la extracción y preconcentración de organoestánicos es la Microextracción Líquida Dispersiva (Dispersive Liquid Microextraction, DLME). Este método consiste en la aplicación de un disolvente no miscible con agua que se pone en contacto con la muestra acuosa a través de un disolvente dispersante soluble en ambos medios. En el caso de la especiación de butil- y fenilestaño tras su etilación las especies son extraídas con CCl<sub>4</sub> a través de etanol como agente dispersante. Con este método acoplado a cromatografía de gases con detector fotométrico de llama (GC-FPD) se consiguen unos límites de detección en el rango 0.3-1.0 ng L<sup>-1</sup> [82].

#### *Técnicas de detección de los derivados de mercurio y estaño:*

En general, y particularmente en muestras de aguas, el principal método utilizado para la separación de las especies de estaño y mercurio es la cromatografía de gases acoplada a diferentes sistemas de detección. Esta técnica de determinación requiere que las especies objeto de separación sean volátiles y térmicamente estables, por lo que tras la extracción y preconcentración se le debe incluir una etapa de derivatización previa a la de separación. Esta etapa se puede llevar a cabo con un organoborato (tetraetilborato de sodio (NaBEt<sub>4</sub>) ó tetrapropilborato de sodio (NaBPr<sub>4</sub>)) [83], mediante generación de hidruros con NaBH<sub>4</sub> en medio ácido si la determinación se efectúa por absorción atómica (AAS) o fluorescencia atómica (AFS) [84, 85], o de forma alternativa en el caso de mercurio mediante SnCl<sub>2</sub> como reductor [86, 87]. También si la extracción se lleva a cabo con disolventes no polares (tolueno, diclorometano) la derivatización se puede llevar a cabo con un reactivo de Grignard [84].

A pesar del inconveniente de introducir una etapa de derivatización adicional, la cromatografía de gases es una técnica muy flexible desde el punto de vista de la

detección. En los primeros estudios de especiación de mercurio y estaño fue ampliamente utilizada con detectores de captura electrónica (ECD), de ionización de llama (FID) y de AAS [17, 56, 68, 88], aunque la baja sensibilidad de estos detectores unida a una baja selectividad, ha favorecido su sustitución por una gran variedad de detectores: detector FPD y detector FPD pulsado (PFDP) aplicados a compuestos organoestánicos; detector AFS en el caso de mercurio; y para la detección de ambos el plasma inducido por microondas (MIP-AES), la descarga luminiscente (GD-AES), el plasma inductivamente acoplado con detector de masas (ICP-MS) y el detector de masas (MS). Todos ellos proporcionan límites de detección del orden de pg [77, 80, 83, 86, 89-93]. De entre las técnicas mencionadas, los detectores de masas son los más populares debido a que ofrecen información estructural.

Una alternativa a la cromatografía de gases, es la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC). Aunque esta técnica es menos sensible, es más apropiada para las especies polares, lo que supone una ventaja en la especiación de mercurio y estaño. Además, la flexibilidad de la cromatografía de líquidos, con más mecanismos de separación disponibles, es mayor que la de la cromatografía de gases, lo cual permite conseguir una mejor separación de las especies en muestras medioambientales complejas. Sin embargo, el principal inconveniente de esta técnica es su baja sensibilidad para la mayoría de los detectores comúnmente utilizados en HPLC (UV-VIS, fluorimétrico, etc) y su dificultad para acoplar el efluente de la columna con los sistemas de introducción de muestra característicos de los detectores atómicos, los cuales proporcionan una mayor sensibilidad y selectividad. Aunque el caso del acoplamiento HPLC-AAS / ICPMS sea sencillo, ya que consiste en la conexión directa de la columna con el nebulizador a través de un tubo de teflón, no se producen grandes mejoras en la sensibilidad, fundamentalmente en el caso de AAS, debido a la baja eficiencia de nebulización [17]. Este fenómeno se compensa mediante la introducción de una reacción de derivatización a la salida de la columna en línea con el detector [17, 56, 85]. Así, en el caso del mercurio, mediante la generación de vapor frío se ha conseguido acoplar el HPLC a un detector de fluorescencia atómica [17].

Quizá el sistema de detección más utilizado acoplado a las separaciones con HPLC es el ICP-MS utilizando un sistema con ionización directa (DIN) o un nebulizador

hidráulico de alta presión (HPF / HHPN) [94], así como el acoplamiento de cromatografía líquida a un detector de masas (LC-MS) mediante ionización con electrospray (ESI) o a un sistema de ionización química a presión atmosférica (APCI) [95].

Aunque en menor extensión, otra técnica de separación utilizada en la especiación de mercurio y estaño es la electroforesis capilar [65].

El acoplamiento GC-ICP-MS ha sido una de las principales herramientas utilizadas para la realización de la presente tesis doctoral ya que ha permitido la especiación simultánea de estaño y mercurio en muestras de agua. Este acoplamiento no es tan sencillo como el acoplamiento LC-ICP-MS donde, como ya fue indicado, basta con conectar la salida de la columna al nebulizador debido a la compatibilidad de los flujos empleados en LC con los de operación de un nebulizador típico. No obstante, el acoplamiento GC-ICP-MS presenta una serie de ventajas con respecto al acoplamiento a cromatografía líquida [96]:

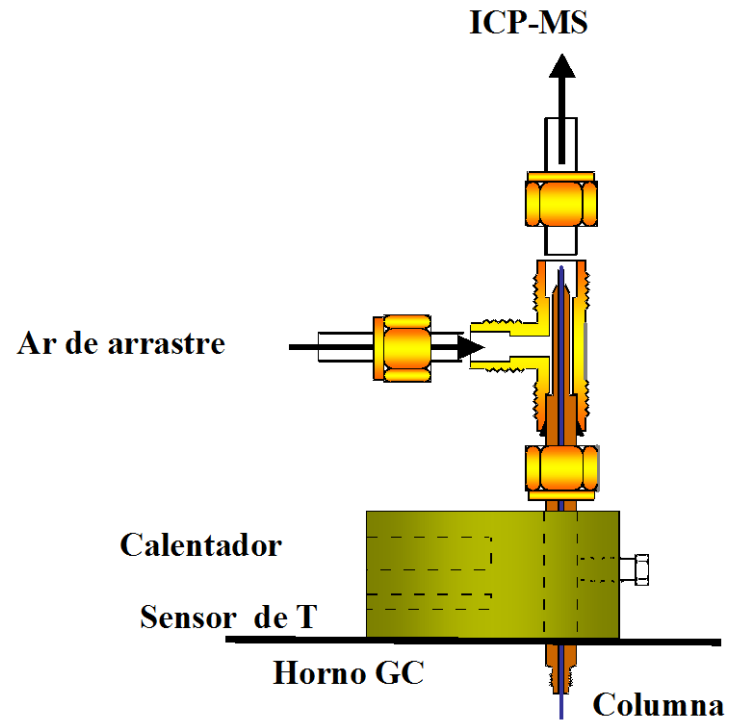
1. Un 100 % de eficiencia en la introducción de la muestra al plasma, lo que se traduce en una mayor sensibilidad.
2. La energía del plasma se utiliza más eficientemente en la atomización e ionización debido a que el analito se encuentra en fase gaseosa y no es necesario aplicar energía adicional para atomizar las moléculas del disolvente.
3. Al introducirse separados los analitos y el disolvente, no se distorsiona el plasma ni provoca una disminución de la energía disponible cuando los analitos llegan a él, lo que se encuentra directamente relacionado con la estabilidad de la línea base y en consecuencia con los límites de detección.
4. Mayor resolución.
5. Menos interferencias espectrales al tratarse de un plasma seco.
6. Menos problemas relacionados con el obturamiento de conos al ser muy pequeña la cantidad de materia que llega al plasma, y por tanto la deriva de la señal.

A las características mencionadas hay que añadir la elevada sensibilidad que presenta para numerosas especies organometálicas. Por ejemplo, los límites de detección absolutos obtenidos para las especies organometálicas de estaño y

mercurio se encuentran en el rango 0.05-0.1 pg [97] y 0.09-0.83 [98] pg, respectivamente.

Los diseños de interfase disponibles para el acoplamiento del cromatógrafo de gases al ICP-MS se diferencian en los dispositivos de calentamiento, en la temperatura que alcanzan dichos dispositivos, en el modo del acoplamiento y en su flexibilidad. En función del grado de calentamiento se pueden diferenciar tres tipos de interfases: la interfase no calentada [99] en la que la salida de la columna se conecta directamente a una pieza en forma de T en la que el efluente cromatográfico se mezcla con un flujo de gas portador. La principal ventaja de esta interfase es su simplicidad de manejo, sin embargo su uso se limita a los compuestos con un bajo punto de ebullición ( $< 200$  °C). Para evitar la condensación de compuestos menos volátiles se utilizan interfases parcialmente calentadas [89, 97], aunque este tipo de interfases tampoco se pueden acoplar a compuestos con un elevado punto de ebullición. Por último, el tercer tipo de interfase es aquella en la que la columna capilar se encuentra lo más cerca posible del plasma y está completamente calentada [100, 101]. En este caso se utiliza una línea de transferencia de 1m que aloja a la columna capilar, el gas de arrastre se calienta haciéndolo pasar a través de un tubo que se encuentra en el interior del horno del cromatógrafo y circula en el espacio comprendido entre la columna capilar y el tubo que la conduce al ICP-MS. Este tipo de interfase permite trabajar incluso a 325 °C por lo que aumenta su aplicabilidad.

En el presente trabajo se ha utilizado una interfase parcialmente calentada desarrollada por M. Montes y col. en la Universidad de Oviedo [96]. La *Figura 1* muestra el diseño de la interfase que consiste en un tubo metálico hueco donde se introduce el final de la columna cromatográfica capilar. Dicho tubo atraviesa longitudinalmente un bloque metálico externo calentado eléctricamente y que posee un sensor de temperatura. El tubo metálico está conectado en su parte superior a una pieza en forma de T que permite la introducción de un flujo envolvente de gas auxiliar. La salida superior de la pieza se conecta a la antorcha del ICP-MS mediante un tubo flexible de PFA que se introduce parcialmente dentro del canal central de la antorcha.



**Figura 1** *Interfase GC-ICP-MS desarrollada por M. Montes y col. [96]*

En las *Tablas 6, 7 y 8* se recogen los métodos más utilizados en la especiación de mercurio, estaño y de ambos en muestras de agua.

**Tabla 6** Métodos utilizados para la especiación de mercurio en muestras de agua

Año	Muestra	Ubicación	Especies	Tratamiento	Derivatización	Análisis	LD (Hg), ngL <sup>-1</sup>	Concentraciones, ngL <sup>-1</sup>	Cita
1993	Agua continental, lago y mar	EEUU (Seattle)	MeHg <sup>+</sup>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 8M, destilación a 154°C, corriente de N <sub>2</sub> y trampa	Etilación: NaBEt <sub>4</sub>	CT-GC-Pyro-AFS	0.006	0.018 (agua continental), 5.14-24.07 (lago), 0.002 (mar)	[102]
1995-1997	Agua continental	España (Almadén)	Hg <sup>2+</sup>	Oxidación (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /KMnO <sub>4</sub> /HNO <sub>3</sub> /K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> )	Reducción: SnCl <sub>2</sub> -HCl	CV-AAS	0.11 µgL <sup>-1</sup>	<0.11-20 µgL <sup>-1</sup>	[103]
1996-1997	Estuario	Francia	Hg <sup>2+</sup> , MeHg <sup>+</sup>	Derivatización directa, purga con He y trampa de Chromosorb con 10% SP-2100	Etilación: NaBEt <sub>4</sub>	CT-AAS	0.1	0.74-2.94 (Hg <sup>2+</sup> ), 0.17-0.26 (MeHg <sup>+</sup> )	[104]
1999	Agua continental y mar	Egipto	Hg <sup>2+</sup>	SPE gel de sílice con ditiocarbamato inmovilizado. Elución agua	-	CV-AAS	-	-	[99]
2000	Agua continental	España (Asturias)	Hg <sup>2+</sup> , MeHg <sup>+</sup>	SPE C18 con dietilditiocarbamato inmovilizado. Elución tiourea 5% en HCl 0.5%	-	LC-ICP-MS	5.2 (Hg <sup>2+</sup> ), 5.6 (MeHg <sup>+</sup> )	120-130 (Hg <sup>2+</sup> ), <5.6 (MeHg <sup>+</sup> )	[62]
2000	Agua mar	Francia	Hg <sup>2+</sup>	-	-	Cronopotenciometría de barrido	5	13	[105]

Tabla 6 Continuación

Año	Muestra	Ubicación	Especies	Tratamiento	Derivatización	Análisis	LD (Hg), ngL <sup>-1</sup>	Concentraciones, ngL <sup>-1</sup>	Cita
2000	Agua mar sintética	-	Hg <sup>2+</sup> , MeHg <sup>+</sup> , PhHg <sup>+</sup>	SPE C18 con ditizona inmovilizada. Elución MeOH	-	LC-UV	0.14 µgL <sup>-1</sup> (Hg <sup>2+</sup> , MeHg <sup>+</sup> ), 0.16 µgL <sup>-1</sup> (PhHg <sup>+</sup> )	-	[63]
2001	Agua continental	Irán	Hg <sup>2+</sup> , MeHg <sup>+</sup>	SPE gel de sílice con 2-mercaptobenzimidazol. Elución KCN 0.05 M y HCl 2 M	Reducción: SnCl <sub>2</sub> -HCl	UV-CV-AFS	0.07 (Hg <sup>2+</sup> ), 0.05 (MeHg <sup>+</sup> )	4-12 (Hg <sup>2+</sup> ), 0.2 (MeHg <sup>+</sup> )	[106]
2001	Agua continental	India	Hg <sup>2+</sup>	SPE 6-mercaptipurina. Elución tiourea 10% en HClO <sub>4</sub> 0.1 M	-	AAS	0.02 µgL <sup>-1</sup>	252-460 µgL <sup>-1</sup>	[64]
2002	Agua mar enriquecida	-	Hg <sup>2+</sup> , MeHg <sup>+</sup>	Digestión(H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /KMnO <sub>4</sub> /NaOH,HCl/EDTA), LLE (ditizona – tolueno, Na <sub>2</sub> S)	Etilación: NaBEt <sub>4</sub>	CT-GC-Pyro-AFS	0.06 (Hg <sup>2+</sup> ), 0.006 (MeHg <sup>+</sup> )	-	[57]
2003	Agua continental, mar enriquecidas	Japón	Hg <sup>2+</sup>	SPE Muromac A-1. Elución HNO <sub>3</sub> 3M:HCl 3M (3:1)	-	ICP-AES	0.02 µgL <sup>-1</sup>	-	[107]
2003	Agua continental	India	Hg <sup>2+</sup> , MeHg <sup>+</sup>	SPE 1,2-bis(o-aminofeniltio)etano. Elución HCl 1M-tiourea 10%	-	CV-AAS	0.09 µgL <sup>-1</sup>	102.4-268.9 µgL <sup>-1</sup> (Hg <sup>2+</sup> ),	[65]
2004	Agua continental, mar y residual	-	Hg <sup>2+</sup> , MeHg <sup>+</sup> , EtHg <sup>+</sup>	NaDDC, SPE C <sub>60</sub> . Elución acetato etilo	Propilación: NaBPr <sub>4</sub>	GC-MS	1-1.5	200-100 (Hg <sup>2+</sup> ), 4-60 (MeHg <sup>+</sup> ), 4-70 (EtHg <sup>+</sup> )	[108]

**Tabla 6** *Continuación*

Año	Muestra	Ubicación	Especies	Tratamiento	Derivatización	Análisis	LD (Hg)	Concentraciones, ngL <sup>-1</sup>	Cita
2004	Hielo	Antártida	Hg <sup>2+</sup> , MeHg <sup>+</sup>	Derivatización directa y HS-SPME fibra Carboxeno-PDMS a 25 °C	Etilación: NaBEt <sub>4</sub>	ICP-TOF-MS	0.27 ppg <sup>-1</sup> (Hg <sup>2+</sup> ), 0.027 ppg <sup>-1</sup> (MeHg <sup>+</sup> )	0.83-8.96 ppg <sup>-1</sup> (Hg <sup>2+</sup> ), 0.12-0.36 ppg <sup>-1</sup> (MeHg <sup>+</sup> )	[109]
2005	Agua mar	Arabia Saudí	Hg <sup>2+</sup> , MeHg <sup>+</sup>	Derivatización directa y HS-SPME fibra PDMS a 40 °C	Fenilación: NaBPh <sub>4</sub>	GC-MS	2 ngL <sup>-1</sup> (Hg <sup>2+</sup> ), 0.8 ngL <sup>-1</sup> (MeHg <sup>+</sup> )	5-10 (Hg <sup>2+</sup> ), <l.d (MeHg <sup>+</sup> )	[110]
2006	Agua continental	España (Almadén)	Hg <sup>2+</sup> , MeHg <sup>+</sup>	Oxidación (KMnO <sub>4</sub> )	nd	CV-AAS	0.5 ngL <sup>-1</sup>	0.006-11.2 (Hg <sup>2+</sup> ), 0.04-30 (MeHg <sup>+</sup> )	[111]
2006	Agua mar	-	Hg <sup>2+</sup> , MeHg <sup>+</sup>	SPE alga <i>Chlorella vulgaris</i> en gel de sílice. Elución HCl 1.5 M	Generación hidruros: NaBH <sub>4</sub>	CV-AAS	1 µgL <sup>-1</sup> (Hg <sup>2+</sup> ), 4 µgL <sup>-1</sup> (MeHg <sup>+</sup> )	-	[112]
2006	Agua subterránea y mar	-	Hg <sup>2+</sup> , MeHg <sup>+</sup> , EtHg <sup>+</sup> , PhHg <sup>+</sup>	Medida directa tras filtración	-	µLC-ICPMS-	11 µgL <sup>-1</sup> (Hg <sup>2+</sup> ), 23 µgL <sup>-1</sup> (MeHg <sup>+</sup> ), 8 µgL <sup>-1</sup> (EtHg <sup>+</sup> ), 32 µgL <sup>-1</sup> (PhHg <sup>+</sup> )	-	[113]
2007	Agua continental	República Checa	Hg <sup>2+</sup> , MeHg <sup>+</sup> , EtHg <sup>+</sup> , PhHg <sup>+</sup>	SPE columna C18. Elución MeOH	-	LC-MS	0.28ngL <sup>-1</sup> (Hg <sup>2+</sup> ), 0.59 ngL <sup>-1</sup> (MeHg <sup>+</sup> ), 0.48 µgL <sup>-1</sup> (EtHg <sup>+</sup> ), 0.44 µgL <sup>-1</sup> (PhHg <sup>+</sup> )	50-68 (Hg <sup>2+</sup> )	[114]

**Tabla 7** *Métodos utilizados para la especiación de derivados butilados de estaño en muestras de agua*

Año	Muestra	Ubicación	Especies	Tratamiento	Derivatización	Análisis	LD (Sn), ngL <sup>-1</sup>	Concentraciones, ngL <sup>-1</sup>	Cita
1993	Agua puerto	España (Huelva)	TBT, DBT, MBT, MPhT, DPhT, TPhT	LLE:HBr/0.07 % tropolona en pentano	Pentilación: Reactivos de Grignard	GC-FPD	4.6 (TBT), 5.3 (DBT, MBT), 12 (DPhT, MPhT), (TPhT)	<4.6-101 (TBT), <5.3-38 (DBT) <12-51 (MBT)	[115]
1998-1999	Agua continental, lago, residual y mar	Grecia	TBT,DBT,MBT, TPhT	Derivatización directa, extracción en hexano y re-extracción en isooctano	Etilación: NaBEt <sub>4</sub>	GC-MS	2 (BTs), 1 (TPhT)	<2-70 (TBT), <2-159 (DBT), <2-19 (MBT), <1 (TPhT)	[116]
1999-2000	Agua continental y mar	Portugal	TBT, DBT, MBT, MPhT, DPhT, TPhT	SPE OASIS HLB.	Etilación: NaBEt <sub>4</sub>	GC-FPD	3.14 (TBT) 3.03 (DBT) 3.32 (MBT) 21.67 (MPhT) 20.75 (DPhT) 22.03 (TPhT)	<3.14-29 (TBT) <3.03-30 (DBT) <3.32-26 (MBT)	[28]
2000	Agua mar	Noruega	TBT, DBT, MBT	SPE estireno-divinilbenceno. Elución CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Etilación: NaBEt <sub>4</sub>	GC-AED	0.5	2.9-27.2 (TBT) 0.9-6.1 (DBT) 0.4-5.3 (MBT)	[117]
2000	Agua residual	Francia	TBT,DBT,MBT, TPhT	Derivatización directa, extracción en isooctano	Etilación: NaBEt <sub>4</sub>	GC-PFPD	0.15 (TBT), 0.18 (DBT), 0.24 (MBT), 0.19 (TPhT)	1.3 (TBT), 0.7 (DBT), 3.9 (MBT), 0.6 (TPhT)	[118]

**Tabla 7** *Continuación*

Año	Muestra	Ubicación	Especies	Tratamiento	Derivatización	Análisis	LD (Sn), ngL <sup>-1</sup>	Concentraciones, ngL <sup>-1</sup>	Cita
2000	Agua	-	TBT, DBT, MBT	Derivatización directa y HS-SPME fibra PDMS a 40 °C	Etilación: NaBEt <sub>4</sub>	GC-FID	0.9 µgL <sup>-1</sup> (TBT), 1.2 µgL <sup>-1</sup> (DBT), 1.0 µgL <sup>-1</sup> (MBT)	-	[118]
2001-2004	Agua mar y puerto	Taiwán	TBT, TPhT	SPE Lichrolut PR-18. Elución acetonitrilo	Pentilación: Reactivos de Grignard	GC-MS	7.2 (TBT) 18.2 (TPhT)	229.4 (TBT) <18.2 (TPhT)	[119]
2001	Agua continental	Francia	TBT, DBT, MBT, MPhT, DPhT, TPhT	Derivatización directa	Etilación: NaBEt <sub>4</sub>	GC-FPD	0.2-0.5	50 (TBT), 33 (DBT), 161 (MBT), 59.1 (MPhT), 15 (DPhT), 2.5 (TPhT)	[120]
2001	Agua mar	India	TBT, DBT, MBT	LLE con HCl 1 M en MeOH y 0.1 % tropolona	Etilación: NaBEt <sub>4</sub>	GC-ICP-MS	0.019-0.85 pgL <sup>-1</sup>	0.3-30.4 (TBT), 3.0-26.8 (DBT), 0.64-4.97 (MBT)	[121]
2002	Agua mar	España (Bahía Gijón)	TBT, DBT, MBT	Dilución isotópica TBT, DBT, MBT enriquecido <sup>119</sup> Sn	Etilación: NaBEt <sub>4</sub>	DI-GC-ICP-MS	0.04 (TBT), 0.09 (DBT), 0.27 (MBT)	6-80 (TBT), 05-17 (DBT), 0.5-8.5 (MBT)	[122]

**Tabla 7** *Continuación*

Año	Muestra	Ubicación	Especies	Tratamiento	Derivatización	Análisis	LD (Sn), ngL <sup>-1</sup>	Concentraciones, ngL <sup>-1</sup>	Cita
2002	Agua puerto	España (Costa Catalana)	TBT, TPhT	SPE C18. Elución TFA 0.02% en acetonitrilo-agua (50:50)	-	LC-ES-MS	16 (TBT), 8 (TPhT)	98 (TBT), <8 (TPhT)	[123]
2003	Lago de agua salada	Italia (Venecia)	TBT, DBT	-	-	GC-MS <sup>2</sup>	5	<LD-139 (TBT), 10-586 (DBT)	[124]
2004	Agua puerto	España (Murcia)	TBT, DBT, MBT	Derivatización directa, purga con He y trampa de tenax, gel de sílice y Cactivo	Etilación :NaBEt <sub>4</sub>	PT-GC-MIP	11 (TBT), 18 (DBT), 16 (MBT)	0.05-0.5 µgL <sup>-1</sup>	[125]
2004	Agua continental y mar	Sudáfrica	TBT, DBT, MBT, TPhT	SLMP rellena de isoocetano	Etilación :NaBEt <sub>4</sub>	GC-FID	1.5 µgL <sup>-1</sup> (TBT) 0.5 µgL <sup>-1</sup> (TPhT)	< 1.5-11.5 µgL <sup>-1</sup> (TBT), 4.8-23 µgL <sup>-1</sup> (DBT), 2.8-14.3 µgL <sup>-1</sup> (MBT), <0.5-6.9 µgL <sup>-1</sup> (TPhT)	[126]
2005	Agua puerto	España (Cádiz)	TBT, DBT, MBT	MIP. Elución HCl 0.3 M en MeOH	Etilación :NaBEt <sub>4</sub>	GC-FPD	12 (TBT, DBT, MBT)	-	[78]
2007	Agua estuario	España (Aturias)	TBT, DBT, MBT	Dilución isotópica TBT, DBT, MBT enriquecido <sup>119</sup> Sn	Etilación :NaBEt <sub>4</sub>	DI-GC-ICP-MS	0.27 (TBT), 0.09 (DBT), 0.04 (MBT)	0.1-6.2 (TBT), 0.1-2.5 (DBT), 0.4-0.8 (MBT)	[127]

**Tabla 8** *Métodos utilizados para la especiación simultánea de mercurio y derivados butilados de estaño en muestras de agua*

Año	Muestra	Ubicación	Especies	Tratamiento	Derivatización	Análisis	LD (Sn, Hg), ngL <sup>-1</sup>	Concentraciones , ngL <sup>-1</sup>	Cita
2002	Sintética	-	TBT, DBT, MBT, Hg <sup>2+</sup> , MeHg <sup>+</sup> ,	Derivatización directa y HS-SPME fibra	Etilación: NaBEt <sub>4</sub>	GC-MIP- AES	0.4-0.6 (TBT, DBT, MB T), 1.1-0.8 (Hg <sup>2+</sup> , MeHg <sup>+</sup> )	-	[128]
2004	Agua mar	España (Bahía Gijón)	TBT, DBT, MBT, Hg <sup>2+</sup> , MeHg <sup>+</sup> ,	Derivatización directa y HS-SPME fibra DVD/CAR/PDMS	Etilación: NaBEt <sub>4</sub>	GC-MS	1.4-16.8 (TBT, DBT, MB T), 2.3-3.1 (Hg <sup>2+</sup> , MeHg <sup>+</sup> )	50-110 (TBT, DBT, MBT), 210-35 (Hg <sup>2+</sup> , MeHg <sup>+</sup> )	[91]
2004	Agua continental y lago	Canadá	MPhT, TPhT, Hg <sup>2+</sup> , MeHg <sup>+</sup> , DMeHg <sup>+</sup> , PhHg <sup>+</sup>	Derivatización directa y HS-SPME fibra PDMS	Etilación: NaBPh <sub>4</sub>	GC-MS	1.3 µgL <sup>-1</sup>	1.3-2.6 µgL <sup>-1</sup> (MPhT, TPhT), 0.39 µgL <sup>-1</sup> (Hg <sup>2+</sup> , MeHg <sup>+</sup> , DmeHg <sup>+</sup> , PhHg <sup>+</sup> )	[129]
2005	Agua mar y residual	-	TBT, DBT, MBT, Hg <sup>2+</sup> , MeHg <sup>+</sup> , EtHg <sup>+</sup>	NaDDC, SPE columna C <sub>60</sub> . Elución acetato etilo	Propilación: NaBPr <sub>4</sub>	GC-MS	0.8-1 (TBT, DBT, MB T), 1.5-1.2 (Hg <sup>2+</sup> , MeHg <sup>+</sup> , EtHg <sup>+</sup> )	<LD (TBT, DBT, MBT), 180-4 (Hg <sup>2+</sup> , MeHg <sup>+</sup> , EtHg <sup>+</sup> )	[130]

## I.5. Bibliografía

- [1] J.J. Zuckerman, R.P. Reisdorf, H.V. Ellis, R.R. Wilkinson. Organotins in biology and the environment. In: F.E. Brinckman, J.M. Bellama (Eds), Organometals and Organometalloids Occurrence and Fate in the Environment, Am. Chem. Soc. N° 82, Washington DC, ACS Symp., (1978) p. 388.
- [2] K. Ikanaba, H. Shiraisi, Y. Soma. Effects of salinity, pH and temperature on aqueous solubility of four organotin compounds. *Water Research*, 29 (5) (1995) 1415.
- [3] K. Fent. Ecotoxicology of organotin compounds. *Crit. Rev. Toxicol.* 26 (1996) 1.
- [4] M. Berg, C.G. Arnold, S.R. Müller, J. Mühlemann, R.P. Schwarzenbach. Sorption and desorption behaviour of organotin compounds in sediment-pore water systems. *Environ. Sci. and Technol.*, 35 (2001) 3151.
- [5] C.G. Arnold, A. Weidenhaupt, M.M. David, S.R. Muller, S.B. Haderlein, R.P. Schwarzenbach. Aqueous speciation and 1-octanol-water partitioning of tributyl- and triphenyltin: effect of pH and ion composition. *Environ. Sci. and Technol.*, 31 (1997) 2596.
- [6] J. Szpunar, S. Mc Sheehy, K. Polec, V. Vacchina, S. Mounicou, I. Rodríguez, R. Lobinski. Gas and liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry detection for environmental speciation analysis-advances and limitations. *Spectrochim. Acta B* 55 (2000) 779.
- [7] H.E. Guard, A.B. Cobet, W.M. Coleman. Methylation of trimethyltin compounds by estuarine sediments. *Science*, 213 (1981) 770.
- [8] V. Yngve. US Patent 2219463 (1940).
- [9] G.M.J. van der Kerk, J.G.A. Luitjen. The biocidal properties of organotin compounds. *J. of Appl. Chem.*, 4 (1954) 314.
- [10] W. Stumm, J.J. Morgan. *Aquatic Chemistry*. 2<sup>nd</sup> Ed. John Wiley & Sons. New York, 1995.
- [11] W.H. Schroeder, J. Munthe. Atmospheric Mercury – An Overview. *Atmos. Environ.*, 32 (1998) 809.
- [12] F.A. Cotton, G. Wilkinson, C.A. Muriollo, M. Bochmann. *Advanced Inorganic Chemistry*. 6<sup>th</sup> Ed. John Wiley & Sons. New York, 1999.
- [13] F.M.M. Morel, A.M.L. Kraepiel, M. Amyot. The chemical cycle and bioaccumulation of mercury. *Annu. Rev.Ecol. Syst.*, 29 (1998) 543.
- [14] R. Pérez, A. Ossorio. *Panorama Histórico de la Química*. Ed. Alhambra.

- [15] T.W. Clarkson. Human Toxicology of Mercury. *J. Trace Elem. Medic.*, 11 (1998) 303.
- [16] L. Friberg, D. Vostal. Mercury in the Environment. CRC PRESS 1972.
- [17] J.E. Sánchez-Uría, A. Sanz-Medel. Inorganic and methylmercury speciation in environmental samples. *Talanta*, 47 (1998) 509.
- [18] G.G. Graf. Tin alloys and tin compounds. In: H.- J. Arpe (Ed), *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, vol. A27. Wiley-VCH, Weinheim, (2000) 49.
- [19] S.J. Blunden, C.J. Evans. Organotin compounds. In: O. Hutzinger (Ed.), *The handbook of environmental chemistry. Vol. 3, Part e, Anthropogenic Compounds*. Springer, Berlin, (1990) 144.
- [20] P.H. Dowson, J.M. Bubb, J.N. Lester. Persistence and degradation pathways of tributyltin in fresh-water and estuarine sediments. *Estuar. Coast Shelf. Sci.* 42 (1996) 551.
- [21] R.J. Hugget, M.A. Unger, P.F. Seligman, A.O. Valkis. The marine biocide tributyltin. *Environ. Sci. and Technol.*, 26 (1992) 233.
- [22] M.J. Waldock, J.E. Thain, D. Smith, S. Milton. The degradation of TBT in estuarine sediments. *Proc. 3<sup>rd</sup> Int. Organotin Symp.*, Mónaco, (1990) 46.
- [23] H. Rüdell. Case study: Bioavailability of tin and tin compounds. *Ecotoxicol. and Environ. Safety*, 56 (2003) 180.
- [24] G.M. Gad. Microbial interactions with tributyltin compounds: detoxification, accumulation, and environmental fate. *Sci. of the Total Environ.*, 258 (2000) 119.
- [25] C.G. Arnold, A. Ciani, S.R. Müller, A. Amirbaham, R.P. Schwarzenbach. Association of triorganotin compounds with dissolved humic acids. *Environ. Sci. and Technol.*, 32 (1998) 2976.
- [26] M. Hoch. Organotin compounds in the environment-an overview. *Applied Geochemistry*, 16 (2001) 719.
- [27] K. Kannan, K. Senthikumar, J.P. Giesy. Occurrence of butyltin compounds in human blood. *Environ. Sci. Technol.*, 33 (1999) 1776.
- [28] B. Antizar-Ladislao. Environmental levels, toxicity and human exposure to tributyltin (TBT)-contaminated marine environment. A review. *Environ. Intern.*, 34 (2008) 292.
- [29] Mercury Study Report to Congress. Vol. II: An inventory of anthropogenic mercury emissions in the United States. United States EPA. December 1997. (<http://www.epa.gov/ttn/oarpg/t3/reports/volume2.pdf>).

- [30] World Health Organization (WHO) Environmental Criteria 118: Inorganic mercury. WHO. Geneva, 1991.
- [31] Expert panel on mercury atmospheric processes. Mercury atmospheric processes: A synthesis report. Worksh Proc. EPRI/TR-104214. Florida, USA, 1994.
- [32] R. Ebinghaus, R.M. Tripathi, D. Wallschläger, S.E Lindberg. Natural and anthropogenic mercury sources and their impact on the air-surface exchange of mercury on regional and global scales. In Mercury Contaminated Sites. R. Ebinghaus, R.R. Turner, L.D. de Lacerda, O. Vasiliev, W. Salomons (Eds.). Springer-Verlag, Berlin, 1999.
- [33] J.O. Nriagu, J.M. Pacyna. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *Nature*, 33 (1988) 134.
- [34] W.F. Fitzgerald, D.R. Engstrom, R.P. Manson, E.A. Nater. Biogeochemical cycling of mercury in the marine environment. *Metal Ions Biol. Syst.*, 34 (1997) 53.
- [35] R.P. Manson, W.F. Fitzgerald, F.M.M. Morel. The biogeochemical cycling of elemental mercury: Anthropogenic influences. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 58 (1994) 3191.
- [36] C. Triffreau, J. Lützenkirchen, P. Behra. Modelling the adsorption of mercury (II) on (Hydr)oxides: I. Amorphous iron oxide and a quartz. *J. Colloid. Interf. Sci.*, 172 (1995) 82.
- [37] M. Amyot, D.R.S. Lean, G. Mierle. Photochemical formation of volatile mercury in high Arctic lakes. *Environ. Toxicol. Chem.*, 16 (1997b) 2054.
- [38] R.P. Manson, F.M.M. Morel, H.F. Hemond. The role of microorganisms in elemental mercury formation in natural waters. *Water Air Soil Pollut.*, 80 (1995) 775.
- [39] N.S. Bloom, C.J. Watras. Observations of methylmercury in precipitation. *Sci. Tot. Environ.*, 87/88 (1989) 199.
- [40] E. Pelletier. Environmental organometallic chemistry of mercury, tin and lead: Present status and perspectives. A. Tessier, D.R. Turner (Eds.). *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems*. IUPAC, John Willey & Sons, 1995.
- [41] P.E. Gibbs, G.W. Bryan. Reproductive failure in populations of the dog-whelk, *Nucella lapillus*, caused by imposex induced by tributyltin from antifouling paints. *J. Kar. Biol. Ass.*, 66 (1986) 10.
- [42] J.M. Ruiz, G. Bachelet, P. Caumette, O.F.X. Donard. Three decades of tributyltin in the coastal environment with emphasis on Arcachon Bay, France. *Environ. Pollut.*, 93 (1996) 195.

- [43] World Health Organization (WHO). Tributyltin Compounds. United Nations environmental programme-World Health Organization, Environmental Criteria 116. WHO, Geneva, Switzerland, 1990.
- [44] S. Tanabe. Butyltin contamination in marine mammals- A review. *Marine Pollution*, 31 (1-12) (1999) 62.
- [45] K.S. Guruge, S. Tanabe, H. Iwata, R. Tatsukawa, S. Yamagishi. Distribution, biomagnification, and elimination of butyltin compound residues in common cormorants (*Phalacrocorax carbo*) from Lake Biwa, Japan. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 31 (1996) 210.
- [46] K. Kannan, J. Falandysz. Butyltin residues in sediment, fish, fish-eating birds, harbour porpoise and human tissues from Polish coast of the Baltic Sea. *Mar. Pollut. Bull.*, 34 (1997) 203.
- [47] World Health Organization (WHO). Criterios de salud ambiental 15: Estaño y derivados orgánicos de estaño. Publicación científica nº 467, Washington, 1984.
- [48] IMO, Anti-fouling systems, 2002. <http://www.imo.org>
- [49] M.A. Champ. A review of organotin regulatory strategies, pending actions, related costs and benefits. *Sci. Tot. Environ.*, 258 (2000) 21.
- [50] S.M. Evans. Tributyltin pollution: The catastrophe the never happened. *Mar. Poll. Bull.*, 38(8) (1999) 629.
- [51] Directiva 76/464/CEE del consejo, de 4 de Mayo de 1976, relativa a la contaminación causada por determinadas sustancias peligrosas vertidas en el medio acuático de la comunidad. DOCE 129/1, de 18/05/76.
- [52] National Drinking Primary Water Standards. Report EPA 816-F-03-016, United States EPA, June 2003. <http://www.epa.gov/safewater/consumer/pdf/mcl.pdf>
- [53] J.S. Casas, V. Moreno, A. Sánchez, J.L. Sánchez, J. Sordo. Introducción a la Toxicología Metálica: Cd, Hg y Pb. Química Bioinorgánica. Ed. Síntesis.
- [54] Mercury Study Report to Congress. Vol. V: Health Effects of Mercury and Mercury Compounds. United States EPA. December 1997. (<http://www.epa.gov/ttn/oarpg/t3/reports/volume5.pdf>)
- [55] WHO Guidelines for Drinking-Water Quality. World Health Organization, 2005.
- [56] M. Abalos, J.M. Bayona, R. Compañó, M. Granados, C. Leal, M.D. Prat. Analytical procedures for the determination of organotin compounds in sediment and biota: a critical review. *J. of Chrom. A*, 788 (1997) 1.

- [57] M. Logar, M. Horvat, H. Akagi, B. Pihlar. Simultaneous determination of inorganic mercury and methylmercury compounds in natural waters. *Anal. Bioanal. Chem.*, 374 (2002) 1015.
- [58] J. Chen, H. Chen, X. Jin. Determination of ultra-trace amount methyl-, phenyl and inorganic mercury in environmental and biological samples by liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry after cloud point extraction preconcentration. *Talanta* 2008, accepted Manuscript.
- [59] C. Dietz, Y. Madrid, C. Cámara. Mercury speciation using the capillary cold trap coupled with microwave-induced plasma atomic emission spectroscopy. *J. Anal. At. Spectrom.*, 16 (2001) 1397.
- [60] Y.H. Lee, J. Mowreir. Determination of methylmercury in natural waters at the sub-nanograms per litre level by capillary gas chromatography after adsorbent preconcentration. *Anal. Chim. Acta*, 221 (1989) 259.
- [61] H. Etemborg, D.C. Baxter, M. Sharp, W. Frech. Evaluation, mechanism and application of solid-phase extraction using a dithiocarbamate resin for the sampling and determination of mercury species in humic-rich natural waters. *Analyst*, 120 (1995) 69.
- [62] R. Martínez-Blanco, M. Tagle-Villanueva, J.E. Sánchez-Uría, A. Sanz-Medel. Field sampling, preconcentration and determination of mercury species in river waters. *Anal. Chim. Acta*, 419 (2000) 137.
- [63] D.M. Sánchez, R. Martín, R. Morante, J. Marín, M.L. Munuera. Preconcentration speciation method for mercury compounds in water samples using solid phase extraction followed by reversed phase high performance liquid chromatography. *Talanta*, 52 (2000) 671.
- [64] B.C. Mondral, D. Das, A.K. Das. Application of a new resin functionalised with 6-mercaptopurine for mercury and silver determination in environmental samples by atomic absorption spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, 450 (2001) 223.
- [65] B.C. Mondral, A.K. Das. Determination of mercury species with a resin functionalized with a 1,2-bis(o-aminophenylthio)ethane moiety. *Anal. Chim. Acta*, 477 (2003) 73.
- [66] E. Vereda-Alonso, M.T. Siles-Cordero, A. García de Torres, P. Cañada-rudner, J. M. Cano-Pavón. Mercury speciation in sea food by flow injection cold vapor atomic absorption spectrometry using selective solid phase extraction. *Talanta*, 77 (2008) 53.

- [67] A.M. Carro, M.C. Mejuto. Application of chromatographic and electrophoretic methodology to the speciation of organomercury compounds in food analysis. *J. of Chrom. A*, 882 (2000) 283.
- [68] H. Bin, J. Gui-Bin, N. Zhe-Ming. Determination of methylmercury in biological samples and sediments by capillary gas chromatography coupled with atomic absorption spectrometry after hydride derivatization and solid phase microextraction. *J. Anal. Atom. Spetrom.*, 13 (1998) 1141.
- [69] R. Ito, M. Kawaguchi, N. Sakui, H. Honda, N. Okahouchi, K. Saito, H. Nakazawa. Mercury speciation and analysis in drinking water by stir bar sorptive extraction with in situ propyl derivatization and thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatography A.*, 1209 (2008) 267.
- [70] O.F.X. Donard, B. Lalere, F. Martin, R. Lobinski. Microwave assisted leaching of organotin compounds from sediments for speciation analysis. *Anal. Chem.*, 67 (1995) 4250.
- [71] Y. Liu, V. Lopez-Avila, M. Alcaraz, W.F. Beckert. On-line complexation and supercritical fluid extraction and GC-AES for the determination and speciation of organotin compounds in soils and sediments. *Anal. Chem.*, 66 (1994) 3788.
- [72] S. Chiron, S. Roy, R. Cottier, R. Jeannot. Speciation of butyl and phenyl-tin compounds in sediments using pressurized liquid extraction and liquid chromatography ICP-MS. *J. Chromatogr. A*, 879 (2000) 137.
- [73] Y. Cai, J.M. Bayona. Simultaneous speciation of Butyl-, Phenyl-, and Cyclohexyltin compounds in aqueous matrices using ethylation followed by solid-phase trace enrichment, SFE, and GC determination. *J. of Chrom. Sci.*, 33 (1995) 89-97.
- [74] P. Bermejo-Barrera, P. González-Campos, M. Ferrón-Novaris, A. Bermejo-Barrera. Column preconcentration of organotin with tropolone-immobilized and their determination by electrothermal atomization absorption spectrometry. *Talanta*, 46 (1998) 1479.
- [75] V. Camel. Solid phase extraction of trace elements. *Spectrochim. Acta Part B*, 58 (2003) 1177.
- [76] S. Díez, L. Ortiz, J.M. Bayona. Off-line solid-phase extraction procedure for the determination of phenyl and butyltin compounds from aqueous matrices followed by GC-FPD determination. *Chromatographia*, 52 (9/140) (2000) 657.
- [77] B. Puri, R. Muñoz-Olivas, C. Cámara. A new polymeric adsorbent for screening and pre-concentration of organotin compounds in sediments and seawater samples. *Spectrochim. Acta Part B*, 59 (2004) 209.

- [78] M. Gallego-Gallegos, R. Muñoz-Olivas, A. Martín-Esteban, C. Cámara. Synthesis and evaluation of molecularly imprinted polymers for organotin compounds: a screening method for tributyltin detection in sea-water. *Anal. Chim. Acta*, 531 (2005) 33.
- [79] L. Monens, T. De Smaele, R. Dams. Sensitive, simultaneous determination of organomercury, -lead and -tin compounds with headspace solid phase microextraction capillary gas chromatography combined with inductively coupled plasma mass spectrometry. *Anal. Chem.*, 69 (1997) 1604.
- [80] G. Lespes, V. Desauziers, C. Montigny, M. Potin-Gautier. Optimization of solid-phase microextraction for the speciation of butyl- and phenyltins using experimental designs. *J. of Chrom. A*, 826 (1998) 67.
- [81] S. Aguerre, C. Bancon-Montigny, G. Lespes, M. Potin-Gautier. Solid-phase Microextraction (SPME): a new procedure for the control of butyl- and phenyltin pollution in the environment by GC-FPD. *The Analyst*, 125 (2000) 263.
- [82] A.P. Birjandi, A. Bidani, F. Rezaei, M. R. M. Hosseini, Y. Assadi. Speciation of butyl and phenyltin compounds using dispersive liquid-liquid microextraction and gas chromatography-flame photometric detection. *J. Chrom. A*, 1193 (2008) 19.
- [83] S. Rapsomanikis. Derivatization by ethylation with sodium tetraethylborate for the speciation of metals and organometallics in environmental samples. A review. *The Analyst*, 119 (1994) 1429.
- [84] W.P. Liu, K. Lee. Chemical modification of analytes in speciation analysis by capillary electrophoresis, liquid chromatography and gas chromatography. *J. Chrom. A*, 834 (1999) 45.
- [85] H. Serra, J.M.F. Nogueira. Organotin speciation in environmental matrices by automated *on-line* hydride generation-programmed temperature vaporization-capillary gas chromatography-mass spectrometry detection. *J. of Chrom. A*, 1094 (2005) 130.
- [86] S. Segade, C. Bendicho. Selective reduction method for separate determination of inorganic and total mercury in mussel tissue by flow-injection cold vapor technique. *Ecotoxicol. Environ. Safe*, 42 (1999) 245.
- [87] H. Emteborg, H.W. Sinemus, B. Radziuk, D.C. Baxter, W. Frec. Gas Chromatography coupled with atomic absorption spectrometry – a sensitive instrumentation for mercury speciation. *Spectrochim. Acta B*, 51 (1996) 829.
- [88] H.E.L. Armstrong, W.T. Corns, P.B. Stockwell, G. O'Connor, L. Ebdon, E.H. Evans. Comparison of AFS and ICP-MS detection coupled with gas chromatography for the determination of methylmercury in marine samples. *Anal. Chim. Acta*, 390 (1999) 245.

- [89] S. Aguerre, G. Lespes, V. Desauziers, M. Potin-Gautier. Speciation of organotin in environmental samples by SPME-GC: comparison of four specific detectors: FPD, PFPD, MIP-AES and ICP-MS. *J. of Anal. Atom. Spectrom.*, 16 (2001) 263.
- [90] I. Rodríguez-Pereiro, A. Carro-Díaz. Speciation of mercury, tin, and lead compounds by gas chromatography with microwave-induced plasma and atomic-emission detection (GC-MIP-AED). *Anal. Bioanal. Chem.*, 74 (2002) 372.
- [91] G. Centineo, E. Blanco-González, A. Sanz-Medel. Multielemental speciation analysis of organometallic compounds of mercury, lead and tin in natural water samples by headspace-solid phase microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry. *J. of Chrom. A*, 1034 (2004) 191.
- [92] J.C.A. Wuilloud, R.G. Wuilloud, A.P. Vonderheide, J.A. Caruso. Gas chromatography/plasma spectrometry-an important analytical tool for elemental speciation studies. *Spectrochim. Acta B*, 59 (2004) 755.
- [93] C.F. Harrington. The speciation of mercury and organomercury compounds by using high-performance liquid chromatography. *Trends in Anal. Chem.*, 19 (2000) 167.
- [94] T.L. Jones-Lepp, G.M. Momplaisir. New applications of LC-MS and LC-MS<sup>2</sup> toward understanding the environmental fate of organometallics. *Trends in Anal. Chem.*, 24 (7) (2005) 590.
- [95] N.P. Vela, L.K. Olson, J.A. Caruso. Elemental speciation with plasma mass spectrometry. *Anal. Chem.*, 65 (1993) 585 A.
- [96] M. Montes-Bayón, M. Gutierrez-Cambor, J.I. García-Alonso, A. Sanz-Medel. An alternative GC-ICPMS interface design for trace element speciation. *J. Anal. At. Spectrom.*, 14 (1999) 1317.
- [97] R. García-Fernández, M. Montes-Bayón, J.I. García-Alonso, A. Sanz-Medel. Comparison of different derivatization approaches for mercury speciation in biological tissues by gas chromatography/inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.*, 35 (2000) 639.
- [98] B. Bouyssiére, J. Szpunar, R. Lobinski. Gas chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometric detection in speciation analysis. *Spectrochim. Acta Part B*, 57 (2002) 805.
- [99] H. Tao, T. Murakami, M. Tominaga, A. Miyazaki. Mercury speciation in natural gas condensate by gas chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.*, 13 (1998) 1085.
- [100] H. Tao, R.B. Rajendran, C.R. Quetel, T. Nakazeto, M. Tominaga, A. Miyazaki. Tin speciation in the femtogram range in open ocean seawater by gas chromatography /

inductively coupled plasma mass spectrometry using a shield torch at normal plasma conditions. *Anal. Chem.*, 71 (1999) 4208.

[101] T. De Smaele, L. Moens, R. Dams, P. Sandra. Capillary gas chromatography-ICP mass spectrometry: a powerful hyphenated technique for the determination of organometallic compounds. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 355 (1996) 778.

[102] M. Horvat, L. Liang, N.S Bloom. Comparison of distillation with other current isolation methods for the determination of methylmercury compounds in low level environmental samples. Part II. Water. *Anal. Chim. Acta*, 282 (1993) 153.

[103] J.J. Berzas-Nevado, L.F. García-Bermejo, Rodríguez Martín-Doimeadios. Distribution of mercury in the aquatic environment at Almadén, Spain. *Environ. Poll.*, 122 (2003) 261.

[104] C.M. Tseng, A. de Diego, H. Pinaly, D. Amouroux, O.F.X. Donard. Cryofocusing coupled to atomic absorption spectrometry for rapid and simple mercury speciation in environmental matrices. *J. Anal. Atom. Spectrom.*, 13 (1998) 755.

[105] R.D. Riso, M. Waeles, P. Monbet, C.J. Chaumery. Measurements of trace concentrations of mercury in sea water by stripping chronopotentiometry with gold disk electrode: influence of copper. *Anal. Chim. Acta*, 410 (2000) 97-105.

[106] H. Bagheri, A. Gholami. Determination of very low levels of dissolved mercury (II) and methylmercury in river waters by continuous flow with on-line UV decomposition and cold-vapor atomic fluorescence spectrometry after pre-concentration on a silica gel-2-mercaptobenzimidazol sorbent. *Talanta*, 55 (2001) 1141.

[107] E. Vassileva, N. Furuta. Application of iminodiacetate chelating resin muromac A-1 in on-line preconcentration and inductively coupled plasma optical emission spectroscopy determination of trace elements in natural waters. *Spectrochim. Acta Part B*, 58 (2003) 1541.

[108] J. Muñoz, M. Gallego, M. Valcárcel. Solid-phase extraction-gas chromatography-mass spectrometry using a fullerene sorbent for the determination of inorganic mercury (II), methylmercury (I) and ethylmercury (I) in surface waters at sub-ng/mL levels. *J. of Chrom. A*, 1055 (2004) 185.

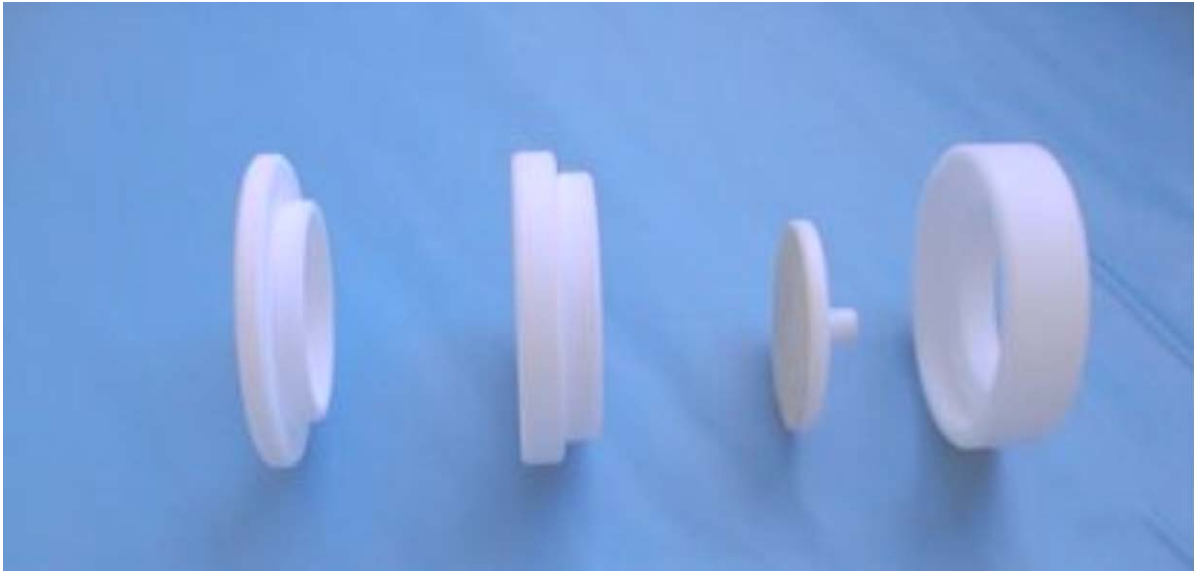
[109] P.J. Jitaru, F.C. Adams. Speciation analysis of mercury by solid-phase microextraction and multicapillary gas chromatography hyphenated to inductively coupled plasma-time-of-flight-mass-spectrometry. *J. of Chrom. A*, 1055 (2004) 197.

[110] B. Palenzuela, L. Manganiello, A. Ríos, M. Valcárcel. Monitoring inorganic mercury and methylmercury species with liquid chromatography-piezoelectric detection. *Anal. Chim. Acta*, 511 (2004) 289.

- [111] P. Higuera, R. Oyarzun, J. Lillo, J. Sánchez-Hernández, J.A. Molina, J.M. Esbi, S. Lorenzo. The Almadén district (Spain): Anatomy of one of the world's largest Hg-contaminated sites. *Sci. of the Total Environ.*, 356 (2006) 112
- [112] P. Tajés-Martínez, E. Beceiro-González, S. Muniategui-Lorenzo, D. Prada-Rodríguez. Micro-columns packed with *Chlorella vulgaris* immobilised on silica gel for mercury speciation. *Talanta*, 68 (2006) 1489.
- [113] A. Castillo, A.F. Roig-Navarro, O.J. Pozo. Method optimization for the determination of four mercury species by micro-liquid chromatography–inductively coupled plasma mass spectrometry coupling in environmental water sample. *Anal. Chim. Acta*, 577 (2006) 18.
- [114] P. Houserová, D. Matějček, V. Kubáň. High-performance liquid chromatographic/ion-trap mass spectrometric speciation of aquatic mercury as its pyrrolidinedithiocarbamate complex. *Anal. Chim. Acta*, 596 (2007) 242.
- [115] J.L. Gómez-Ariza, E. Morales, I. Giraldez. Spatial distribution of butyl and phenyltin compounds on the Huelva coast (Southwest Spain). *Chemosphere*, 37 (5) (1998) 937.
- [116] N.S. Thomaidis, A.S. Stasinakis, G. Gatidou, R. Morabito, P. Massanisso, T. D. Lekkas. Occurrence of Organotin Compounds in the Aquatic Environment of Greece. *Water Air Soil & Pollut.*, 181 (2007) 201.
- [117] N. Følsvik, E.M. Einar, J.A. Berge. Monitoring of organotin compounds in seawater using semipermeable membrane devices (SPMDs)-tentative results. *J. of Environ. Monit.*, 2 (2000) 281.
- [118] Ch. Bacon-Montigny, G. Lespes, M. Potin-Gautier. Improved routine speciation of organotin compounds in environmental samples by pulsed flame photometric detection. *J. of Chrom. A*, 896 (2000) 149.
- [119] C.C. Lee, C.Y. Hsieh, C.J. Tien. Factors influencing organotin distribution in different marine environmental compartments, and their potential risk. *Chemosphere*, 65 (2006) 547.
- [120] Ch. Bacon-Montigny, G. Lespes, M. Potin-Gautier. Organotin survey in the Adour-Garonne basin. *Water Research*, 38 (2004) 933.
- [121] R.B. Rajendran, H. Tao, A. Miyazaki, R. Ramesh, S. Ramachandran. Determination of butyl-, phenyl-, octyl- and tributylmonomethyltin compounds in a marine environment (Bay of Bengal, India) using gas chromatography–inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Environ. Monit.*, 3 (2001) 627.

- [122] P. Rodríguez-González, J. Ruiz-Encinar, J.I. García-Alonso, A. Sanz-Medel. Determination of butyltin compounds in coastal seawater samples using isotope dilution GC-ICP-MS. *J. Anal. At. Spectrom.*, 17 (2002) 824.
- [123] E. González-Toledo, R. Compañó, M.D. Prat, M. Granados. Determination of triorganotin species in water samples by liquid chromatography-electrospray-mass spectrometry. *J. Chrom. A*, 946 (2002) 1.
- [124] D. Berto, M. Giani, R. Boscolo, S. Covelli, O. Giovanardi, M. Massironi, L. Grassia. Organotins (TBT and DBT) in water, sediments, and gastropods of the southern Venice lagoon (Italy). *Mar. Poll. Bull.*, 55 (2007) 425.
- [125] N. Campillo, N. Aguinaga, P. Viñas, I. López-García, M. Hernández- Cordoba. Speciation of organotin compounds in waters and marine sediments using purge-and-trap capillary gas chromatography with atomic emission detection. *Anal. Chim. Acta*, 525 (2004) 273.
- [126] E. Cukrowska, L. Chimuka, H. Nseengimana, V. Kwaramba. Application of supported liquid membrane probe for extraction and preconcentration of organotin compounds from environmental water samples. *Anal. Chim. Acta*, 523 (2004) 141.
- [127] M. Üveges, P. Rodríguez-González, J.I. García Alonso, A. Sanz-Medel, P. Fodor. Isotope dilution analysis mass spectrometry for the routine measurement of butyltin compounds in marine environmental and biological samples. *Microchem. J.*, 85 (2007) 115.
- [128] J.C. Botana, R.R. Rodríguez, A.M.C. Díaz, R.A.L. Ferreira, R.C. Torrojos, I.R. Pereiro. Fast and simultaneous determination of tin and mercury species using SPME, multicapillary gas chromatography and MIP-AES detection. *J. Anal. Atom. Spectrom.*, 17 (2002) 904.
- [129] D.R. Parkinson, I. Bruheim, I. Christ, J. Pawliszyn. Full automation of derivatization solid-phase microextraction gas chromatography mass spectrometry with a dual-arm system for the determination of organometallic compounds in aqueous samples. *J. of Chrom. A*, 1025 (2004) 77.
- [130] J. Muñoz, M. Gallego, M. Valcárcel. Speciation analysis of mercury and tin compounds in water and sediments by gas chromatography–mass spectrometry following preconcentration on C60 fullerene. *Anal. Chim. Acta*, 548 (2005) 66.

## CAPÍTULO II : EL MUESTREO PASIVO



### **II.1. Introducción a las técnicas de toma de muestra**

El aseguramiento de la calidad de un ecosistema acuático lleva asociado un gran número de problemas debido a la complejidad del propio sistema derivada de su naturaleza dinámica. Este hecho dificulta la toma de muestras, lo que constituye una de las etapas más importantes del proceso analítico. Cualquier error cometido en este paso no puede ser corregido a posteriori, por lo que tras definir el problema analítico de interés, se debe establecer la estrategia de muestreo más adecuada en función de la información deseada y de los medios de análisis disponibles en el laboratorio. Hasta el momento, la mayor parte de los esfuerzos para el aseguramiento de la calidad dentro de la monitorización medioambiental se han centrado en la manipulación de las muestras dentro del laboratorio, dejando la toma de muestra en segundo plano [1, 2].

En términos generales, y aunque no deberían considerarse de forma independiente sino complementaria, se pueden diferenciar tres grupos de metodologías aplicadas a la monitorización acuática: el muestreo por puntos, el muestreo biológico y el muestreo pasivo.

## II.2. Muestreo por puntos

El muestreo directo o muestreo por puntos es la técnica más utilizada en monitorización acuática. Consiste en la toma de muestras representativas, con una frecuencia establecida y en puntos específicos donde, por las actividades que se desempeñan, se puede intuir la presencia de las especies que se desean monitorizar. Una vez llevado a cabo, las muestras son transportadas al laboratorio para su análisis. Operando de esta forma, se obtienen de forma precisa los niveles de los compuestos de interés en un punto y un tiempo determinado [3]. Esta es la metodología recomendada y validada en la mayoría de directivas, normas y procedimientos para el análisis, y se aplica de manera rutinaria en la mayoría de laboratorios medioambientales. Sin embargo, el muestreo por puntos es caro, requiere mucho tiempo y presenta un gran número de desventajas en aquellas situaciones en las que se producen grandes variaciones espaciales y temporales en los niveles de la/s especie/s de interés [4]. Por ejemplo, los niveles de diversos metales (Cr, Cd, Zn y Sn) presentes en el río Mass (Holanda) monitorizados de forma continua en la localidad de Eijsden [5] muestran una variación temporal de varios órdenes de magnitud ( $<1$ .d. hasta  $19.73 \mu\text{g L}^{-1}$  para Cr). A pesar de los inconvenientes, esta técnica es adecuada para muestreo en condiciones estáticas, como las existentes en lagos, en las que la concentración de una especie apenas varía con el tiempo.

Para minimizar los errores asociados a la variabilidad temporal y a la frecuencia de toma de muestra, se han desarrollado estaciones automáticas de muestreo en las que se recoge un volumen de muestra determinado con una frecuencia establecida. Tras un tiempo de funcionamiento fijado por el usuario, se obtiene una muestra compuesta cuyo análisis refleja la concentración media durante el periodo de muestreo. La aplicación de este tipo de sistemas tiene particular interés en aquellas localizaciones en las que se producen episodios intermitentes de contaminación causantes de importantes daños ecológicos y/o económicos como por ejemplo puntos de descarga de efluentes industriales o agrícolas, plantas de tratamiento de residuos o aguas, o bien para la monitorización de agua de lluvia [6, 7]. Sin embargo, el uso de estaciones de muestreo favorece la pérdida de los compuestos más hidrofóbicos que se encuentran en muy baja concentración en el medio acuoso debido a la ausencia de un medio colector que favorezca su estabilización y preconcentración [4], utilizan una

---

instrumentación cara que requiere conexión eléctrica, así como una localización segura, lo cual no favorece su uso en análisis de rutina.

Un problema añadido en el muestreo por puntos es que se favorecen transformaciones de la especie durante el transporte y almacenamiento de las muestras [8] a pesar del uso de aditivos para el mantenimiento de la integridad de las especies. Además, en la mayoría de los casos las especies de interés se encuentran en el medio acuático en tan baja concentración, que hacen necesario el procesamiento de grandes volúmenes de muestra para poder efectuar el análisis junto a una etapa de preconcentración previa. Esta baja concentración puede disminuir durante el almacenamiento de la muestra debido a la absorción de los mismos en la materia en suspensión o materia orgánica disuelta presente en el agua, o incluso en las propias paredes del contenedor. Para evitar pérdidas se deben seleccionar unas condiciones de almacenamiento adecuadas en cuanto a la naturaleza del recipiente, temperatura, luz, tiempo, necesidad de adicionar conservantes en función del análisis que se vaya a realizar, etc.

A pesar de estas desventajas, los programas de muestreo por puntos son aún extensamente aplicados en los focos de descarga de contaminantes al agua así como en el muestreo de agua de lluvia. Esta es la estrategia que más se utiliza actualmente en el muestreo de mercurio y compuestos organoestánicos en aguas. El tipo de contenedor, la temperatura y la ausencia de luz son parámetros de gran importancia para la preservación de especies [9-11]. También se recomienda el uso de resinas que permiten la preconcentración y almacenamiento [12-14].

### II.3. Muestreo biológico

Todos los organismos viven en equilibrio con el medio que les rodea, por ello, la relación existente entre las condiciones ambientales y el estado de las especies que habitan en ese medio permite monitorizar la calidad química y biológica del mismo. La fauna acuática constituye un depósito para los contaminantes vertidos al medio, lo que permite determinar la fracción biodisponible de un contaminante a lo largo del tiempo. Por lo general, los organismos vivos son utilizados como bioindicadores o bien como biomonitores [15].

Existen tres tipos de bioindicadores: *de exposición* para la detección de una sustancia exógena y/o sus metabolitos, *de efecto* con el que se miden los efectos bioquímicos, fisiológicos o alteraciones relacionadas con la interacción con una sustancia exógena y *de susceptibilidad* que indican la capacidad inherente o adquirida por un organismo para responder a una sustancia específica. Así por ejemplo, la contaminación por metales pesados en el medio acuático se refleja a nivel celular mediante la síntesis de proteínas de estrés térmico HSP (Heat Shock Proteins) [16], la inducción de metalotioneínas [17] como mecanismo de protección celular y mediante el estudio de cambios en el tamaño y número de lisosomas debido a la acumulación de xenobióticos [18]. En el caso de compuestos organoestánicos, un claro ejemplo de bioindicador *de efecto* es la aparición de alteraciones genitales en gasterópodos y malformaciones en las conchas de determinados moluscos [19]. Con frecuencia se emplea el organismo completo para detectar la presencia de contaminantes en el medio. En este caso la biomonitorización está basada en la cuantificación de las especies acumuladas debido a un proceso de partición entre el medio que le rodea y su tejido lipídico.

Existen dos tipos de estrategias de muestreo biológico: activa y pasiva. La primera consiste en seleccionar las especies adecuadas para el muestreo en un punto y trasladarlas al área que se quiere monitorizar y la segunda consiste en recoger a las especies en su hábitat natural [20].

La principal ventaja del muestreo biológico frente al muestreo por puntos es que se favorece la determinación de contaminantes que se encuentran en muy baja concentración, la monitorización es continua y efectiva durante el tiempo de exposición del organismo, por lo que la información que proporciona no está basada en una

medida puntual, y además, es un proceso barato y capaz de preservar la naturaleza de los analitos durante el transporte de la muestra. Sin embargo, el uso de organismos presenta una serie de inconvenientes: las especies seleccionadas para el muestreo pueden sobrevivir solo en su hábitat; muchos compuestos no pueden monitorizarse debido a que son metabolizados y la bioacumulación varía entre individuos de una misma especie ya que se ve afectada por el tamaño, edad, sexo, porcentaje de grasa, etc. Hay que resaltar que la extensión en que se produce la acumulación de una especie depende de sus propiedades físico-químicas, por lo que cuanto más lipofílica sea, en mayor extensión y velocidad son retenidas en los tejidos grasos.

Entre los organismos más utilizados en la biomonitorización del mercurio presente en aguas se encuentran pescados de gran tamaño como el atún, pez espada, cazón y trucha debido a que la bioacumulación de mercurio y sus especies es mayor en las especies que ocupan una posición más alta en la cadena trófica [21]. También se utiliza el mejillón debido a su amplia distribución geográfica y a su alta capacidad para acumular metales [22]. Desde los años 50 numerosas aves marinas han sido utilizadas para la monitorización de los niveles de mercurio en el medio acuático. Los huevos, plumas, sangre y tejido blando de garzas y gaviotas son comúnmente empleados con estos fines [23]. Se ha propuesto el uso de mamíferos insectívoros como la musaraña para la monitorización metálica ya que la amplia distribución de estos roedores en el sur-este europeo, junto a su posición en la cadena, sus características metabólicas y necesidades alimenticias permiten una mayor acumulación de contaminantes metálicos que en otros mamíferos más pequeños [24]. Concretamente ha sido aplicada en el estudio de mercurio, plomo y cadmio en el Delta del Ebro [25].

Los organismos comúnmente utilizados en la biomonitorización de derivados butilados de estaño son gasterópodos, principalmente caracoles marinos, junto a mejillón y ostras, debido a sus efectos fisiológicos. En el caso de algunos caracoles marinos, el TBT alcanza niveles 1000 veces superiores a los que existen en el medio circundante [26]. Aunque el efecto de los compuestos organoestánicos es ampliamente conocido en estos organismos, existen pocos estudios sobre la acumulación y las implicaciones ecotoxicológicas a lo largo de la cadena alimenticia [27]. Investigaciones realizadas en áreas costeras con gran actividad industrial y naval han demostrado la presencia de niveles de derivados butilados de estaño superiores a  $5000 \text{ ng g}^{-1}$  en cetáceos que se alimentan de peces [28]. La presencia de compuestos organoestánicos se ha

determinado en anguilas [29], marsopa, platija, bacalao, arenque [30], delfin y atún [31]. Aves acuáticas como el cormorán, pato, gaviotas e incluso cisnes [30] también han sido empleadas como bioindicadores para la monitorización de compuestos organoestánicos. Estos compuestos tienden a acumularse principalmente en hígado y riñón, mientras que aparecen en menor nivel en el tejido lipídico. Este hecho parece indicar que existe una mayor afinidad por las proteínas que por las grasas [28], y por tanto un comportamiento y distribución análoga a los derivados orgánicos de mercurio. La información en relación a la presencia de derivados fenilados de estaño en niveles superiores de la cadena trófica es aun más escasa, aunque en estudios realizados en el mar Báltico se han detectado estos compuestos en algunos peces [32] y marsopas [33].

## II.4. Muestreo pasivo

Los sistemas de muestreo pasivo han sido desarrollados en un intento de proporcionar una técnica capaz de monitorizar de forma continua los niveles de determinados contaminantes en el agua, evitando los inconvenientes derivados del uso de organismos vivos y de las técnicas de muestreo por puntos. El muestreo pasivo aplicado a aguas presenta una historia más corta que la del muestreo atmosférico, donde este tipo de metodología se aplica desde 1970 para la medida de la calidad del aire en zonas industriales. En ambos casos el principio por el que se rigen es el mismo: el flujo de moléculas desde el medio que se desea muestrear hacia un medio colector como resultado de un gradiente de concentración entre ambos [34]. El flujo se mantiene hasta que se alcanza el equilibrio o bien hasta que la sesión de muestreo es finalizada por el usuario. Las especies que se desean monitorizar, quedan atrapadas o retenidas dentro del medio colector o fase aceptora, y son posteriormente desorbidas y analizadas. Este tipo de dispositivos permiten una monitorización continua del medio circundante incluso si éstas se encuentran a nivel de trazas o ultratrazas.

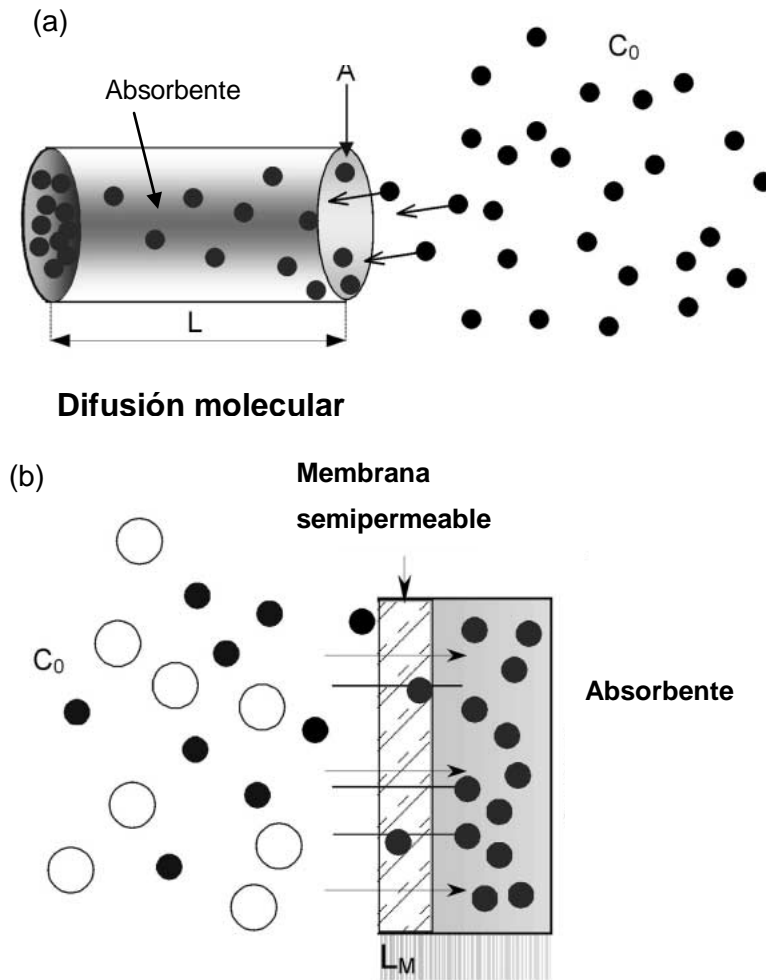
Dependiendo del diseño del muestreador, la masa acumulada puede reflejar la concentración de una especie en equilibrio con el muestreador o bien la concentración promedio de dicha especie durante el periodo de muestreo.

### *II.4.1. Muestreadores pasivos para aire*

El muestreo pasivo fue utilizado por primera vez en 1927 para la determinación semicuantitativa de CO [35], pero no fue hasta 1973 cuando se introdujeron muestreadores capaces de determinar NO<sub>2</sub> [36] y SO<sub>2</sub> [37] cuantitativamente en aire. Desde entonces se han publicado un gran número de artículos relacionados con el desarrollo de muestreadores pasivos para la monitorización atmosférica. De forma general, e independientemente de que estén basados en mecanismos de difusión o de permeación, estos muestreadores se clasifican en dos grupos según su diseño: En forma de tubo o en forma de caja o disco [34]. El mecanismo de muestreo es similar para ambos tipos de muestreadores: una vez expuestos al medio de muestreo, los analitos alcanzan el medio colector bien por difusión a través de una capa de aire

estática contenida en el muestreador, cuyo volumen se encuentra bien definido, o mediante permeación a través de una membrana porosa.

En general, los muestreadores basados en difusión presentan un diseño en forma de tubo, en el que la fase aceptora se encuentra en el interior de un tubo o capilar inertes. El espacio disponible entre el extremo del tubo y la fase aceptora presenta una longitud fija ( $L$ ) y es lo que se llena del medio muestreado.  $L$  es la distancia que debe recorrer el analito a muestrear para alcanzar la fase aceptora lo que define la velocidad de muestreo [38]. En el caso de los muestreadores en forma de caja o disco se obtienen mayores velocidades de muestreo ya que poseen una superficie de contacto mayor y una distancia de difusión más pequeña. En general estos muestreadores están basados en mecanismos de permeación, aunque también se han desarrollado muestreadores de difusión en los que se introduce una membrana microporosa para separar el medio colector del aire circundante. La *Figura 2* muestra de forma esquemática ambos tipos de muestreadores.



**Figura 2** Esquema de un muestreador de difusión en forma de tubo (a) y de un muestreador basado en permeación en forma de disco (b)

La *Tabla 9* resume las características de los muestreadores de aire comerciales que presentan un mayor número de aplicaciones prácticas .

**Tabla 9** Resumen de los muestreadores disponibles para la monitorización de aire

Nombre	Descripción	Analitos	Extracción de las especies	Tipo aire monitorizado	Ref.
PIMS	Tubo de polietileno con una disolución de HNO <sub>3</sub> 10% y Au <sup>3+</sup> (1 ppm)	Hg <sup>0</sup>	Análisis directo de la disolución de Au <sup>3+</sup>	Ambiental	[39]
Radiello	Cilindro poroso con un cartucho absorbente	BTX, VOCs, aldehidos, gases anestésicos, NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub> , HF, HCl	Desorción térmica	Ambiental, laboral, exposición personal, aire de interior	[40]
Analyst	Cilindro de vidrio con carbono activo	VOCs, NO <sub>2</sub> y semivolátiles	Extracción con disolventes	Exposición personal, aire de interior	[41-43]
ORSA-5	Tubo abierto y relleno de carbono activo	VOCs	Extracción con disolventes	Ambiental y exposición personal	[44]

Tabla 9 Continuación

<b>Nombre</b>	<b>Descripción</b>	<b>Analitos</b>	<b>Extracción de las especies</b>	<b>Tipo aire monitorizado</b>	<b>Ref.</b>
OVM	Membrana permeable con carbono activo	VOCs	Desorción térmica	Industrial, ambiental y aire de interior	[44]
PUF/POG	Tubo vidrio con capa polimérica de acetato de etileno y vinilo	PCBs, PDBE, OCP y POPs	Extracción con disolventes	Ambiental y aire de interior	[45, 46]
UMEx	Polipropileno rígido con un papel impregnado con medio específico	Aminas y formaldehído	Extracción con disolventes	Aire de interior	[47]

### ***11.4.2. Dispositivos de muestreo pasivo acuático***

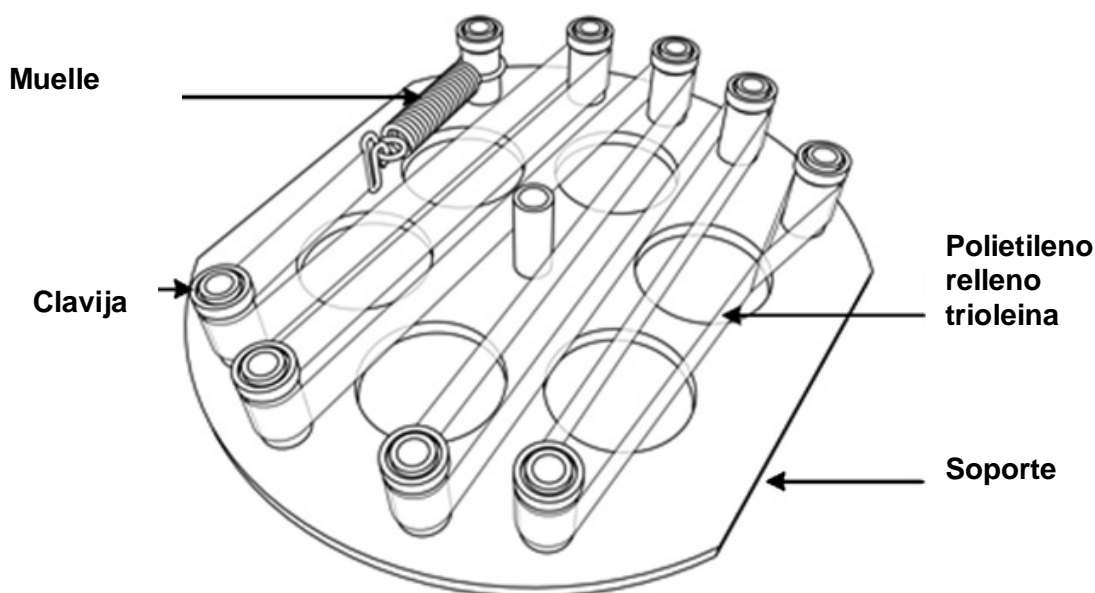
Aunque presentan una historia más corta que en el caso de la monitorización atmosférica, el número de publicaciones relacionadas con el desarrollo de muestreadores pasivos acuáticos ha aumentado entre un 30-40 % desde las dos primeras publicadas en 1987 [48], lo cual demuestra la progresiva incorporación de esta metodología dentro de las técnicas de muestreo convencionales. Los primeros dispositivos tenían como objeto la monitorización de compuestos inorgánicos disueltos presentes en aguas superficiales y en la interfase sedimento agua [49-52]. Posteriormente, Södergren desarrolló un dispositivo para la monitorización de compuestos orgánicos apolares en aguas haciendo uso de una membrana de diálisis hidrofílica rellena de hexano [48]. Este sistema, que mimetiza el proceso de bioacumulación de compuestos orgánicos apolares, constituyó la base para otros nuevos dispositivos, dando lugar a un mayor desarrollo y consolidación del muestreo pasivo para polutantes de naturaleza orgánica frente a las especies inorgánicas. En los siguientes apartados se describen los principales muestreadores pasivos aplicados con fines cuantitativos en monitorización acuática para especies orgánicas e inorgánicas separadamente. Las *Tablas 10 y 11* resumen los nombres, características y aplicaciones de los dispositivos disponibles para compuestos orgánicos e inorgánicos respectivamente.

#### ***11.4.2.1. Muestreadores pasivos para compuestos orgánicos***

*Tubos de diálisis rellenos de disolvente:* Tal como fue mencionado, en 1987 Södergren desarrolló el primer muestreador aplicado a la monitorización acuática [48]. El dispositivo consistente en un tubo de diálisis en cuyo interior se depositan 3 mL de hexano, permitía la acumulación de aquellas especies con un tamaño inferior a 1000 Da imitando así los procesos de difusión a través de la membrana celular en organismos acuáticos. Este sistema, a pesar de su sencillez y bajo coste, presenta una aplicabilidad limitada debido a la naturaleza hidrofílica de su membrana, la cual impide la difusión de compuestos muy hidrofóbicos como algunos PCBs, mientras que permite el muestreo de otras especies menos apolares como el hexaclorociclohexano y ciclofenoles [53]. Aunque no es muy utilizado en la actualidad, es digno de mención

debido a que constituyó un modelo para las siguientes generaciones de muestreadores.

*Membranas semipermeables (Semipermeable Membrane Devices, SPMDs):* Este muestreador fue desarrollado por Huckins y col. y consiste en un tubo de polietileno de baja densidad relleno con aproximadamente 1 mL de trioleína. La barrera de difusión está constituida por un material de naturaleza hidrofóbica, no poroso y que presenta unas cavidades con un tamaño de aproximadamente 1 nm. Estas características permiten una exclusión por tamaños ya que impide la acumulación de moléculas de gran tamaño así como de aquellas adsorbidas en coloides y ácidos húmicos. Tampoco son susceptibles de acumulación compuestos iónicos o metales, por lo que solo difundirá la fracción disuelta de polutantes de naturaleza hidrofóbica. La trioleína presenta una gran afinidad por aquellas especies con una constante de partición octanol-agua  $\text{Log } K_{ow} > 3$  [49]. La primera publicación al respecto apareció en 1990, desde entonces se han publicado más de 200 estudios lo que certifica el alto grado de consolidación del SPMD como el muestreador para sustancias orgánicas. Desde el 2002 se encuentra disponible una guía que detalla el manejo y aplicación del muestreador [54]. La *Figura 3* muestra el dispositivo de forma esquemática.



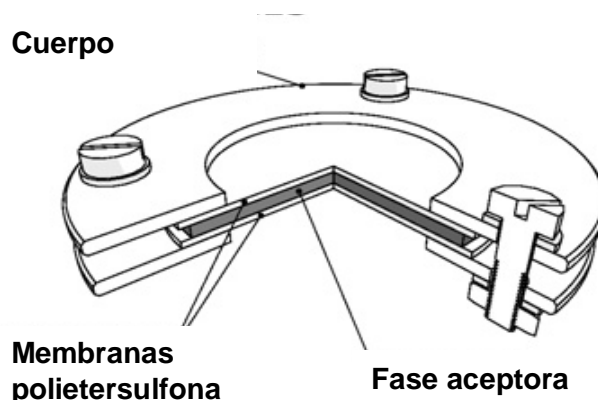
**Figura 3** Esquema del muestreador SPMD

Debido a que estos dispositivos mimetizan el proceso de bioacumulación, Følsvik y col. [55, 56] evaluaron el uso del SPMD para la monitorización de compuestos organoestánicos. Los muestreadores fueron expuestos junto a mejillones de 4 a 12 semanas en diversos puntos de la costa de Noruega y se tomaron muestras de agua para comparar los resultados. Los compuestos organoestánicos acumulados fueron extraídos con ciclohexano-diclorometano y determinados mediante GC-AES tras su derivatización con NaBEt<sub>4</sub>. Los resultados muestran una acumulación eficiente para TBT y DBT, mientras que MBT no se acumula. Para los dos compuestos muestreados se observa una buena correlación entre los niveles encontrados en el SPMD y en las muestras de mejillón y en las de agua. El muestreador permite el análisis cualitativo de TBT y DBT pudiendo establecer si existen gradientes de concentración en áreas próximas.

*Dispositivo para el muestreo integrado de compuestos orgánicos polares (Polar Organic Chemical Integrative Sampler , POCIS):* Como su nombre indica, este muestreador se aplica a la monitorización de contaminantes de naturaleza hidrofílica como pesticidas, drogas, esteroides, hormonas, antibióticos, etc. por lo que ofrece información de la fracción disuelta, y por tanto biológicamente disponible de estos compuestos. Este dispositivo desarrollado por D. A. Álvarez [57, 58], consiste en una fase aceptora sólida dispuesta entre dos membranas de difusión de poliétersulfona. La naturaleza del material colector varía en función de las propiedades fisicoquímicas del compuesto o grupo de compuestos que se deseen monitorizar, siendo dos las configuraciones más utilizadas hasta el momento:

- Una configuración genérica que contiene la mezcla de tres adsorbentes en fase sólida (Isolute ENV + poliestirenodivinilbenceno + Amborsorb 1500) y se aplica para la monitorización de pesticidas, hormonas sintéticas y otros compuestos orgánicos solubles en agua.
- La configuración aplicada a fármacos que contiene un único material adsorbente (Oasis HLB).

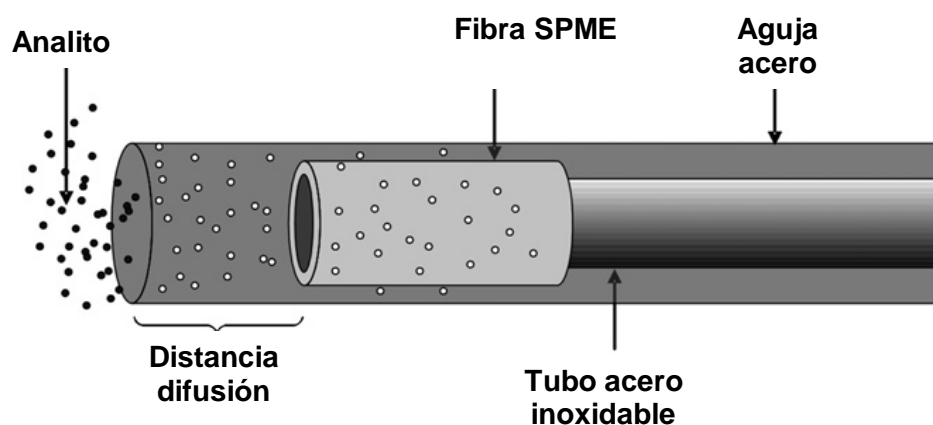
La *Figura 4* muestra el dispositivo de forma esquemática.



**Figura 4** Esquema del muestreador POCIS

La aplicación de este muestreador permitió la detección de 29 de los 46 pesticidas habitualmente monitorizados en Dinamarca [59] y la identificación de atrazina, hidroxiatracina y cafeína en el río Missouri [60]. Además, también ha sido aplicado recientemente para la monitorización de disruptores endocrinos en el río Ouse (UK) [61] y en aguas próximas a la costa griega [62].

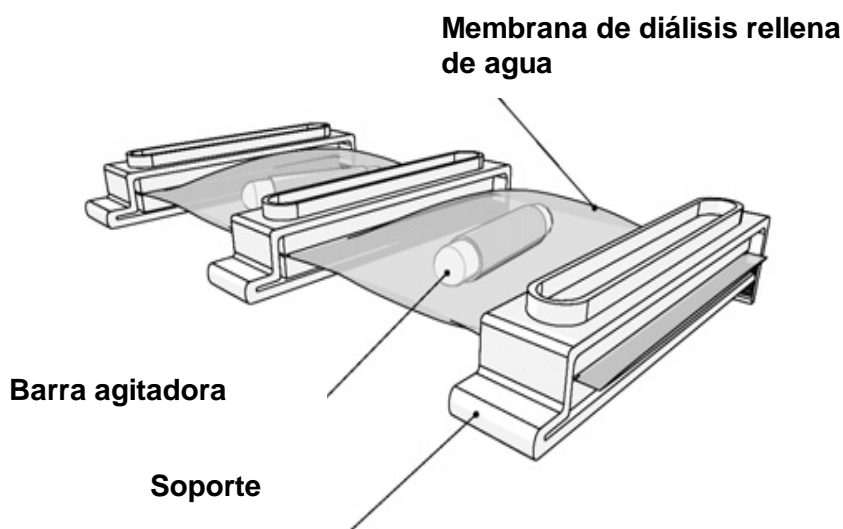
*Microextracción en fase sólida (Solid Phase Microextraction, SPME):* Esta metodología fue desarrollada por Pawlisyn y col. [63] como alternativa a los métodos de extracción líquido-líquido y en fase sólida. El medio colector consiste en una capa fina de un polímero depositada sobre una fibra de sílice. El equilibrio se alcanza tras un tiempo de exposición de la fibra, que varía desde unos minutos a media hora en función del compuesto, tras el cual las especies retenidas son desorbidas térmicamente en el propio inyector del cromatógrafo de gases en el que se va a llevar a cabo la determinación. La *Figura 5* muestra el dispositivo de forma esquemática.



**Figura 5** Esquema muestreador SPME

El muestreo se puede llevar a cabo de dos formas, directo mediante inmersión de la fibra en el medio, o bien indirecto en el que la fibra se expone en el espacio de cabeza del recipiente cerrado. Esta técnica, unida a una reacción de derivatización, ha sido ampliamente utilizada para la preconcentración y análisis tanto de mercurio como de organoestánicos.

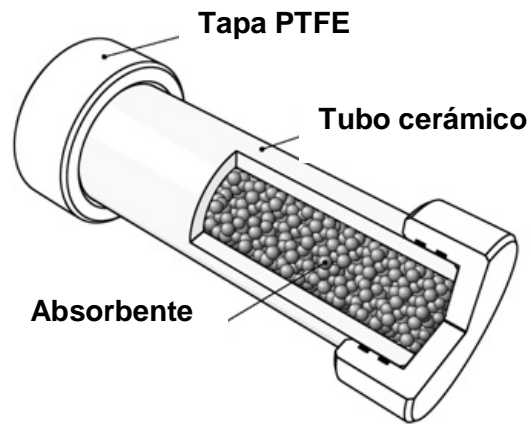
*Recubrimiento absorbente en el interior de una membrana (Membrane Enclosed Sorptive Coating, MESCO):* Este muestreador con una tecnología análoga al SPME se aplica a la monitorización de compuestos orgánicos apolares. La fase aceptora es una barra agitadora utilizada en extracción sólido-líquido (Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE)) o bien en una barra de silicona, en el interior de una membrana de celulosa regenerada [64]. El espacio entre ambas fases se rellena de aire o bien de agua. El dispositivo presenta un tamaño muy reducido, y además no es necesario el uso de disolventes para la extracción, ya que se puede llevar a cabo una desorción térmica de las especies acumuladas directamente en el cromatógrafo de gases. La *Figura 6* muestra el dispositivo de forma esquemática.



**Figura 6** Esquema del muestreador MESCO

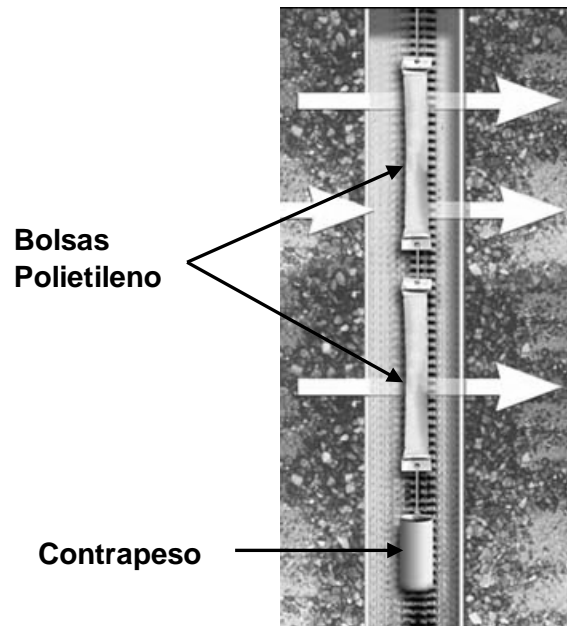
A pesar de sus reducidas dimensiones, este muestreador presenta una sensibilidad comparable a la de otros dispositivos de mayor tamaño, ya que se minimizan las pérdidas de analito pues toda la masa muestreada es determinada en el cromatógrafo de gases.

*Dosímetro cerámico:* Presenta un tubo cerámico como barrera de difusión en cuyo interior se aloja la fase aceptora que consiste en bolitas cubiertas por un material adsorbente [65]. Este muestreador se ha aplicado eficazmente a la monitorización de BTEX y naftaleno en aguas subterráneas utilizando como fase aceptora Dowex Optipore L-493 [66]. Empleando este material colector junto a teflón como barrera de difusión se consigue un muestreo eficiente durante al menos 90 días. El dosímetro también se aplica a la monitorización de PAHs utilizando Amberlita IRA-743 como fase aceptora [65]. La *Figura 7* muestra el dispositivo de forma esquemática.



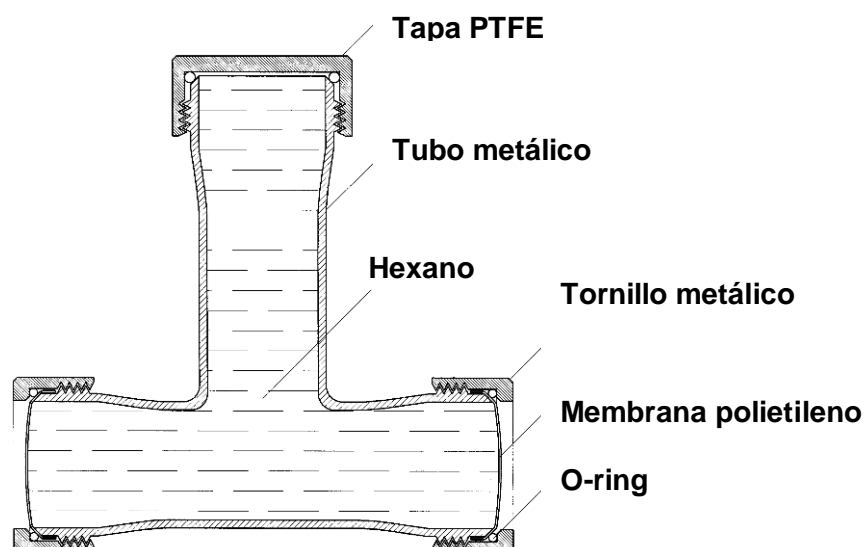
**Figura 7** Esquema del Dosímetro cerámico

*Bolsas de polietileno (Polyethylene Diffusion Bags, PDBs):* El muestreador presenta una membrana de polietileno de baja densidad sellada y en forma cilíndrica rellena con agua desionizada. Se aplica al muestreo de compuestos orgánicos volátiles (VOCs) en aguas subterráneas ya que estos compuestos difunden a través de la membrana hacia el agua desionizada hasta que se alcanza el equilibrio lo que generalmente ocurre tras dos semanas de exposición en el acuífero [67]. Los PDBs minimizan las pérdidas de los VOCs monitorizados, lo cual supone una gran ventaja con respecto a otras técnicas aplicadas al muestreo de este tipo de sustancias [68]. La *Figura 8* muestra el dispositivo de forma esquemática.



**Figura 8** Esquema del muestreador PDBs

*Muestreador pasivo de preconcentración "in situ" (Passive In Situ Concentration Extraction Sampler PISCES):* Se aplica principalmente al análisis de PCBs y consiste en un tubo de metálico en forma de T relleno de hexano y recubierto por una membrana de polietileno en los dos laterales enfrentados del tubo [69]. Es simple y de bajo coste de fabricación, pero presenta una relación área-volumen muy pequeña y pierde la fase aceptora con facilidad. La *Figura 9* muestra el dispositivo de forma esquemática.



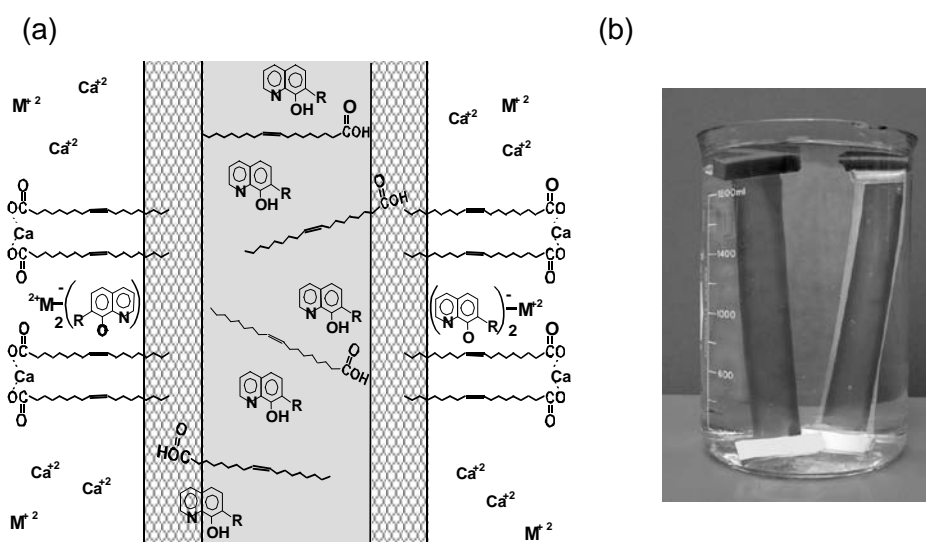
**Figura 9** Esquema del muestreador PISCES

#### 11.4.2.2. Muestreadores pasivos para compuestos inorgánicos

*Diálisis "in situ"*: Es un sistema de muestreo que consiste en una membrana de diálisis a través de la cual difunden aquellas especies con un tamaño adecuado al diámetro de poro de la membrana, las especies son retenidas por el medio colector, que para este muestreador es un pequeño volumen de agua. Este dispositivo se aplica a la especiación de metales traza. Dado que el muestreo está basado en exclusión por tamaños, aquellos metales unidos a coloides o materia orgánica no son muestreados [70].

Una alternativa al dispositivo anterior consiste en sustituir el agua por una resina quelatante con una alta afinidad por las especies a muestrear. En estas condiciones la velocidad de difusión es proporcional a la concentración de metal presente en el medio [71]. Utilizando Chelex-100 como medio colector se ha conseguido muestrear la fracción soluble de Cd, Pb y Zn mimetizando el proceso de intercambio de metales a través de la membrana celular, con una reproducibilidad mayor que la proporcionada mediante muestreo biológico utilizando mejillones [72].

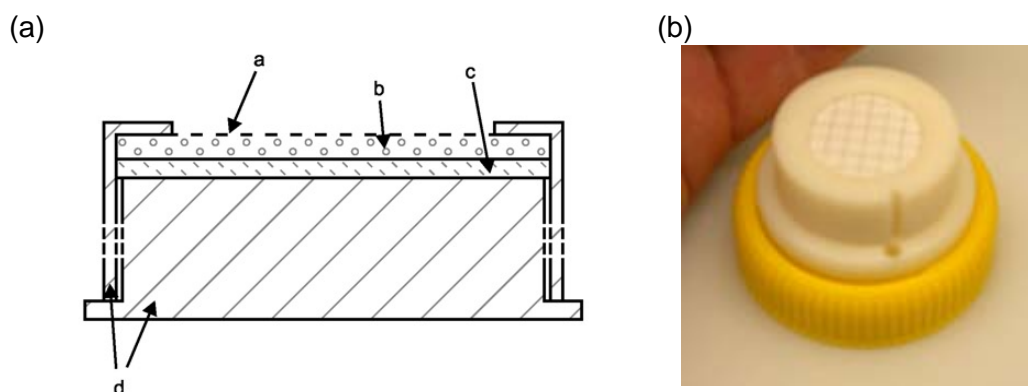
*Dispositivos de membrana líquida soportada (Supported Liquid Membrane Devices, SLMDs):* Este muestreador consiste en una mezcla insoluble en agua formada por un disolvente orgánico de cadena larga, generalmente ácido oleico, y un agente complejante capaz de formar complejos estables con las especies iónicas disueltas, inmovilizado en una membrana o bien en el interior de un tubo generalmente polietileno de baja densidad. El transporte de los iones metálicos desde el agua está basado en un gradiente de concentración, cuyo resultado es el flujo controlado de la mezcla complejante hacia la superficie de la membrana en contacto con el medio por permeación lo cual favorece la formación de quelatos con los metales disueltos. Estos quelatos presentan una elevada constante de estabilidad y una baja solubilidad en agua [73]. Este muestreador se ha aplicado a la monitorización de Cd, Co, Cu, Ni, Pb y Zn [74-76]. La *Figura 10* muestra el dispositivo de forma esquemática.



**Figura 10** Esquema del muestreador SLMD: (a) Esquema del mecanismo de acumulación, R= grupo alquílico de 8 a 12 átomos de carbono,  $Ca^{2+}$  y  $M^{2+}$  = ion metálico. (b) Imagen del muestreador.

*Gradiente de Difusión en Capa Fina (Diffusive Gradient in Thin Films, DGT):* Este dispositivo desarrollado por Davison y col. [77] consta de dos geles, uno que contiene una resina inmovilizada, y un gel de acrilamida hidratada que permite la difusión de los iones. Sobre éste último se dispone una membrana de 0.45  $\mu m$  que separa ambos geles del medio circundante. Todo el sistema se aloja en el interior de

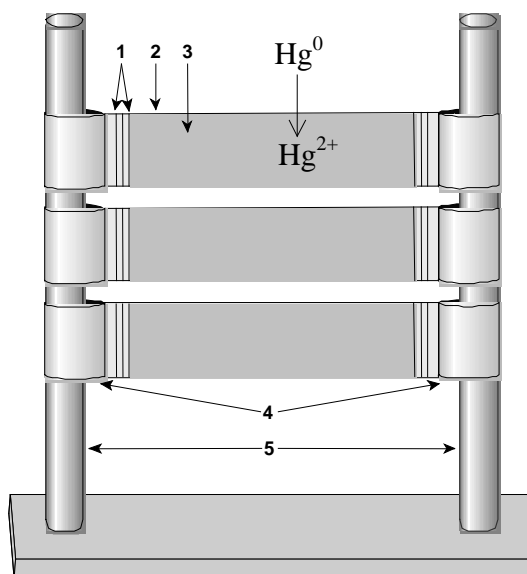
un cuerpo de plástico. El transporte se produce debido a un gradiente de concentración a través de la capa de difusión con la subsiguiente acumulación en la resina. Este muestreador se ha aplicado con éxito para la determinación de trazas metálicas en agua dulce, agua marina [78], flujos de especies metálicas en suelos [79] y sedimentos [80] e incluso en agua ocluida [81]. La *Figura 11* muestra el dispositivo de forma esquemática.



**Figura 11** (a) Esquema del muestreador DGT: a. prefiltro, b. hidrogel, c. gel que contiene el agente quelatante, d. cuerpo de plástico. (b) Imagen del DGT

La resina comúnmente aplicada es Chelex-100 cuyo agente quelatante son grupos iminoacetato lo que favorece la monitorización de metales di- y trivalentes (Cd, Cu, Fe, Ni, Zn y Mn). El empleo de otras resinas quelatantes como Spheron-Tiol junto a un gel de agarosa como medio difusor permite la aplicación del DGT al muestreo de Hg en agua [82]. Además el uso de diferentes fasesceptoras permite muestrear no sólo la fracción disuelta sino otras fracciones metálicas presentes en el medio [83].

*Muestreador pasivo de mercurio (Passive Integrative Mercury Sampler, PIMS):* Aunque este muestreador fue diseñado para el muestreo atmosférico de mercurio, se ha aplicado a la determinación de mercurio elemental disuelto en agua. El dispositivo está formado por un tubo de polietileno de baja densidad que contiene una mezcla de nítrico al 10% y  $1 \text{ mg L}^{-1}$  de una disolución de oro [39], la cual es analizada directamente mediante vapor frío sin necesidad de una etapa de extracción previa. La *Figura 12* muestra el dispositivo de forma esquemática.



**Figura 12** Esquema del muestreador PIMS: 1 sellado del tubo, 2 tubo de polietileno, 3 reactivo estabilizador dentro del tubo, 4 presilla de cuero, 5 barras de acero.

Estudios en laboratorio demuestran un muestreo eficiente en agua con un intervalo de linealidad de al menos dos semanas. Estudios en agua marina revelan una menor sensibilidad que en agua dulce debido a la formación de cloro-complejos cargados negativamente que no son permeables a la barrera de difusión de polietileno. La aplicación del PIMS en medio acuático aun requiere de una investigación en profundidad para poder diferenciar entre las especies gaseosas disueltas y otras especies neutras de mercurio.

Las *Tablas 10 y 11* resumen las características de todos los muestreadores descritos, para compuestos orgánicos e inorgánicos respectivamente, junto con otros dispositivos existentes aunque de uso menos extendido.

**Tabla 10.** Resumen de los muestreadores disponibles para la monitorización de compuestos orgánicos en el medio acuático

Nombre	Descripción	Analitos	Información	Tiempo exposición	Características	Extracción de las especies	Ref.
Membrana de diálisis rellena de disolvente	Disolvente inmisible en agua	Compuestos orgánicos hidrofóbicos	Cuantitativa	1 mes	No biofouling. Baja sensibilidad y pérdidas de la fase aceptora	Reducción de volumen de la fase aceptora	[53]
SPMD	Tubo de polietileno con trioleina	Compuestos hidrofóbicos y semivolátiles	Cuantitativa	1 mes	Comercial, datos de calibración y alta sensibilidad. Biofouling.	Diálisis con disolventes orgánicos, cromatografía de exclusión	[54,84]
POCIS	Membrana de poliétersulfona con material sólido adsorbente	Herbicidas y fármacos con $\text{LogK}_{ow} < 3$	Cuantitativa	> 2 meses	Alta sensibilidad, datos de calibración, versatilidad	Extracción con disolventes	[58-60]
SPME	Fibra con polímero líquido o un adsorbente sólido o ambos	PAHs, PCBs, , organoclorados, pesticidas, anilina, fenoles	Cuantitativa (basado en equilibrio)	Horas	Barato y fácil extracción. Baja sensibilidad. Fácil automatización.	Desorción térmica	[63]

Tabla 10 *Continuación*

Nombre	Descripción	Analitos	Información	Tiempo exposición	Características	Extracción de las especies	Ref.
MESCO	Barra agitadora de SBSE o de silicona en membrana de celulosa regenerada	PAHs, PCBs, pesticidas organoclorados	Cuantitativa	1 mes	Barato, sencillo. Datos de calibración para muchas especies. Deterioro membrana de difusión	Desorción térmica	[64]
Dosímetro cerámico	Tubo cerámico con un material adsorbente	PAHs, BTEX, hidrocarburos clorados	Cuantitativa	> 1 año	No necesita calibración, diseño robusto. Baja sensibilidad	Extracción con disolventes o desorción térmica	[65-67]
PDB	Membrana de diálisis o polietileno con agua destilada	Compuestos orgánicos polares, VOCs, metales y trazas	Cuantitativa (aplicado en acuíferos)	2 semanas	Bajo coste y extracción rápida. No válido para semivolátiles	Análisis convencional de la fase aceptora	[67, 68]
PISCES	Hexano en membrana de polietileno	PCB	Cuantitativa	2 semanas	Barato, sencillo. Baja sensibilidad.	Reducción de volumen de la fase aceptora	[69]

Tabla 10 *Continuación*

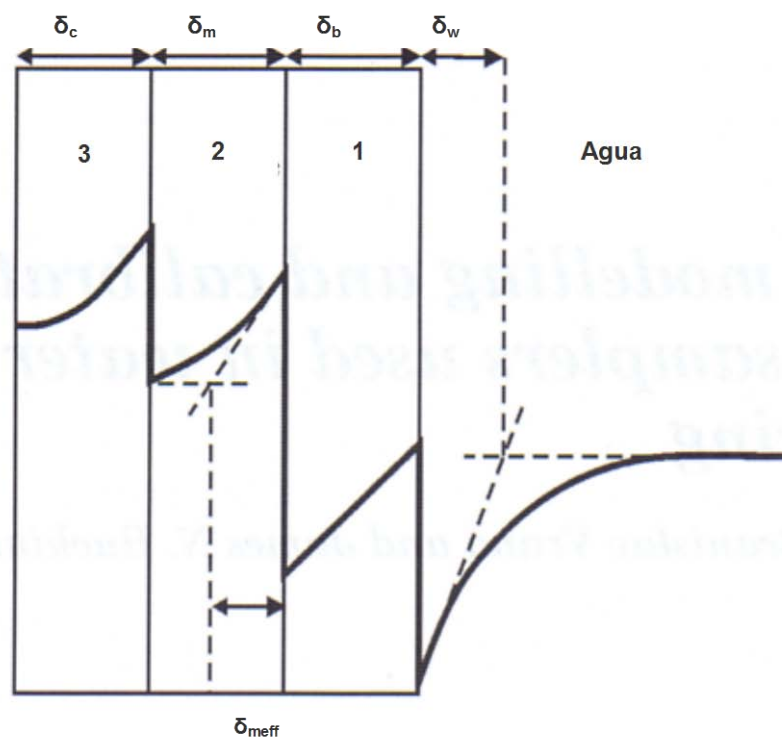
Nombre	Descripción	Analitos	Información	Tiempo exposición	Características	Extracción de las especies	Ref.
Dosímetro	Carbono activo en cuerpo acrílico	BTEX y atracina	Cuantitativa	> 2 meses	No necesita calibración, diseño robusto. Baja sensibilidad y selectividad	Extracción con disolventes	[85]
SPATT	Resina sintética en el interior de sobre de poliéster	Fitotoxinas polares	Cuantitativa	1 semana	Selectivo, minimiza efecto matriz e incertidumbres del análisis de toxinas	Extracción con disolventes	[86]
Gaiasafe	Papel con un agente secuestrante	Compuestos orgánicos, metales y aniones	Screening	2 días a 2 meses	Sencillo, aplicado a la purificación del agua	Extracción con disolventes	[87]
TRIMPS	2,2,3-trimetilpentano en una membrana de polietileno	Pesticidas	Cuantitativa	1 mes	Fácil limpieza y análisis. Inconveniente: fase aceptora difunde	Análisis de la fase aceptora	[88]

**Tabla 11** Resumen de los muestreadores disponibles para la monitorización de compuestos inorgánicos en el medio acuático

Nombre	Descripción	Analitos	Información	Tiempo exposición	Características	Extracción de las especies	Ref.
Diálisis "in situ"	Membrana diálisis con resina quelatante	Cd, Pb y Zn	Cuantitativa	21 días	Basado en equilibrio. Alta preconcentración. Respuesta a fluctuaciones ambientales.	Extracción en medio ácido	[71-72]
SLMD	Agente complejante y membrana hidrofílica	Cationes divalentes	Cuantitativa, preconcentración de metales traza	Días	Versátil, selectividad	Análisis directo	[73-76]
PLMD	Soporte hidrofóbico y medio aceptor	Cu, Pb	Fracción metálica biodisponible	Horas	Selectividad combinando materiales aceptores. Difícil preparación	Extracción con disolventes	[75, 76]
DGT	Dos capas de acrilamida, una contiene al aceptor y otra membrana de difusión	Metales pesados (Hg, Cd, Cu, Zn), radiactivos, P y S	Cuantitativa, especiación, cualitativa	1 semana	Versátil y bien documentado. Difícil preparación	Extracción en medio ácido	[77-83]
PIMS	Tubo de polietileno con HNO <sub>3</sub> 10%+Au <sup>3+</sup> 1ppm	Mercurio elemental	Preconcentración, cualitativa	Semanas-meses	Alteración de la membrana.	Análisis directo de la membrana aceptor	[39]
Membrana Líquida	Tubo polietileno con disolución ácida	Metales divalentes	Preconcentración, muestreo in situ, fracción lábil	Días-semanas	-	Extracción en medio ácido	[74]

## II.5. Aspectos cinéticos y termodinámicos del muestreo

La fuerza motriz responsable de la acumulación en un sistema de muestreo pasivo es la diferencia de afinidad de las especies que se van a monitorizar entre el medio acuático y la fase aceptora seleccionada. Por lo tanto, el muestreo se puede describir en términos de distribución controlada entre dos compartimentos: la fase colectora del muestreador y el medio externo. A lo largo de este proceso de partición el analito se encuentra con una serie de barreras (capa de agua estacionaria en torno al muestreador, película de crecimiento biológico, membrana de difusión e interfase membrana de difusión-fase aceptora) a través de las cuales debe difundir e interactuar hasta alcanzar la fase colectora. La *Figura 13* muestra el perfil de concentración del analito en las diferentes barreras.



1 Biofilm, 2 Membrana de difusión, 3 Membrana aceptora

**Figura 13** Representación esquemática del perfil de concentración de un analito en las diferentes barreras de un muestreador pasivo incluyendo una película de crecimiento biológico.

Este mecanismo general varía en función del muestreador. Por este motivo se han desarrollado una gran variedad de modelos para explicar la cinética del muestreo sin los cuales no se podría relacionar la cantidad de contaminante acumulada con su concentración ambiental. En este caso se va a hacer uso del modelo desarrollado por Huckins y col. [89] para los muestreadores SMPDs rellenos de trioleina, ya que los conceptos e hipótesis establecidas para su desarrollo son extrapolables a otros dispositivos entre los que se encuentra el muestreador objeto de la presente tesis (Chemcatcher).

El flujo de masa ( $j_i$ ) de una sustancia a través de una fase (i) es directamente proporcional a la diferencia de concentración ( $\Delta C_i$ ) entre el inicio y el final de dicha fase a través del coeficiente de transferencia de masa ( $\kappa_i$ ):

$$j_i = \kappa_i \Delta C_i \quad (1)$$

En este modelo se asume que el flujo a ambos lados de la membrana es idéntico, que existen equilibrios de absorción y/o adsorción locales en las interfases y que la relación entre las concentraciones en la trioleina y en la membrana es próxima al coeficiente de partición trioleina-membrana. Con estas premisas, la ecuación diferencial que gobierna la transferencia de masa se puede expresar como:

$$\frac{dC_s}{dt} = \frac{A \kappa_0}{V_s} \left( \frac{C_s - C_w}{K_{sw}} \right) \quad (2)$$

donde  $C_s$  y  $C_w$  son las concentraciones de analito en el muestreador y en el agua respectivamente,  $V_s$  es el volumen del muestreador,  $\kappa_0$  el coeficiente global de transferencia de masa,  $A$  su superficie y  $K_{sw}$  el coeficiente de partición muestreador-agua.  $K_{sw}$  viene dado por el coeficiente de partición trioleina –agua ( $K_{lw}$ ) y membrana-agua ( $K_{mw}$ ) relativos al volumen de cada fase ( $V_l$  y  $V_m$ ):

$$K_{sw} = \frac{V_m K_{mw} + V_l K_{lw}}{V_m + V_l} \quad (3)$$

El coeficiente global de transferencia de masa,  $\kappa_0$  viene dado por:

$$\frac{1}{\kappa_0} = \frac{1}{\kappa_w} + \frac{1}{\kappa_b K_{bw}} + \frac{1}{\kappa_m K_{mw}} \quad (4)$$

donde  $\kappa_w$ ,  $\kappa_b$ ,  $\kappa_m$  son los coeficientes de transferencia de masa para la capa de agua estacionaria en torno al muestreador, la posible película de crecimiento biológico y la membrana, y  $K_{bw}$  y  $K_{mw}$  son los coeficientes de partición película biológica-agua y membrana-agua respectivamente. La ecuación (4) presenta la resistencia global de transferencia de masa como suma de la resistencia en cada fase. Si se tiene en cuenta que el coeficiente de transferencia de masa es la relación entre el coeficiente de difusión ( $D$ ) y el espesor de la fase ( $\delta$ ), la ecuación (4) se puede escribir como:

$$\frac{1}{\kappa_o} = \frac{\delta_w}{D_w} + \frac{\delta_b}{D_b K_{bw}} + \frac{\delta_m}{D_m K_{mw}} \quad (5)$$

La solución general para la ecuación (2) si la concentración en el agua ( $C_w$ ) es constante es :

$$C_s = K_{sw} C_w [1 - \exp(-\kappa_e t)] + C_o \exp(-\kappa_e t) \quad (6)$$

Donde  $C_o$  es la concentración a  $t = 0$  y  $\kappa_e$  es la constante de disipación de la especie acumulada la cual viene dada por:

$$\kappa_e = \frac{\kappa_o A}{K_{sw} V_s} = \frac{R_s}{K_{sw} V_s} \quad (7)$$

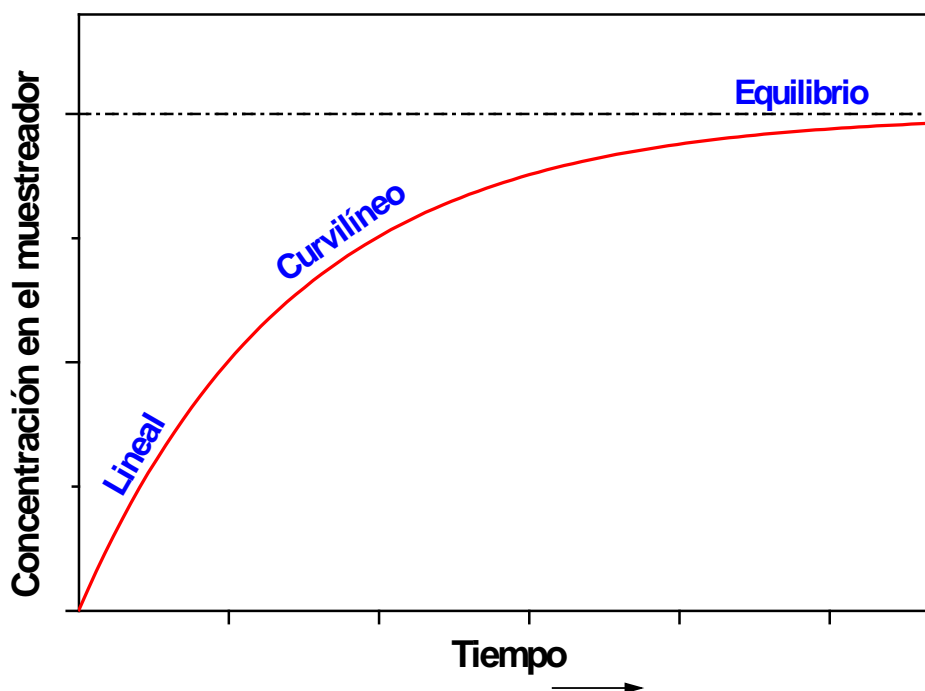
en la que el numerador es la velocidad aparente de muestreo  $R_s$  que representa el volumen de agua extraído por unidad de tiempo. Este parámetro es proporcional a la superficie del muestreador.

Si  $C_o = 0$  la ecuación (6) toma la forma:

$$C_s = K_{sw} C_w \left[ 1 - \exp\left(\frac{-R_s t}{K_{sw} V_s}\right) \right] \quad (8)$$

La representación de la ecuación (8) muestra el perfil de acumulación reflejado en la *Figura 14*, en el que se pueden definir tres posibles estados durante el proceso de muestreo [84]. El primero en el que la masa acumulada en el muestreador aumenta linealmente con el tiempo, posteriormente se pierde esta linealidad, hasta alcanzar una meseta que define el estado de equilibrio. La información obtenida varía dependiendo de la región de la curva de muestreo en que nos halleemos. Generalmente se utilizan la

zona lineal o el estado de equilibrio para la cuantificación de las especies que se monitorizan.



**Figura 14** Perfil de acumulación de un muestreador pasivo en función del tiempo.

Cuando el tiempo de exposición del muestreador es lo suficientemente largo para alcanzar el equilibrio termodinámico entre el medio y la fase aceptora, el término entre corchetes es 1 y por tanto la ecuación (8) se reduce a:

$$C_s \approx K_{sw}C_w \quad (9)$$

La estimación de  $K_{sw}$  mediante estudios de laboratorio permite la determinación de la concentración del contaminante presente en el medio muestreado. Para poder aplicar este modelo, se debe alcanzar una concentración estable tras un tiempo de respuesta conocido. Además, el tiempo de respuesta debe ser inferior a cualquier fluctuación producida en el medio circundante. Por tanto, esta clase de muestreadores no proporciona información sobre las posibles fluctuaciones en la concentración del analito, por lo que esta aproximación al estado estacionario es más adecuada en aquellas situaciones en las que la variación temporal en la concentración del analito es muy pequeña. Algunos ejemplos de muestreadores basados en el equilibrio son las fibras de microextracción en fase sólida (SPME) [63] y los PDBSs (Pasive Difusión Bag

Samplers) muy utilizados para la monitorización de compuestos orgánicos volátiles (VOCs) en agua [90].

Cuando el tiempo de exposición del muestreador es corto, la concentración en el muestreador es mucho menor que el valor que se obtiene cuando alcanza el equilibrio ( $C_s \ll K_{sw}C_w$ ) y la ecuación (8) se simplifica en:

$$C_s = \frac{R_s C_w t}{V_s} \quad (10)$$

Reajustando la ecuación (10), la masa de analito en la fase aceptora se relaciona con la concentración del mismo en el medio acuoso mediante la ecuación:

$$M_s = R_s C_w t \quad (11)$$

Si  $C_w$  es constante con el tiempo se denomina fase de acumulación lineal, dado que la masa acumulada aumenta linealmente con el tiempo. En el caso en el que  $C_w$  cambie con el tiempo el muestreo se denomina muestreo integrado con el tiempo (Time Integrative), la masa acumulada es proporcional a la concentración acuosa promediada respecto al tiempo (TWA, Time-Weighted Average) [52].

La velocidad de muestreo efectiva ( $R_s$ ) puede ser determinada experimentalmente mediante la calibración del muestreador en condiciones controladas y a una concentración constante de analito. Conocida esta constante, la estimación de  $C_w$  en el medio de muestreo se lleva a cabo a partir de la masa de analito acumulada ( $M_s$ ) y del tiempo de exposición. Para la mayoría de los muestreadores que operan en el modelo cinético, la velocidad de muestreo no depende de la concentración presente en el agua, pero su valor se ve afectado por las condiciones ambientales (temperatura, turbulencia y crecimiento biológico).

### ***11.5.1. Calibración del muestreador***

La utilización de un muestreador con fines semi- y cuantitativos depende del estudio de sus parámetros cinéticos: la velocidad de muestreo y de la constante de disipación. Teóricamente, estos parámetros que caracterizan la velocidad de muestreo para una

especie determinada, pueden ser estimados mediante correlaciones semi-empíricas entre los coeficientes de transferencia de masa, las propiedades físico-químicas de las especies y las características hidrodinámicas [91]. Sin embargo, es difícil aplicar este modelo debido a la complejidad del flujo acuático en torno al muestreador, aunque existen datos bibliográficos que permiten conocer la constante de distribución característica para diversas sustancias y fases receptoras. En la práctica, la determinación de los parámetros cinéticos que caracterizan el muestreo se lleva a cabo mediante la calibración del dispositivo bajo condiciones de concentración controlada [92, 93]. Sin embargo, la cinética del muestreo no solo depende de las características físico-químicas de las especies que difunden hacia el muestreador, sino que depende del diseño del muestreador y de las condiciones medioambientales, fundamentalmente temperatura y turbulencia del agua, así como del crecimiento biológico sobre la superficie del muestreador [94]. Por consiguiente, todos estos factores deben ser contemplados al diseñar los experimentos de calibración con el fin de obtener una caracterización completa del dispositivo.

Existen tres diseños para llevar a cabo la calibración:

- Diseño estático, en él los muestreadores se exponen en un determinado volumen de agua contaminada. Es el método utilizado para la determinación de los factores de bioacumulación, y en el caso del muestreo pasivo, se ha aplicado a la calibración de SPMDs y en SPME. En este tipo de diseño, la acumulación del analito en el muestreador depende, entre otros factores, del volumen de agua. Este hecho, unido a que la concentración en el agua decrece con el tiempo, mientras que se incrementa en el muestreador, hace que el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio sea muy bajo contrariamente a lo que sucede en condiciones reales.
- Diseño estático con renovación de la concentración de analito, que se aplica cuando en el modelo estático la disminución de la concentración en el agua es muy rápida, o bien cuando es difícil mantener la concentración constante en un dispositivo de flujo. En este diseño la concentración del agua se mide, al menos, al inicio y al fin de la renovación. Las curvas de acumulación se llevan a cabo cuando las cantidades de analito eliminadas del agua sean debidas solo a la absorción del muestreador.
- Diseño de flujo, en él se asegura una concentración aproximadamente constante en el agua debido al aporte continuo de una disolución de analito/s y

agua al medio de exposición, con una velocidad de renovación del agua superior a la velocidad de muestreo de todos los muestreadores sumergidos. Para evitar el efecto de la absorción por parte de los componentes del sistema sobre la concentración del agua, el dispositivo de calibración se deja equilibrar con el agua antes de introducir los muestreadores. Cuando se mantiene una concentración constante a lo largo del periodo de calibración, la velocidad de muestreo y el coeficiente de partición muestreador-agua se obtienen mediante la ecuación (8).

### ***11.5.2. Factores que afectan al muestreo***

En general, el factor que limita el intercambio de masa entre el agua y el muestreador es el paso desde el medio a la fase aceptora a través de la barrera de difusión, o bien a través de la interfase entre la masa acuática y la membrana de difusión. Por tanto, cualquier parámetro que afecte al espesor de la interfase agua-membrana o bien a la propia membrana de difusión produce un efecto significativo en la cinética del muestreador.

El diseño del muestreador también juega un papel muy importante en la cinética de muestreo. Para obtener una información cuantitativa, el sistema debe poseer un área y espesor de difusión constantes, no se deben producir fenómenos de convección a lo largo de la barrera de difusión y además la concentración sobre la superficie de la membrana aceptora debe ser nula para lo cual se debe seleccionar un material con una elevada afinidad por la/s especie/s a monitorizar. En relación a la membrana de difusión, existen una amplia variedad de materiales con diferente espesor, tamaño de poro y polaridad. Ésta última presenta una gran influencia en la cinética del muestreador, ya que se debe seleccionar un material capaz de actuar como barrera controlando la velocidad de muestreo, y por otra parte debe permitir una rápida difusión de las especies que favorezca una rápida respuesta del muestreador frente a fluctuaciones en el medio. Por ejemplo, una sustancia orgánica de naturaleza polar presenta una acumulación nula en un muestreador que presente una membrana de difusión polimérica de naturaleza apolar [95], por el contrario una especie apolar difundirá más rápidamente a través de una membrana de este tipo. Por tanto se debe seleccionar un material que presente una cierta afinidad por la/s especie/s para reducir la resistencia a la transferencia de masa, aunque el control de la velocidad de muestreo se invierte hacia la capa estacionaria de agua en torno a la membrana de

difusión y por tanto aumenta el efecto de las variables hidrodinámicas. Además de la naturaleza de las membranas aceptora y de difusión, y tal como fue mencionado anteriormente, el tamaño y los materiales empleados para la construcción del muestreador juegan un papel fundamental en su sensibilidad.

En cuanto a los factores ambientales que afectan al muestreo, generalmente un incremento de la temperatura produce un aumento en la velocidad de muestreo, lo cual podría ser una consecuencia de una disminución de la viscosidad del agua contenida en los poros de la membrana de difusión, favoreciendo el transporte de las especies hacia la membrana aceptora [96]. En cuanto a la turbulencia, fluctuaciones en la velocidad lineal del agua afectan de forma directa al espesor de la interfase agua-barrera de difusión lo cual influye en la transferencia de masa de los analitos. Para velocidades de flujo en torno a  $30 \text{ cm s}^{-1}$  o inferiores, la cinética de intercambio para especies con un valor de  $\text{Log } K_{ow} > 4$  se encuentra gobernada por la velocidad de difusión a través de la capa de agua estática comprendida entre el medio y el muestreador [97], triplicándose o incluso cuatriplicando la transferencia de masa cuando la velocidad de flujo aumenta 1000 veces ( $0.03\text{-}30 \text{ cm s}^{-1}$ ). Experimentos realizados por Huckins y col. [54] para SPMDs muestran un incremento del 50 % en la velocidad del muestreo al pasar de  $0.03$  a  $0.2 \text{ cm s}^{-1}$ .

Por último, otro de los factores que más influyen en la cinética de muestreo es la colonización producida por bacterias junto a la flora y fauna característica del medio. Este fenómeno crea una capa de material biológico que altera las propiedades de la membrana de difusión incrementando su grosor y bloqueando sus poros, lo que ralentiza el movimiento de las especies hacia la fase aceptora. Para PAHs, Huckins y col. [98] hallaron una reducción en la acumulación entre el 30-70% para SPMDs recubiertos con materia biológica tras una exposición de 1 a 4 semanas, con respecto a la ausencia de este recubrimiento sobre la membrana de polietileno. El grado de colonización de la membrana de difusión depende de las características del ecosistema acuático, del tiempo de exposición del muestreador y de la elección del material utilizado como membrana de difusión. Existen materiales más propensos al crecimiento biológico como el polietileno de baja densidad, o bien más inertes como la poliétersulfona [99]. Hasta el momento los intentos de inhibir el crecimiento biológico mediante la aplicación de agentes protectores de la membrana de difusión, como el nafión, recubrimientos basados en derivados de silicona, polímeros fluorados, resinas

epoxi, así como otros polímeros tanto naturales como sintéticos, no han resultado satisfactorios [100, 101]. Algunos autores sugieren que con el cálculo de las velocidades de muestreo *in situ* mediante el uso de PRCs (Performance Reference Compounds) se consigue compensar el efecto del crecimiento biológico [98, 102].

Dentro de los factores ambientales mencionados, el efecto de la temperatura sobre la velocidad de muestreo es el que se puede corregir con más facilidad debido a que se puede controlar a lo largo del período de exposición del muestreador. No es así de sencillo para turbulencia y crecimiento biológico dado que no pueden ser medidos *in situ* de forma sencilla. Por ello, se han realizado numerosos esfuerzos para desarrollar un método capaz de compensar el efecto de ambas variables sobre los parámetros cinéticos resultantes del proceso de calibración del dispositivo. Entre las investigaciones realizadas, cabe destacar la propuesta de Booij y col. [97, 98] en la que se estima la velocidad de muestreo bajo condiciones de laboratorio y ambientales a través de la cinética de disipación de un conjunto de compuestos PRCs añadidos en cantidad conocida al muestreador antes de su utilización. Los PRCs actúan de forma análoga a un patrón interno cromatográfico, por tanto son especies que no se encuentran en el medio y que presentan propiedades físico-químicas análogas a las especies que se monitorizan. Este hecho, constituye el fundamento del método desarrollado, ya que se considera un intercambio de masa isotrópico donde su desorción desde la fase aceptora al medio se verá afectada por las variables ambientales en la misma extensión que la acumulación de los polutantes estudiados.

Considerando la ecuación (6):

$$C_s = K_{sw}C_w[1 - \exp(-\kappa et)] + C_o \exp(-\kappa et)$$

Para la disipación de un PRC cuya concentración en el medio es 0 ( $C_w = 0$ ) la ecuación anterior se reduce a:

$$C_s = C_o \exp(-\kappa et) \quad (12)$$

donde  $C_o$  es la cantidad de PRC adicionada al muestreador y  $\kappa e$  su constante de disipación. La determinación de la cinética de intercambio del PRC desde el muestreador al agua puede ser relacionada con la velocidad de muestreo a través de la ecuación (7):

$$\kappa_e = \frac{R_s}{K_{sw}V_s}$$

siendo  $K_{sw}$  el coeficiente de partición muestreador-agua y  $V_s$  el volumen del muestreador. La cinética de intercambio del PRC puede utilizarse en situaciones reales para compensar el efecto de las variables medioambientales siempre que la velocidad de disipación del PRC sea lo suficientemente grande como para cuantificar la variación en su concentración al inicio y al final de la exposición, y que sea directamente proporcional a la velocidad de acumulación de la especie monitorizada (intercambio isotrópico). Aplicando este principio se puede calcular la velocidad de muestreo *in situ* a través de la cantidad de PRC disipada durante el muestreo. Además, el alto desarrollo y uso de la espectrometría de masas en la mayoría de los laboratorios permite el uso del marcaje isotópico de los elementos monitorizados como PRCs [103].

Este método tiene una limitación, ya que hasta el momento solamente es aplicable para aquellos compuestos con Log Kow entre 4.5-6, ya que éstos poseen una velocidad de disipación adecuada [52]. Aunque se ha intentado extrapolar esta metodología a un mayor intervalo de Log Kow utilizando modelos matemáticos, aun no existen publicaciones que soporten dichos modelos. En el caso de muestreadores aplicados a los compuestos hidrofílicos, como el POCIS que se utiliza para la monitorización de compuestos orgánicos polares con  $\text{Log } K_{ow} \leq 3$  [52], no se produce un intercambio isotrópico entre la absorción y la disipación debido a una diferencia entre los mecanismos de retención de los compuestos en la fase aceptora con respecto a los que tienen lugar para compuestos hidrofóbicos.

## II.6. Bibliografía

- [1] P. Quevauviller, O.F.X. Donard, Ensuring quality in long term environmental monitoring for chemical speciation. *J. Environ. Monit.*, 1 (1999) 503.
- [2] H. Emons. Sampling: Collection. Storage. R. Cornelis (Ed.). *Hand book of Elemental Speciation. Techniques and Methodology*. John Willey & Sons, 2003.
- [3] D. Barceló. Environmental Protection Agency and other methods for the determination of priority pesticides and their transformation products in water. *J. of Chrom.*, 643 (1993) 117.
- [4] W.A. House. Sampling techniques for organic substances in surface waters. *Intern. J. of Environ. and Anal. Chem.*, 57 (1994) 207.
- [5] <http://www.aqualarm.nl>.
- [6] R.M. Mullis, D.M. Revitt, R.B. Shutes. The impact of urban discharges on the hydrology and water quality of an urban watercourse. *Sci. Total Environ.*, 385 (1996) 189.
- [7] J.J. Sansalone, S.G. Buchberger. Partitioning and first flush of metals in urban roadway storm water. *J. Environ Eng.*, 123 (1997) 134.
- [8] K. Wrobel, S. Kannamkumarath, K. wrobel, J.A. Caurso. Environmentally friendly treatment for speciation analysis by hyphenated techniques. *Green Chem.*, 5 (2003) 250.
- [9] D.D. Copeland, M. Facer, R. Newton, P.J. Walker. Use of poly(ethylene terephthalate) plastic bottles for the sampling, transportation and storage of potable water prior to mercury determination. *The Analyst*, 121 (1996) 173.
- [10] P.S. Fadini, W.F. Jardim. Storage of Water Samples for total and reactive mercury analysis in PET bottles. *The Analyst*, 125 (2000) 549.
- [11] C. Bacon-Montigny, C. Lespes, M. Potin-Gautier. Optimisation and storage of natural freshwaters before organotin speciation. *Wat. Res.*, 35 (2001) 224.
- [12] H. Emteborg, D.C. Baxter, M. Sharp, W. Frech. Evaluation. Mechanism and application of solid-phase extraction using a dithiocarbamate resin for the sampling and determination of mercury species in humic-rich natural waters. *The Analyst*, 120 (1995) 69.
- [13] M. Johansson, H. Emteborg, B. Glad, F. Reinholdsson, D.C. Baxter. Preliminary appraisal of a novel sampling and storage technique for the speciation analysis of lead and mercury in seawater. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 351 (1995) 461.

- [14] J.L. Ariza, E. Morales, I. Giraldes, D. Sánchez-rodas, A. Velasco. Sample treatment in chromatography-based speciation of organometallic pollutants. *J. Chromatogr., A* 938 (2001) 211.
- [15] T.S. Galloway, R.J. Brown, M.A. Browne, A. Dissanayake, D. Lowe, M.B. Jones, M.H. Depledge. A multibiomarker approach to environmental assessment. *Environ. Ssci. Technol.*, 38 (2004) 1723.
- [16] B.M. Sanders, in: J. Mc-Carthy, L. Shugart (Eds.). *Biomarkers of Environmental Contamination*. Lewis Publisher, Boca Rato, 1990, p. 164.
- [17] P. Irato, G. Santovito, A. Cassini, E. Piccini, V. Albergoni. Metal accumulation and binding protein induction in *Mytilus galloprovincialis*, *Scapharca inaequivalvis* and *Tapes philippinarum* from the Lagoon of Venice. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 44 (2003) 476.
- [18] M.P. Cjaraville, M.J. Bebiano, J. Blasco, C. Porte, C. Sarasquetec, A. Viarengo. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. *Sci. Total Environ.*, 247 (2000) 295.
- [19] C.L. Alzieu, J. Sanjuán, J.P. Deltreil, M. Morel. Tin contamination in Arcachon Bay: effect on oyster shell anomalies. *Mar. Poll. Bull.*, 17 (1989) 494.
- [20] W.C. Kock, K.J.M. Kramer. Active Biomonitoring (ABM) by translocation of bvalve mollucs. K.J.M. Kramer (Ed.). *Biomonitoring of Coastal Waters and Stuarines*. CRC Press, Inc. Boca Raton, 1994.
- [21] J. Burger, K.F. Gaines, C.S. Boring, W.L. Stephens, J. Snodgrass, M. Gochfeld. Mercury and selenium in fish from the Savannah river: Species, trophic level and locational differences. *Environ. Res. Section A*, 87 (2001) 108.
- [22] V. Besada, J. Fumega, A. Vaamonde. Temporal trends of Cd, Cu, Hg, Pb and Zn in mussel (*Mytilus gallopron incialis*) from the Spanish North-Atlantic coast 1991-1999. *The Sci. of the Total Environ.*, 288 (2002) 239.
- [23] S. Kahle, P.H. Becker. Bird blood as bioindicator for mercury in the environment. *Chemosphere*, 39 (14) (1999) 2451.
- [24] W.C. Ma, S. Talmage. Insectivora. In: Shore, R.F., Rattner, B.A. (Eds.), *Ecotoxicology of Wild Mammals*. Ecological & Environmental Toxicology Series (2001). JohnWiley and Sons Ltd, New York, pp. 123e158 (Chapter 4).
- [25] A. Sánchez-Chardi, M.J. López-Fuster, J. Nadal. Bioaccumulation of lead, mercury, and cadmium in the greater white-toothed shrew, *Crocidura russula*, from the Ebro Delta (NE Spain): Sex- and age-dependent variation. *Environ. Poll.*, 145 (2007) 7.

- [26] P.E. Gibbs, G.W. Bryan. Reproductive failure in population of the dogwhelk, *Nucella lapillus*, caused by imposex induced by tributyltin from antifouling paints. J. Mar. Biol. Ass., 66 (1986) 767.
- [27] P. Lepper. Towards the derivation of quality standards in the context of the Water Framework Directive. Preparatory work for the European Commission. Report from the Fraunhofer-Institute Molecular Biology and Applied Ecology. 04 September 2002; pp. 124.
- [28] S. Tanabe. Butyltin contamination in marine mammals- a review. Mar Poll. Bull., 39 (1999) 62.
- [29] J.A. Ståb, T.P. Traas, G. Stroomberg, J. van Kesteren, P. Leonards, B. van Hattum, U.A.T. Brinkman, W.P. Cofino. Determination of organotin compounds in the food-web of a shallow freshwater lake in the Netherlands. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 31(1996) 319.
- [30] J. Strand, J.A. Jacobsen. Accumulation and trophic transfer of organotins in a marine food web from the Danish coastal waters. Sci. of the Total Environ., 350 (2005) 72.
- [31] K. Kannan, R.F. Lee. Triphenyltin and its degradation products in foliage and soils from sprayed pecan orchards and in fish from adjacent ponds. Environ. Toxicol. Chem., 15 (1996) 1492.
- [32] A. Albalat, J. Potrikus, J. Pempkowiak, C. Porte. Assessment of organotin pollution along the Polish coast (Baltic sea) by using mussels and fish as sentinel organisms. Chemosphere, 47(2) (2002) 165.
- [33] K. Kannan, J. Falandysz. Butyltin residues in sediment, fish, fish-eating birds, harbour porpoise and human tissue from the Polish coast of the Baltic Sea. Mar. Pollut. Bull., 34(3) (1997) 203.
- [34] T. Górecki, J. Namiésnik. Passive sampling. Trends in Anal.Chem., 21(4) (2002) 276-291.
- [35] C.S. Gordon, J.T. Lowe. US Patent 1.644.04, 1927.
- [36] E.D. Palmes, A.F. Gunnison. Personal sampler for nitrogen dioxide. Am. Ind. Hyg. Assoc. J., 34 (1973) 78.
- [37] K.D. Reiszner, P.W. West. Environ. Collection and determination of sulfur dioxide incorporating permeation and West-Gaeke procedure. Sci. Technol., 7 (1973) 526.
- [38] G. Bertoni, S. Canepari, M. Rotari, C. Perrino, R. Fratarcangeli, A.J. Liberti. Evaluation tests, and applications of a double layer tube type passive sampler. J. of Chrom., 522 (1990) 285.

- [39] W.C. Brumbaugh, J.D. Petty, T.W. May, J.N. Huckins. A passive integrative sampler for mercury vapor in air and neutral mercury species in water. *Chemosphere Global Change Science*, 2 (2000) 1.
- [40] V. Cocheo, C. Boaretto, P. Sacco. High uptake radial diffusive sampler suitable for both solvent and thermal desorption. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 57 (1996) 897.
- [41] G. Bertoni, R. Tappa, I. Allegrini. Assessment of a new passive device for the monitoring of benzene and other volatile compounds in the atmosphere. *Ann. Chim.*, 90 (2000) 249.
- [42] F. De Santis, T. Dogeroglu, A. Fino, S. Menichelli, C. Vazzana, I. Allegrini. Laboratory development and field evaluation of a new diffusive sampler to collect nitrogen oxides in the ambient air. *Anal. Bioanal. Chem.*, 373 (2002) 901.
- [43] <http://www.rpco.com/products/ambprod/amb3310/>.
- [44] J. Begerow, E. Jermann, T. Keles, L. Dunemann. Performance of two different types of passive samplers for the GC/ECD-FID determination of environmental VOC levels in air. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 363 (1999) 399.
- [45] F.M. Jaward, N.J. Farrar, T. Harner, A.J. Sweetman, K.C. Jones. Passive air sampling of PCBs, PBDEs, and organochlorine pesticides across Europe. *Environ. Sci. Technol.*, 38 (2004) 34.
- [46] T. Harner, N.J. Farrar, M. Shoeib, K.C. Jones, FAPC Gobas. Characterization of polymer-coated glass as passive air sampler for persistent organic pollutants. *Environ. Sci. Technol.*, 37 (2003) 2486.
- [47] <http://www.skincinc.com/prod/500-100asp>
- [48] A. Södergren. Solvent-filled dialysis membranes simulate uptake of pollutants by aquatic organisms. *Environ. Sci. Technol.*, 21(1987) 855.
- [49] P. Benes, E. Steinnes. In situ dialysis for the determination of the state of trace elements in natural waters. *Water Res.*, 8 (1974) 947.
- [50] L.M. Mayer. Chemical water sampling in lakes and sediments with dialysis bags. *Limnol. Oceanogr.*, 21 (1976) 909.
- [51] R.H. Hesslein. An in situ sampler for close interval pore water studies. *Limnol. Oceanogr.*, 21 (1976) 912.
- [52] R. Greenwood, G. Mills, B. Vrana. Passive sampling techniques in environmental monitoring. Editor D. Barceló. *Comprehensive Analytical Chemistry*, Vol.48 (2007) Elsevier, The Netherlands.

- [53] S. Herve, R. Paukku, J. Paasivirta, P. Heinonen, A. Södergren. Uptake of organochlorines from lake water by hexane-filled dialysis membranes and by mussels. *Chemosphere*, 22 (1991) 997.
- [54] J.N. Huckins, J.D. Petty, H.F. Prest, C.E. Orazio, R.C. Clark. A guide for use of semipermeable membrane devices (SPMDs) as samplers of waterborne hydrophobic organic compounds. Report n° 4690. American Petroleum Institute, 2002 Washington D.C.
- [55] N. Følsvik, E.M. Einar, J.A. Berge. Monitoring of organotin compounds in seawater using semipermeable membrane devices (SPMDs)-tentative results. *J. of Environ. Monit.*, 2 (2000) 281.
- [56] N. Følsvik, E.M. Einar, J.A. Berge. Organotin compounds in a Norwegian fjord. A comparison of concentration levels in semipermeable membrane devices (SPMDs), blue mussels (*Mytilus edulis*) and water samples. *J. of Environ. Monit.*, 4 (2002) 280.
- [57] D.A. Álvarez. Development of an integrative sampling device for hydrophilic organic contaminants in aquatic environment. Tesis doctoral, Universidad de Missouri, Columbia 1999.
- [58] J.D. Petty, J.N. Huckins, D.A. Álvarez. Device for sequestration and concentration of polar organic chemicals from water, US Patent 6478961. 12 de Noviembre del 2002.
- [59] F. Stuer-Lauridsen, J. Kjølholt, E. Poulsen, J. N. Huckins, D. A. Álvarez. Report on the deployment and analysis of SPMD and POCIS samples from field trials in three streams in Storstroems County, Denmark. July 2004.
- [60] J.D. Petty, J.N. Huckins, D.A. Álvarez, W.G. Brumbaugh, W.L. Cranor, R. W. Gale, A.C. Rastall, T.L. Jones-Lepp, T.J. Leiker, C.E. Rostad, E.T. Furlog. A holistic passive integrative sampling approach for assessing the presence and potential impacts of waterborne environmental contaminants. *Chemosphere*, 54 (2004) 695.
- [61] Z. Zhang, A. Hibberd, J.L. Zhou. Analysis of emerging contaminants in sewage effluent and river water: Comparison between spot and passive sampling. *Anal. Chim. Acta*, 607 (2008) 37
- [62] A. Artditsoglou, D. Voutsas. Passive sampling of selected endocrine disrupting compounds using polar organic chemical integrative samplers. *Environ. Poll.*, 156 (2008) 316.
- [63] J. Pawliszyn. *Solid –Phase Microextraction: Theory and Practise*, Wiley, New York, 1997, p. 264.

- [64] B. Vrana, P. Pop, A. Paschke, G. Shüürmann. Membrane-Enclosed Sorptive Coating. An integrative passive sampler for monitoring organic contaminants in water. *Anal. Chem.*, 73 (2001) 5191.
- [65] H. Martin, M. Piepenbrink, P. Grathwohl. Ceramic dosimeters for time-integrated monitoring. *J. Process Anal. Chem.*, 6 (2001) 68.
- [66] H. Martin, B.M. Patterson, G.B. Davis. Field trial of contaminant groundwater monitoring: Comparing time-integrating ceramic dosimeters and conventional water sampling. *Environ. Sci. Technol.*, 37 (2003) 1360.
- [67] <http://www.diffusiosampler.org>
- [68] C.E. Divine, J.E. McCray. Estimation of membrane diffusion coefficients and equilibration times for Low-Density Polyethylene passive diffusion samplers. *Environ. Sci. Technol.*, 38 (2004) 1849.
- [69] S. Litten, B. Mead, J. Hassett. Application of passive samplers (PISCES) to locating a source of PCBs on the Black River, New York. *Environ. Toxicol. Chem.*, 12 (1993) 639.
- [70] J. Buffle. Speciation of trace elements in natural waters. *Trends in Anal. Chem.*, 1 (1981) 90.
- [71] P. Benes. Semicontinuous monitoring of truly dissolved forms of trace elements instreams using dialysis in situ-1. Principle and conditions. *Water Research*, 14 (1980) 511.
- [72] R.S.S. Wu, T.C. Lau. Polymer-ligands: a novel chemical device for monitoring heavy metals in the aquatic environment. *Mar. Poll. Bull.*, 32 (1996) 391.
- [73] W.G. Brumbaugh, R. Wiedmeyer, J.N. Huckins, T.W. May, J.D. Petty. Device for the removal and concentration of ionic metal species from water. Número de patente US6296760, October, 2001.
- [74] W.G. Brumbaugh, J.D. Petty, J.N. Huckins, S.E. Manahan. Stabilized Liquid Membrane Device (SLMD) for the passive, integrative sampling of labile metals in water. *Water, Air and Soil Pollution*, 133 (2002) 109.
- [75] V.I. Slaveykova, N. Parthasarathy, J. Buffle, K.J. Wilkinson. Permeation liquid membrane as a tool for monitoring bioavailable Pb in natural waters. *Sci. of the Total Environ.*, 328 (2004) 55.
- [76] N. Parthasarathy, M. Pelletier, J. Buffle. Permeation liquid membrane for trace metal speciation in natural waters Transport of liposoluble Cu(II) complexes. *J. of Chrom. A*, 1025 (2004) 33.
- [77] W. Davison, H. Zhang. *In situ* measurements of trace components in natural waters using thin-film gels. *Nature*, 367 (1994) 546.

- [78] H. Zhang, W. Davison. Performance characteristics of Diffusion Gradients in Thin Films for the *in situ* measurements of trace metals in aqueous solution. *Anal. Chem.*, 67 (1995) 3391.
- [79] B. Dočekal, V. Smetková, H. Dočekalová. Characterization of Czech Soils by Diffusive Gradients in Thin Films Techniques. *Chem. Pap.*, 57 (2003) 161.
- [80] G.R. Fones, W. Davison, O. Holby, B.B. Jorgensen, B. Thamdrup. High-Resolution Metal Gradients Measured by In situ DGT/DET Deployment in Black Sea Sediments Using an Autonomous Benthic. *Lander Limnol. Oceanogr.*, 46 (2001) 982.
- [81] H. Zang, W. Davison, R.J.G. Mortimer, M.D. Krom, P.J. Hayes, I.M. Davies. Localised remobilization of metals in a marine sediment. *Sci. of the Total Environ.*, 296 (2002) 175.
- [82] H. Dočekalová, P. Diviš. Application of Diffusive Gradient in Thin Films (DGT) to measurement of mercury in aquatic systems. *Talanta*, 65 (2005) 1174.
- [83] L. Weija, H. Zhao, P.R. Teasdale, R. John, F. Wang. Metal speciation measurement by diffusive gradients in thin films technique with different binding phases. *Anal. Chim. Acta*, 533 (2005) 193.
- [84] J.N. Huckins, G.K. Manuweera, J.D. Petty, D. Mackay, J.A. Lebo. Lipid-containing Semipermeable Membrane Devices for Monitoring Organic Contaminants in Water. *Environ. Sci. and Technol.*, 27 (1993) 2489.
- [85] F.A. DiGiano, D. Elliot, D. Leith. Application of passive dosimetry to the detection of trace organic contaminants in water. *Environ. Sci. and Technol.*, 22 (1988) 1365.
- [86] L. Mackenzie, V. Beuzenberg, P. Holland, P. McNabb, A. Selwood. Solid phase adsorption toxin tracking (SPATT): a new monitoring tool that simulates the biotoxin contamination of filter feeding bivalves. *Toxicon*, 44 (2004) 901.
- [87] <http://www.gaiasafe.de>.
- [88] A.W. Leonard, R.V. Hyne, F. Pablo. Trimethylpentane-containing passive samplers for predicting time-integrated concentrations of pesticides in water: laboratory and field studies. *Toxicol. Chem.*, 21 (2002) 2591.
- [89] J.N. Huckins, J.D. Petty, K. Booij. *Monitors of organic chemicals in the environment: Semipermeable Membrane Devices*. Springer, New York, 2006.
- [90] <http://diffusionsampler.itrcweb.org/>
- [91] E.L. Cussler, A. Varma (Editors), *Diffusion: Mass Transfer in Fluid Systems*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 1984.
- [92] J.N. Huckins, J.D. Petty, C.E. Orazio, J.A. Lebo, R.C. Clark, V.L. Gibson, W.R. Gala, K.R. Echols. Determination of uptake kinetics (sampling rates) by lipid-containing

semipermeable membrane devices (SPMDs) for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in water. *Environ. Sci. Technol.*, 33 (1999) 3918.

[93] D.R. Luellen, D. Shea. Calibration and field Verification of semipermeable membrane devices for measuring polycyclic aromatic hydrocarbons in water. *Environ. Sci. Technol.*, 36 (2002) 1791.

[94] B. Vrana, G. Schüürman. Calibrating the uptake kinetics of semipermeable membrane devices in water: impact of hydrodynamics. *Environ. Sci. Technol.*, 36 (2002) 290.

[95] D. Sabaliunas, A. Sodergren. Use of semi-permeable membrana devices to monitor pollutants in water and assess their effects: a laboratory test and field verification. *Environ. Poll.*, 96 (2) (1997) 195.

[96] J. Kingston. The development of a passive sampling system for the determination of time-averaged concentrations of organic pollutants in aqueous environments. Tesis doctoral, Universidad de Portsmouth, Reino Unido, 2002.

[97] K. Booij, H.M. Sleiderink, F. Smedes. Calibrating the uptake kinetics of semipermeable membrane devices using exposure standards. *Environ. Toxicol. Chem.*, 17 (1998) 1236.

[98] J.N. Huckins, J.D. Petty, J.A. Lebo, F.V. Almeida, K. Booij, D.A. Álvarez, W. L. Cranor, R.C. Clark, B.B. Mogensen. Development of the permeability/performance reference compound (PRC) approach for *in situ* calibration of semipermeable membrane devices (SPMDs). *Environ. Sci. Technol.*, 36 (2002) 85.

[99] D.A. Álvarez, J.D. Petty, J.N. Huckins, T. Jones-Lepp, D.T. Getting, J. Goddard, S.E. Manan. Development of a passive, *in situ*, integrative sampler for hydrophilic organic contaminants in aquatic environments. *Environ. Toxicol. Chem.*, 23 (2004) 1640.

[100] L.B. Bloom. A passive sampling system for monitoring metals in the aquatic environment. Tesis doctoral, Universidad de Tecnología de Chalmers, Goteburgo, Suecia, 2002.

[101] G.S. Ellis, J.N. Huckins, C.E. Rostad, C.J. Schimtt, J.D. Petty, P.Mc Carthy. Evaluation of lipid-containing semipermeable membrane devices for monitoring organochlorine contaminants in the Upper Mississippi River. *Environ. Toxicol. Chem.*, 14 (1995) 1875.

[102] B.J. Richarson, P.K.S. Lam, G.J. Zheng, K.E. McClellan, S.B. De Luca-Abbott. Biofouling confounds the uptake of trace organic contaminants by semi-permeable membrane devices (SPMDs). *Mar. Poll. Bull.*, 44 (2002) 1372.

[103] B. Vrana, I.J. Allan, R. Greenwood, G.A. Mills, E. Dominiak, K. Svensson, J. Knutsson, G. Morrison. Passive sampling techniques for monitoring pollutants in water. *TrAC: Trends in Anal. Chem.*, 2005, 24, 845.

## **B. OBJETIVOS**

La actualización de la información relativa a los principales contaminantes de naturaleza orgánica e inorgánica, y el aseguramiento de la calidad de los resultados ofrecidos son dos de los objetivos primordiales de la legislación Europea en materia de aguas. En la actualidad existen técnicas instrumentales de determinación cuantitativa que aseguran el control de la calidad analítica de los resultados ofrecidos por los laboratorios. Sin embargo, este hecho no es extrapolable a la toma de muestra. La toma de muestra constituye el punto de partida de todo análisis y cualquier error cometido en este paso no puede ser corregido a posteriori. Actualmente, la metodología más extendida para el muestreo de aguas es el muestreo por puntos. Sin embargo, este tipo de estrategia proporciona información del instante en que se toma la muestra y, para aquellas especies que se encuentran en muy baja concentración, la recogida de grandes volúmenes de agua es necesaria para superar los límites de detección de las técnicas utilizadas.

Dentro de las metodologías que se están desarrollando en la actualidad se encuentran las técnicas de muestreo pasivo. La reciente aplicación del muestreo pasivo constituye una buena herramienta para la consecución de los objetivos de calidad y control plasmados dentro de la Directiva Marco Europea de Aguas 2000/60/EC.

En el marco del proyecto europeo STAMPS (nº contrato EVK1-CT-2002-00119) "Standardised Aquatic Monitoring by Passive Sampling" ejecutado entre 2002-2006, se desarrollan, amplían y mejoran las prestaciones y el uso del muestreador pasivo Chemcatcher para la determinación de una gran cantidad de contaminantes orgánicos en agua.

Los objetivos globales fijados en el presente trabajo han sido el desarrollo, la calibración y la aplicación *"in situ"* del muestreador pasivo Chemcatcher para la monitorización y determinación de mercurio y compuestos organoestánicos en aguas continentales y marinas de la Unión Europea.

Los objetivos concretos desarrollados en la presente memoria se han centrado en los siguientes puntos:

1. Selección de una fase colectora, con afinidad por las especies de interés, disponible dentro de los absorbentes comúnmente utilizados en extracción en fase sólida.
2. Selección de la membrana de difusión entre el medio colector y el medio acuático. El material elegido debe presentar afinidad por los analitos extrayéndolos del medio acuático, pero por otra parte, debe favorecer la difusión de los mismos a la fase aceptora en el menor tiempo posible.
3. Desarrollo y validación de la metodología analítica que permita la monitorización de las especies de interés preconcentradas en las membranas.
4. Calibración del muestreador seleccionado para mercurio y para los compuestos organoestánicos mono-, di-, tributilestaño y trifenilestaño, reproduciendo en el medio de calibración las condiciones medioambientales que puedan aparecer en el medio acuático natural, fundamentalmente en lo que respecta a la temperatura y la turbulencia.
5. Empleo del muestreador en diversos medios acuáticos europeos y comparación de los resultados con los obtenidos mediante muestreo puntual.

## **C. PARTE EXPERIMENTAL**

### III. METILMERCURIO

El metilmercurio se acumula fundamentalmente en sedimentos y tejidos biológicos, y no es usual encontrarlo en las aguas contaminadas por  $\text{Hg}^{2+}$ . Sin embargo, debido a su alta capacidad de bioacumulación y a su extremada toxicidad, la aplicación de un dispositivo de muestreo capaz de preconcentrar metilmercurio de forma análoga a un organismo acuático se considera de gran interés para la monitorización de esta especie.

#### III.1 Estudio de las membranas aceptoras y procedimiento de extracción

Considerando la polaridad del metilmercurio se han ensayado las membranas quelatante con grupos ácido iminodiacético, C18 y C8, mediante la filtración a vacío de una disolución que con 100 ng de  $\text{CH}_3\text{HgCl}$  (como Hg) y posterior determinación del contenido de metilmercurio en el filtrado. La eficiencia de retención obtenida para 5 réplicas fue nula para la membrana quelatante, del  $(95 \pm 6) \%$  para la membrana C18 y del  $(98 \pm 3) \%$  para C8. La nula retención de la membrana quelatante frente a metilmercurio se debe a la baja afinidad del  $\text{CH}_3\text{Hg}^+$  por el oxígeno unido a un carbono, por lo que no cabe esperar que interaccione con los grupos carboxilo presentes en el ácido iminodiacético.

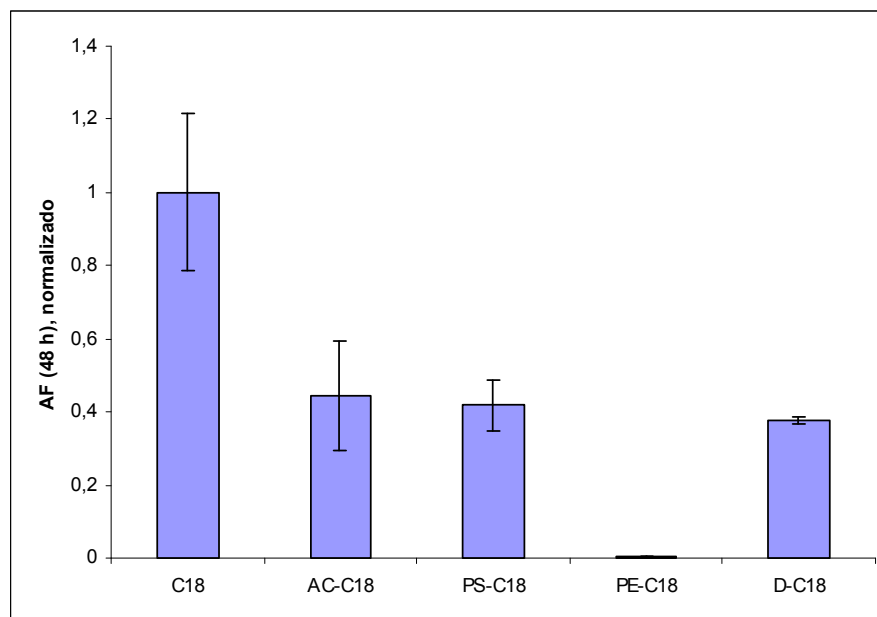
En el caso de las membranas de C18 y C8, la retención del metilmercurio se ve favorecida debido a su polaridad intermedia, siendo estas fases ampliamente utilizadas en forma de cartuchos para la preconcentración de esta especie en muestras de agua. Aunque C8 ofrecía unos buenos resultados, los obtenidos mediante la membrana de C18 abrieron la posibilidad de utilizar un muestreador conjunto para metilmercurio y compuestos organoestánicos. Por este motivo se descartó el uso de C8 en estudios sucesivos.

La posibilidad de un muestreador conjunto, plantea la necesidad de un procedimiento de extracción del metilmercurio retenido en la membrana idéntico al aplicado a para los compuestos organoestánicos. La solución extractante fue 8 mL de una mezcla  $\text{AcOH} : \text{MeOH}$  (3:1, v / v) agitada durante 10 min en un baño de ultrasonidos. La eficacia de

extracción para 100 ng de MeHg<sup>+</sup> retenidos obtenida tras la determinación mediante ICP-MS para 5 réplicas fue del (92 ± 5) %.

### III.2. Elección de las membranas difusión

Se han seleccionado como posibles membranas de difusión: acetato de celulosa (CA), poliétersulfona (PS), polietileno (PE) y diálisis (D). Para conocer la capacidad aceptora del disco de C18 cuando el analito tiene que atravesar las membranas de difusión, se han realizado experimentos en el tanque análogos a los mencionados en el segundo trabajo de este capítulo. Para ello se han sumergido en el tanque de calibración muestreadores compuestos únicamente por la membrana aceptora de C18 y otros formados por la combinación de ésta con las diferentes membranas de difusión seleccionadas. De cada tipo de muestreador se sumergieron tres réplicas que fueron expuestas durante 48 h a una concentración de metilmercurio de 2 µg L<sup>-1</sup> y a 11°C. Tras la exposición, se cuantificó la masa acumulada en la membrana de C18 para el cálculo de los factores de acumulación para 48 h de exposición (AF (48)). Este factor se obtiene al relacionar la masa acumulada en la fase aceptora y la concentración en el agua ( $M_D(t) - M(0) / C_W$ ). La *Figura 15* muestra los resultados obtenidos para las diferentes configuraciones ensayadas a través de los factores de acumulación normalizados con respecto al AF(48) obtenido para el muestreador que porta únicamente la membrana aceptora.



**Figura 15** Factores de acumulación normalizados  $\pm$  ds tras 48 h de exposición para las diferentes membranas aceptoras combinadas con la membrana C18. AC: Acetato de Celulosa, PS: Poliétersulfona, PE: Polietileno y D: Diálisis.

Los resultados obtenidos permiten descartar a la membrana de polietileno como membrana de difusión para metilmercurio ya que constituye una barrera para la acumulación. Las membranas de poliétersulfona, acetato de celulosa y diálisis permiten la difusión del analito hacia la fase aceptora con una eficacia similar y como era de esperar inferior al que se obtiene cuando el muestreador contiene únicamente la membrana de C18. Se elige por tanto la combinación AC-C18 para llevar a cabo los estudios de calibración ya que es la combinación óptima para la acumulación de los compuestos organoestánicos, lo que hace posible un único muestreador para ambos tipos de compuestos.

### III.3. Estimación de la velocidad de muestreo ( $R_s$ )

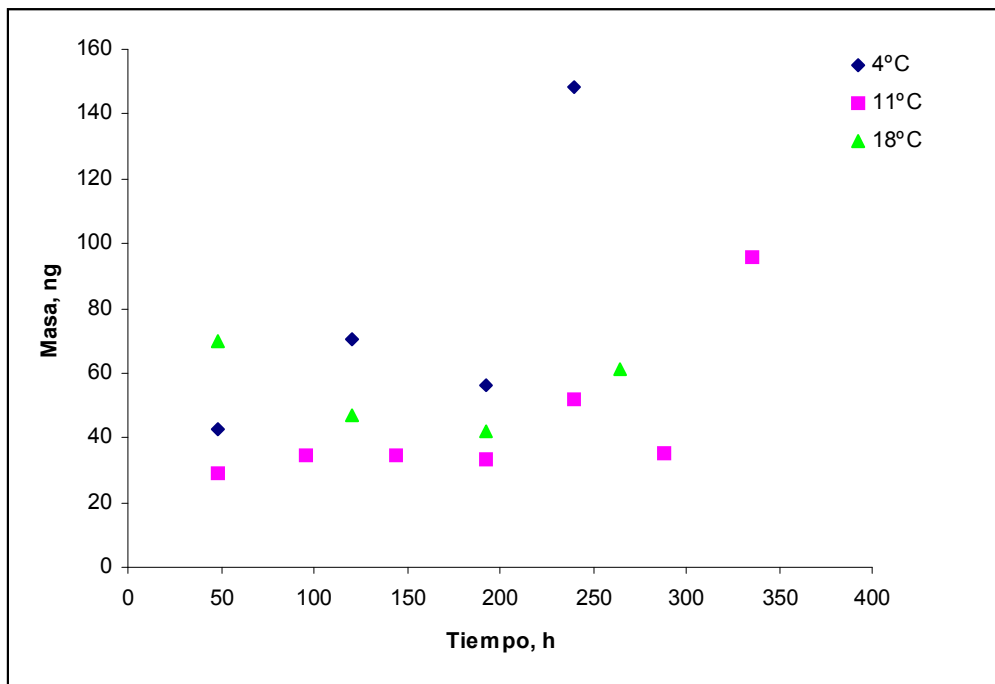
Tal como fue indicado en el capítulo II.5.1, la determinación de la velocidad de muestreo ( $R_s$ ) se efectúa a través de la calibración del muestreador en un tanque en el que se fijan la concentración de analito, la temperatura y la turbulencia del agua en valores fijos y determinados. Al igual que para mercurio y organoestánicos, la concentración de metilmercurio fijada fue de  $100 \text{ ng L}^{-1}$  (como Hg) y las condiciones aplicadas son las que resultan de la combinación de tres temperaturas (4, 11 y 18 °C)

y tres niveles de agitación SL1 (0 rpm), SL2 y SL3 (muestreadores en un carrusel y agitación a 40 y 70 rpm respectivamente). Los experimentos se realizaron con 14 muestreadores los cuales se fueron sacando del tanque tras 2, 5, 8, 11 y 14 días de exposición, se procedió a la cuantificación de la masa acumulada ( $M_D(t) - M(0)$ ) y el valor obtenido se representó frente al tiempo de exposición obteniendo así la curva de calibración. De la relación entre la pendiente de la curva y la concentración en el agua se obtuvieron los valores de  $R_s$  para cada condición. La *Tabla 12* muestra los parámetros de regresión y los valores de  $R_s$  estimados. La *Figura 16* muestra las curvas de calibración a 4°C, 11°C y 18°C con nivel de agitación SL3.

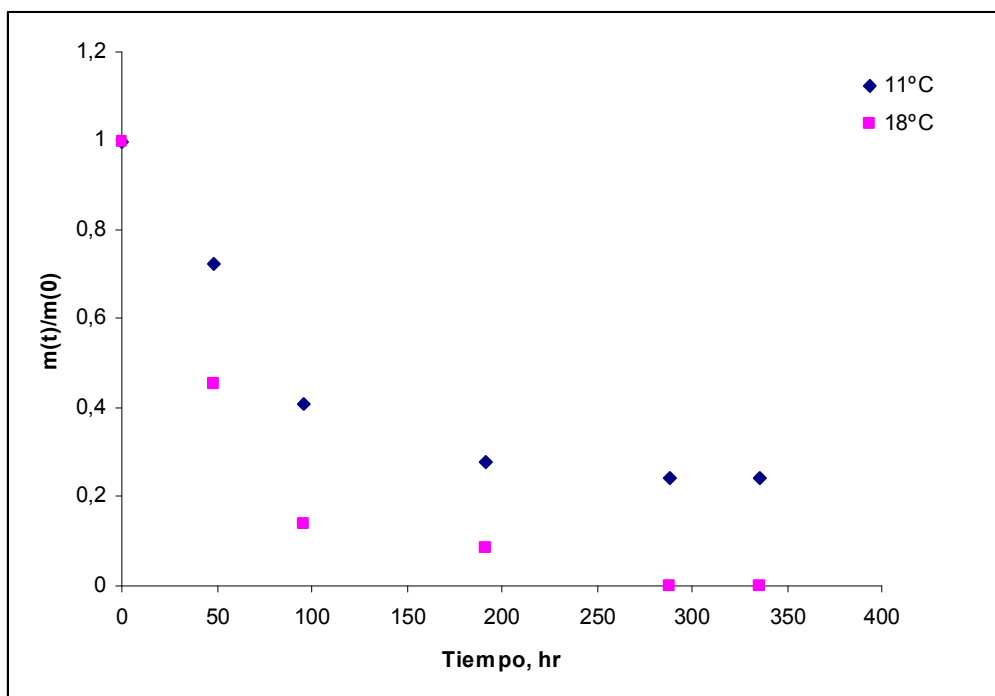
**Tabla 12** *Curvas de calibración y velocidades de muestreo para metilmercurio*

Condiciones		Pendiente, ng h <sup>-1</sup>	Coefficiente correlación, r <sup>2</sup>	R <sub>s</sub> ± CV, L d <sup>-1</sup>
4	SL2	0.863	0.488	0.017 ± 0.013
	SL3	1.5015	0.599	0.032 ± 0.020
11	SL1	0.907	0.464	0.003 ± 0.004
	SL2	-9 x 10 <sup>-5</sup>	0.0122	-
	SL3	0.163	0.515	0.012 ± 0.006
18	SL1	0.0842-	0.0889	0.004 ± 0.008
	SL2	0.0618	0.0418	0.002 ± 0.007
	SL3	-0.0413	0.0906	-

Como puede observarse por los coeficientes de correlación obtenidos y los bajos valores de  $R_s$ , no existe una linealidad de la masa acumulada en el muestreador en función del tiempo de exposición. Este hecho parece indicar una unión muy débil del metilmercurio a la membrana de C18, cuya afinidad se ve reducida por la temperatura. Paralelamente se realizaron estudios de desorción simultáneamente a los llevados a cabo para organoestánicos (MBT, DBT, TBT y TPhT). Para ello se cargan a vacío 500 ng de metilmercurio en la membrana de C18, se introduce en el muestreador y se expone en el tanque en ausencia de analito en el agua y en las mismas condiciones de temperatura y turbulencia que en la calibración (4, 11 y 18 °C, y SL1, SL2 Y SL3). La *Figura 17* muestra los perfiles de desorción a 11 y 18°C para un nivel de agitación SL2.



**Figura 16** Curvas de calibración a 4 °C, 11 °C y 18 °C para un nivel de turbulencia SL3.

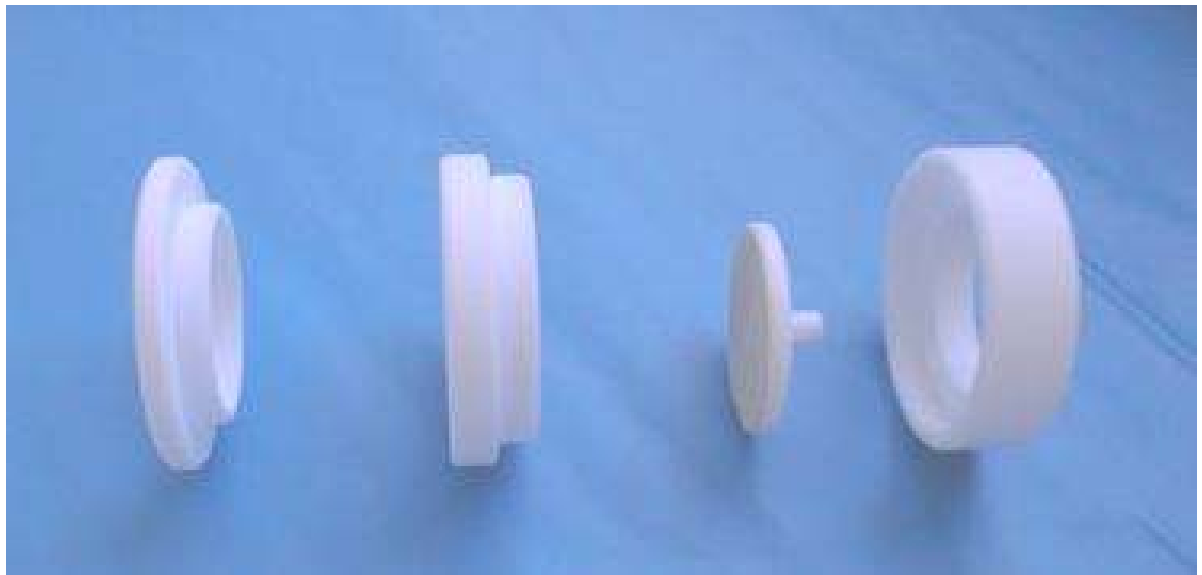


**Figura 17** Curva de desorción de  $\text{MeHg}^+$  a 11 y 18 °C para un nivel de turbulencia SL2. En el eje de ordenadas se representa la relación entre la masa remanente a tiempo  $t$  ( $m(t)$ ) y la masa inicialmente cargada en la membrana de C18 ( $m(0)$ ).

A diferencia de los compuestos organoestánicos y del mercurio en los que la desorción tras 14 días de exposición no supera el 30% en ninguna de las condiciones, en el caso del metilmercurio se produce una desorción del 100 % a los 12 días para las condiciones de mayor temperatura y turbulencia.

A partir de los estudios realizados se puede concluir que el muestreador Chemcatcher equipado con una membrana de C18 como membrana aceptora, no se puede emplear para la monitorización de  $\text{MeHg}^+$  en aguas como inicialmente se pensó, debido a su capacidad de acumulación en dicha membrana. El desarrollo de un muestreador para este analito sería de gran importancia ya que es uno de los analitos de mayor relevancia ambiental.

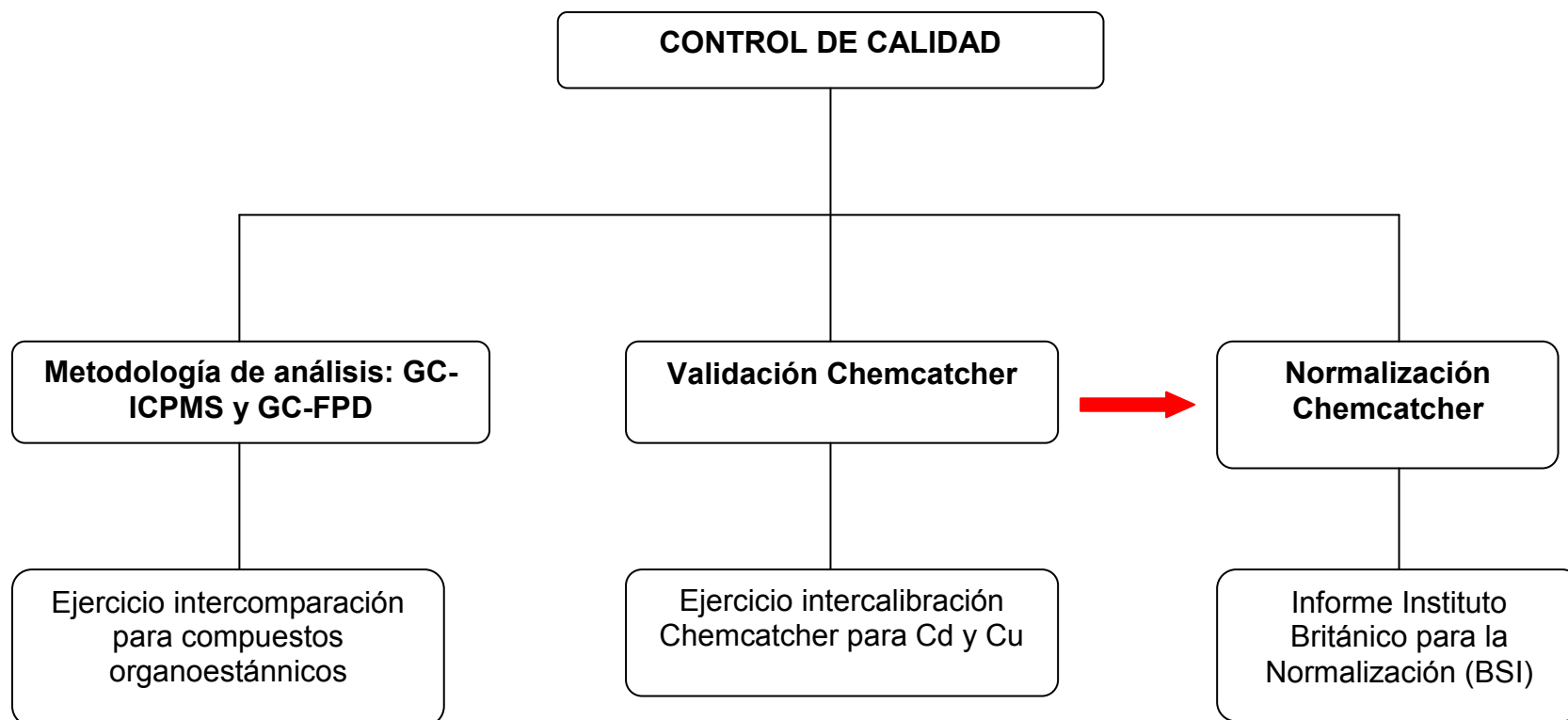
## CAPÍTULO V : CONTROL DE CALIDAD Y VALIDACIÓN



Cualquier desarrollo de metodología analítica requiere ser validado para considerar que ofrece resultados de calidad para un nivel de confianza dado. La validación de un método implica la determinación de parámetros analíticos como precisión, exactitud, reproducibilidad, especificidad, % recuperación, límite de detección y de cuantificación, linealidad y robustez. En este capítulo se muestran los estudios de control de calidad que se han realizado con el fin de validar en su conjunto la metodología analítica desarrollada. La validación global implica la validación individual de:

- La metodología de análisis empleada: GC-ICP-MS
- La metodología de muestreo pasivo con Chemcatcher
- La normalización legislativa del Chemcatcher.

A continuación se desarrolla el procedimiento de validación seguido en cada uno de estos apartados. Este procedimiento queda reflejado en el *Esquema II*.



#### IV.1. Validación de la metodología de análisis

La determinación simultánea de mercurio y compuestos organoestánicos en las muestras de agua se ha realizado mediante el acoplamiento GC-ICP-MS y GC-FPD

Para validar la metodología empleada, tanto GC-ICP-MS como GC-FPD se ha participado en el ejercicio de intercomparación organizado por la Universidad de Oviedo y la empresa ISC-Science en el marco del Proyecto de Investigación titulado "El uso de Isótopos Estables y Relaciones Isotópicas en Metrología Química" (referencia BQU2003-03438). Uno de los objetivos de este proyecto era la organización de tres ejercicios de intercomparación para la determinación de compuestos organoestánicos, cuyo análisis se aborda con frecuencia por dilución isotópica.

En una primera fase, el objetivo del ejercicio de intercomparación fue la determinación de MBT, DBT y TBT de una muestra patrón suministrada por el laboratorio preparada en una mezcla ácido acético / metanol (3:1 v/v). Este medio es idéntico al utilizado para la extracción de las especies acumuladas en la membrana aceptora del muestreador. A continuación, se muestra un resumen de los resultados del ejercicio de intercomparación, de los 5 laboratorios participantes. El código correspondiente a la Universidad Complutense es OT-S-47.

Tras la eliminación de los valores discrepantes mediante la prueba de Gubbs, la evaluación de la eficacia de los participantes se llevó a cabo mediante el criterio z-score:

$$z = \frac{x - X}{s} \quad (13)$$

donde x= valor medio de los resultados de un laboratorio, X= valor de referencia y s= desviación estándar del valor de referencia. Los valores de z-score se interpretan del siguiente modo:

$$\begin{aligned} |z| \leq 2 &= \textit{satisfactorio} \\ 2 < |z| < 3 &= \textit{discutible} \\ |z| \geq 3 &= \textit{insatisfactorio} \end{aligned}$$

Para evaluar la eficiencia de los participantes en base al valor de consenso, los parámetros de la evaluación de z-score son  $x$ = valor medio de los resultados de un laboratorio,  $X$ = promedio de los valores medios de todos los laboratorios y  $s$ = desviación estándar de la media de los valores medios de todos los laboratorios.

Finalmente, para evaluar la eficacia de los participantes en base al valor asignado  $x$ = valor medio de los resultados de un laboratorio,  $X$ = valor medio obtenido por análisis por dilución isotópica por la Universidad de Oviedo y  $s$ = tres veces la desviación estándar del valor medio obtenido por dilución isotópica. Las *Tablas 13 y 14* recogen los valores de consenso y asignados por dilución isotópica respectivamente.

**Tabla 13** *Valores de consenso para cada compuesto*

Compuesto	Valor de consenso (ng Sn g <sup>-1</sup> )	
	Media	Desviación estándar
MBT	60.1	1.7
DBT	94.8	10.8
TBT	131.9	18.9

**Tabla 14** *Valores asignados para cada compuesto*

Compuesto	Valor asignado (ng Sn g <sup>-1</sup> )	
	Media	Desviación estándar
MBT	55.1	1.7
DBT	81.2	1.9
TBT	118.8	3.7

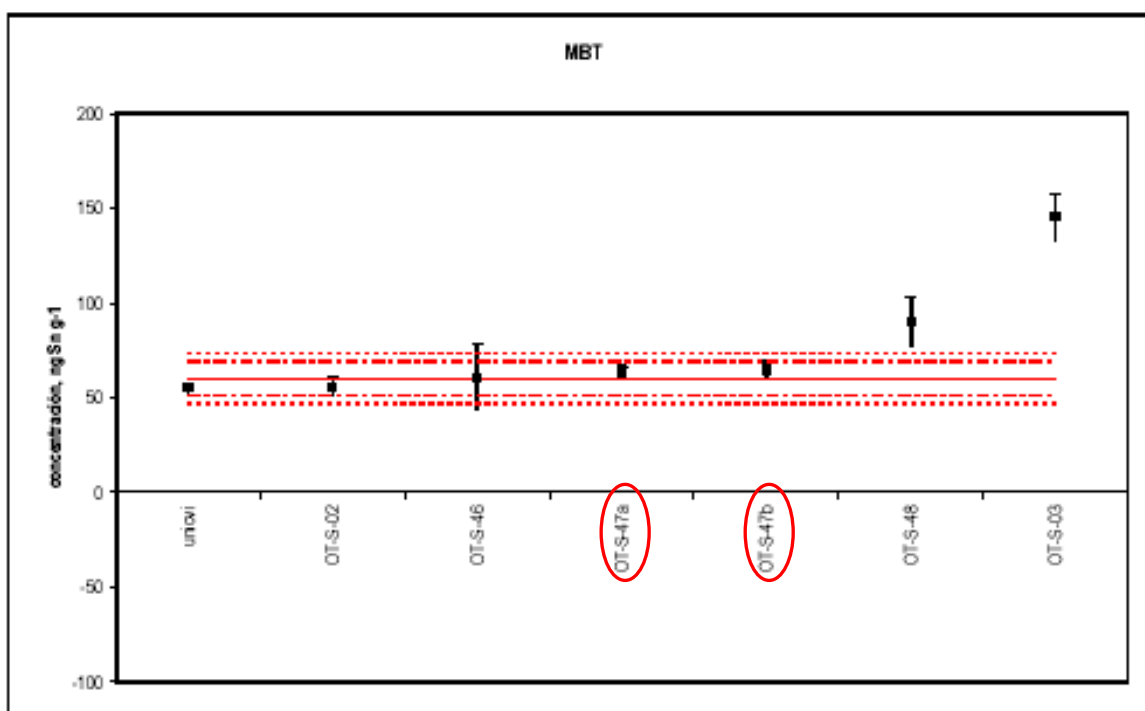
Las *Tablas 15-17* y las *Figuras 18-20* muestran los resultados correspondientes a cada compuesto para todos los laboratorios participantes.

**Tabla 15** *Monobutilestaño*

<b>Código muestra</b>	<b>Media</b>	<b>s</b>	<b>z-score (consenso)</b>	<b>z-score (asignado)</b>
OT-S-02	56.00	4.49	-0.93	0.17
OT-S-03	145.40	11.99	19.48	17.28
OT-S-46	60.94	17.22	0.19	1.11
OT-S-47a*	63.60	2.70	0.80	1.62
OT-S-47b**	64.80	4.40	1.08	1.85
OT-S-48	90.00	13.00	6.83	6.68
Uniovi	55.10	1.70	-1.14	Asignado

\*Resultados obtenidos mediante GC-FPD

\*\* Resultados obtenidos mediante GC-ICP-MS



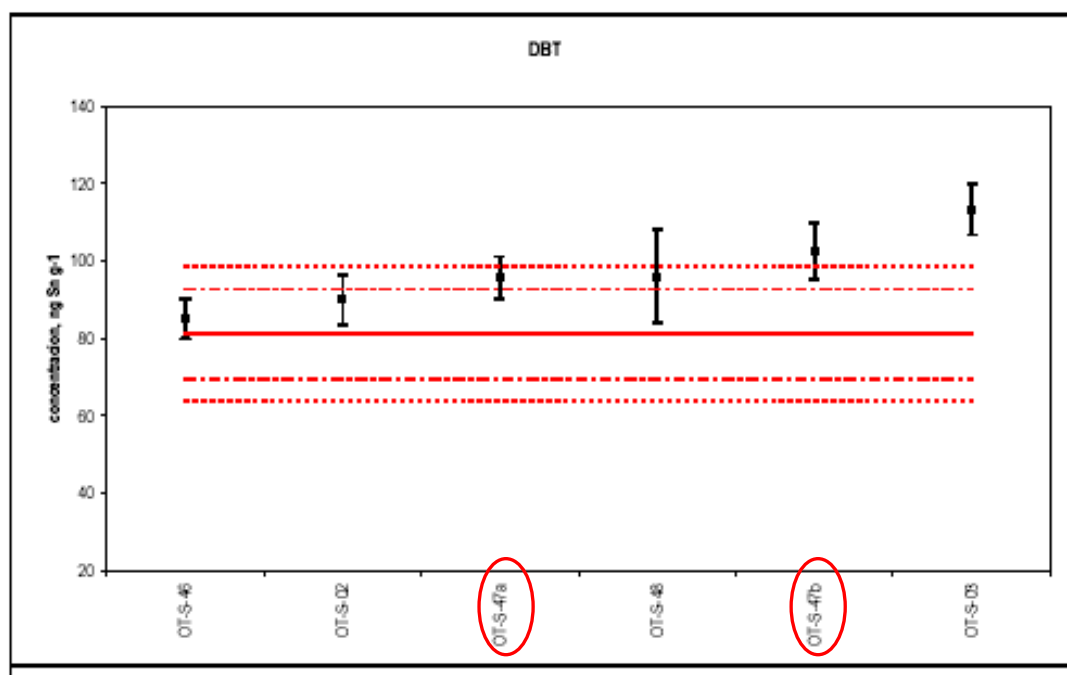
**Figura 18** *Monobutilestaño*

**Tabla 16** Dibutilestaño

<b>Código muestra</b>	<b>Media</b>	<b>s</b>	<b>z-score (consenso)</b>	<b>z-score (asignado)</b>
OT-S-02	90.00	6.40	-0.44	1.52
OT-S-03	113.20	6.60	1.70	5.52
OT-S-46	85.10	5.10	-0.90	0.68
OT-S-47a*	95.70	5.40	0.08	2.51
OT-S-47b**	102.60	7.20	0.72	3.70
OT-S-48	96.00	12.00	0.11	2.56
Uniovi	81.20	1.90	-1.26	Asignado

\*Resultados obtenidos mediante GC-FPD

\*\* Resultados obtenidos mediante GC-ICP-MS



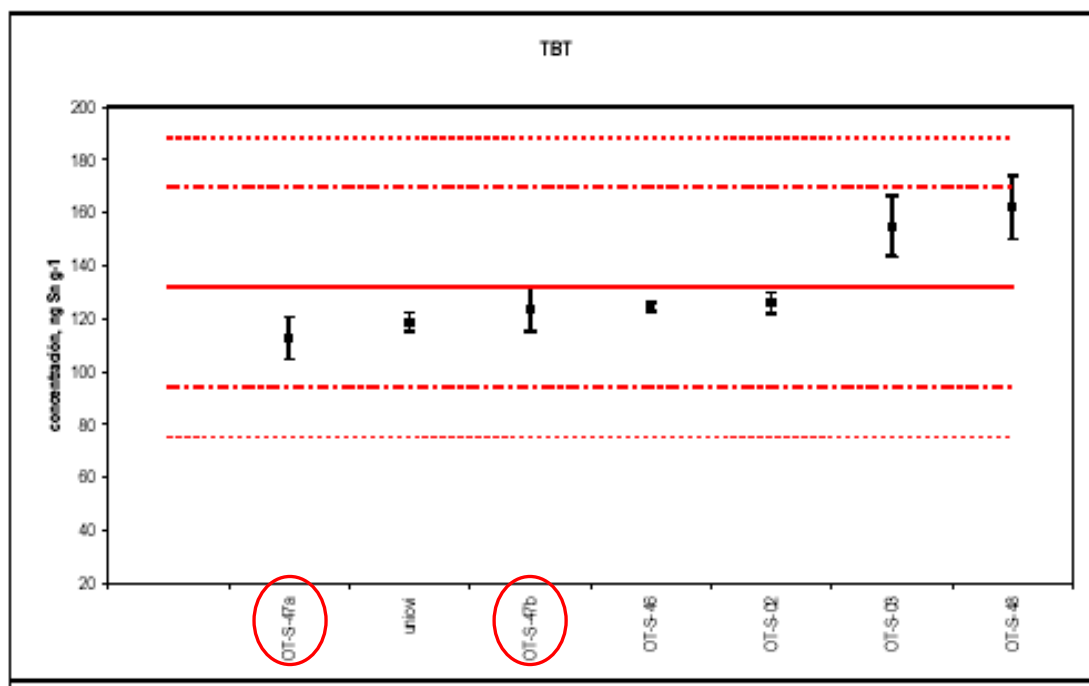
**Figura 19** Dibutilestaño

**Tabla 17** Tributilestaño

Código muestra	Media	s	z-score (consenso)	z-score (asignado)
OT-S-02	126.00	4.00	-0.31	0.66
OT-S-03	155.00	11.40	1.23	3.31
OT-S-46	124.60	1.70	-0.39	0.53
OT-S-47a*	112.80	8.00	-1.01	-0.55
OT-S-47b**	123.80	8.60	-0.43	0.46
OT-S-48	162.00	12.00	1.60	3.95
Uniovi	118.80	3.60	-0.69	Asignado

\*Resultados obtenidos mediante GC-FPD

\*\* Resultados obtenidos mediante GC-ICP-MS



**Figura 20** Tributilestaño

A la vista de los resultados obtenidos se concluye que el laboratorio de la UCM estaría validado para el análisis de los compuestos organoestánicos mediante GC-ICP-MS y GC-FPD.

## IV.2. Validación de la metodología de muestreador Chemcatcher

La evaluación de la fiabilidad de las velocidades de muestreo ( $R_s$ ) es crucial ya que las  $R_s$  son imprescindibles para la estimación de la concentración en el agua. Con el fin de aumentar el nivel de confianza en la calibración, en el diseño del muestreador y para poder normalizar la utilización del Chemcatcher en el marco del proyecto europeo STAMPS, se llevaron a cabo dos programas de calibración interlaboratorio, uno para compuestos orgánicos apolares y otro para metales. Este último es el mostrado en la presente memoria. Las calibraciones proporcionaron información relativa a la variabilidad inter- e intra-laboratorio en la estimación de la concentración en el agua de un determinado analito/s.

El objeto de este ejercicio interlaboratorio consistió en la realización de experimentos de calibración de acuerdo con protocolos definidos por los laboratorios organizadores utilizando el diseño del muestreador para metales (membrana aceptora quelatante y membrana de difusión de acetato de celulosa).

Para contaminantes metálicos el ejercicio fue coordinado por la Universidad Tecnológica de Chalmers (Goteborg, Suecia) y en él participaron ocho laboratorios: Universidad de Portsmouth (School of Biological Sciences, Portsmouth, Reino Unido), CSIC (Dpto. de Química Ambiental, Barcelona, España), RIVO (The Netherlands Fisheries Institute for Fisheries Research, Ijmuiden, Holanda), AQUATEAM (Aquateam-Norwegian Water Technology Centre AS, Oslo, Noruega), ALCONTROL (Skara, Suecia), VSCHT (Vysoka Skola Chemicko-Technologicka v Praze, Praga, República Checa) y Dpto. de Química Analítica (Facultad de Químicas, Universidad Complutense, Madrid, España). Los analitos objeto de la calibración fueron cadmio y cobre. Los muestreadores para estos metales fueron preparados y enviados a cada laboratorio por la Universidad de Chalmers.

Para la calibración de los muestreadores, éstos fueron introducidos durante 7 días en un tanque de calibración, con las características indicadas por el coordinador, con una concentración de Cd y Cu fijas, y bajo unas condiciones de agitación y temperatura determinadas. Diariamente se tomaron muestras de agua del tanque para controlar la concentración de los analitos. Finalizado el periodo de exposición, se extrae la masa

acumulada en los muestreadores bajo el protocolo indicado por el coordinador. El experimento de calibración se realizó por duplicado. Los datos de concentración en el agua y las masas acumuladas para cada analito en cada uno de los experimentos fueron enviados a la Universidad de Chalmers para realizar el estudio de validación.

A continuación se presentan el trabajo realizado y los resultados emitidos como laboratorio participante

## **PARTE EXPERIMENTAL**

### *Disoluciones*

Se utilizan patrones para ICP-MS de Cu y Cd 1000 mg L<sup>-1</sup> (Perkin Elmer) a partir de los que se preparan las disoluciones de trabajo mediante dilución con agua Mili-Q y adicionando 1 mL de HNO<sub>3</sub> (65% w/v Merck, Darmstadt, Germany) por litro de disolución. Como patrón interno se utiliza In (Perkin Elmer). Además de los patrones también se utilizan disoluciones de HNO<sub>3</sub> destilado 3 M y 0.24 M para la extracción y como carrier para ICP-MS.

### *Muestreadores*

Dos semanas antes comenzar la primera calibración, la Universidad de Chalmers envió un total de 16 muestreadores identificados numéricamente, sellados y rellenos de agua desionizada, cada uno de ellos en una bolsa de autocierre, etiquetada con el mismo número. Los muestreadores se mantuvieron refrigerados a 4°C y dentro de su bolsa hasta el momento de iniciar el experimento. Los 16 muestreadores, se dividieron entre dos experimentos de calibración, correspondiendo 8 a cada uno de ellos, por lo que el método de calibración para los dos metales es simultáneo. Estos muestreadores a su vez se dividieron en:

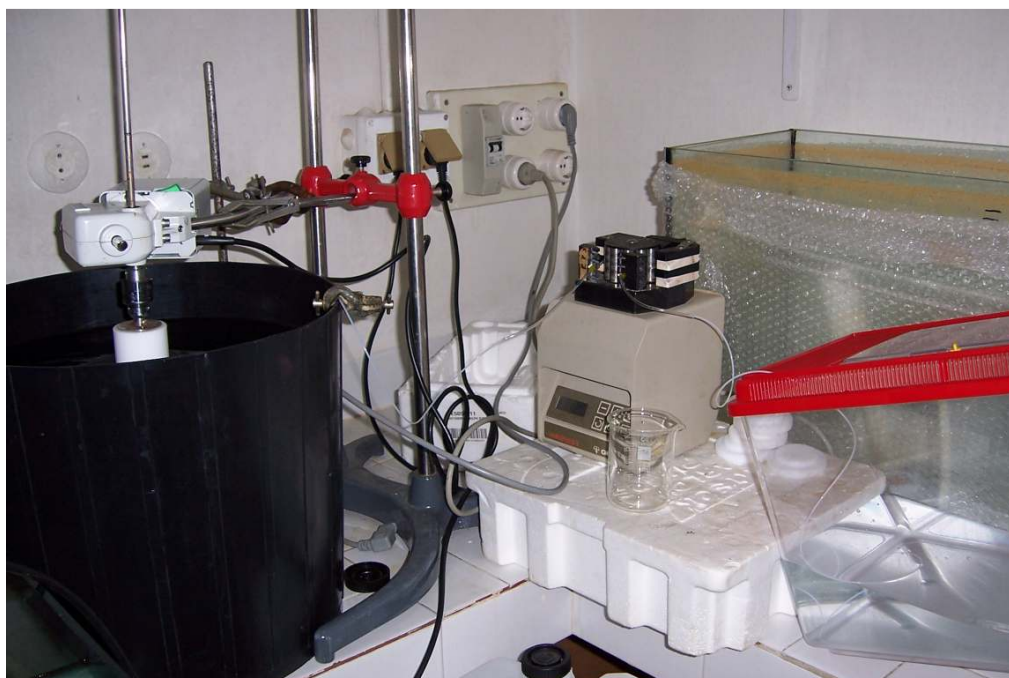
3 blancos de fabricación que se mantuvieron a 4°C durante la calibración.

5 réplicas para calibración.

El muestreador para Cd y Cu constaba de una membrana quelatante con grupos iminodiacético (Empore™ 3M) como fase aceptora y de una membrana de acetato de celulosa como membrana de difusión.

### *Tanque de calibración*

El dispositivo utilizado presentaba unas características análogas a las del tanque descrito para la calibración del Chemcatcher aplicado a compuestos organoestánicos y mercurio, aunque en este caso, bajo las recomendaciones del coordinador del ejercicio, el tanque se construyó en plástico y el carrusel era de PVC en lugar de teflón. Otra peculiaridad era la utilización de una única bomba que introducía directamente en el tanque de calibración la disolución metálica. Esta fórmula es adecuada cuando se trabaja con concentraciones tres órdenes de magnitud superiores que en el caso de mercurio y compuestos organoestánicos. El volumen de agua de exposición, así como los tubos, bomba, agitador y resto de los componentes, eran idénticos a los descritos en las publicaciones precedentes. La *Figura 21* muestra una fotografía del tanque de calibración.



**Figura 21** *Tanque para la calibración de los muestreadores de Cd y Cu*

Las condiciones de exposición fijadas para el estudio se recogen en la *Tabla 18*.

**Tabla 18** *Condiciones aplicadas al tanque de calibración*

<b>Parámetro</b>	<b>Valor</b>
Analitos	Cd y Cu
Concentración nominal, $\mu\text{g L}^{-1}$	100
Caudal disolución analitos, $\text{mL min}^{-1}$	2
Temperatura, $^{\circ}\text{C}$	18
Agitación, rpm	50
Tiempo de exposición, días	7
Tiempo de equilibración, horas	48

La disolución de Cd y Cu se estabiliza en  $\text{HNO}_3$  al 1%. Diariamente se tomó una muestra de agua del tanque de calibración para llevar a cabo un control de la concentración.

#### *Extracción de la fase aceptora*

Finalizado el periodo de exposición el muestreador se desmontó y la membrana aceptora se dispuso en un sistema de filtración a vacío en el que se le hicieron pasar 10 mL de agua desionizada para lavar, y a continuación 30 mL de  $\text{HNO}_3$  3 M para la extracción de las especies.

#### *Determinación*

La masa de analito extraída de la membrana aceptora fue determinada mediante ICP-MS (HP4500, Agilent Technologies) en modo continuo. Las condiciones utilizadas se recogen en la *Tabla 19*.

**Tabla 19** Condiciones aplicadas para la determinación de Cd y Cu mediante ICP-MS

Parámetro	Valor
Potencia de radiofrecuencia, W	1300
Caudal del carrier, L min <sup>-1</sup>	1.01
Tiempo de integración, s por m/z	0.1
Isótopos	<sup>63,65</sup> Cu y <sup>112,114</sup> Cd
Patrón interno	<sup>115</sup> In
Bomba peristáltica, rpm	11

## RESULTADOS OBTENIDOS

La *Tabla 20* muestra los resultados obtenidos en nuestro laboratorio (Lab 7) para la concentración de Cu y Cd en el agua del tanque en las dos calibraciones llevadas a cabo. Aunque la concentración nominal era de 100 µg L<sup>-1</sup> para cada elemento, las concentraciones medias encontradas en el agua mediante análisis directo fueron de: 71.4 ± 6.8 µg L<sup>-1</sup> (Cd), 65.4 ± 1.9 µg L<sup>-1</sup> (Cu) para la primera calibración, y de 85.1 ± 2.2 µg L<sup>-1</sup> (Cd) y de 79.6 ± 5.8 µg L<sup>-1</sup> (Cu) para la segunda calibración.

**Tabla 20** Concentraciones de Cu y Cd en el agua durante los dos experimentos

Tiempo, días	1ª Calibración		2ª Calibración	
	Cd µg L <sup>-1</sup>	Cu µg L <sup>-1</sup>	Cd µg L <sup>-1</sup>	Cu µg L <sup>-1</sup>
0	69.2	63.3	85.2	80.4
1	68.3	63.5	84.5	70.9
2	-	-	88.6	75.5
5	68.9	67.4	84.7	87.9
6	83.6	66.9	84.69	81.4
7	67.2	66.1	82.4	81.3
Media ± ds	71.4 ± 6.8	65.4 ± 1.9	85.1 ± 2.2	79.6 ± 5.8

La *Tabla 21* muestra las masas de Cu y Cd acumuladas en los 5 muestreadores sumergidos en el agua durante 7 días y su valor medio.

**Tabla 21** *Masas de Cu y Cd obtenidas en los dos experimentos de calibración*

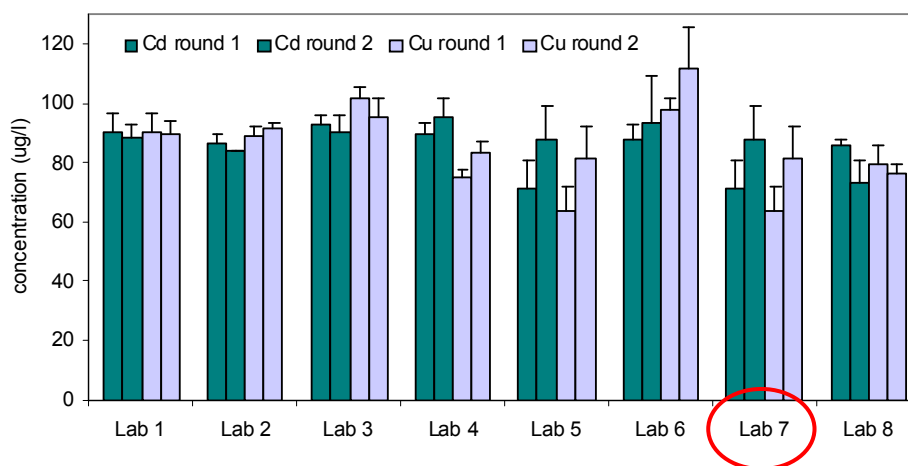
Muestreador nº	1ª Calibración		2ª Calibración	
	Cd, µg	Cu, µg	Cd, µg	Cu, µg
1	68.6	58.9	67.4	46.2
2	92.8	67.7	59.5	45.7
3	65.9	80.1	56.7	53.8
4	74.5	64.6	57.1	58.9
5	64.3	62.8	58.8	54.1
Media ± ds	74.0 ± 13.3	66.8 ± 8.1	59.9 ± 4.4	51.7 ± 5.7

Del tratamiento de los datos enviados por los laboratorios participantes la Universidad de Chalmers obtuvo el siguiente resumen.

### ESTUDIOS DE VALIDACIÓN

La validación del muestreador para Cu y Cd se realizó en la Universidad de Chalmers. A continuación se muestra el estudio estadístico realizado por dicha Universidad así como la posición de nuestro laboratorio (Lab 7) en los resultados obtenidos.

La *Figura 22*, muestra las concentraciones medias del agua del tanque obtenidas por los laboratorios participantes.



**Figura 22** Representación de la concentración media del agua del tanque en  $\mu\text{g L}^{-1}$  para cada laboratorio. Las barras de error representa la desviación estándar ( $n= 5-7$ ).

La masa media acumulada por los muestreadores fue de  $66.2 \pm 3.4 \mu\text{g}$  para Cd y de  $55.9 \pm 2.8 \mu\text{g}$  para Cu. El coeficiente de variación (CV) fue 22 y 23 % para Cd y Cu respectivamente. La *Tabla 22* recoge la información estadística calculada para cada analito. Los resultados de Cd para el laboratorio 8 fueron rechazados por los altos valores obtenidos para los blancos.

**Tabla 22** Resumen de la información estadística para la masa acumulada en los muestreadores

Parámetro	Cd	Cu
Media ( $\mu\text{g}$ )	66.2	55.9
Desviación estándar ( $\mu\text{g}$ )	14.4	12.8
%RSD	22%	23%
Intervalo de confianza (95%) ( $\mu\text{g}$ )	3.4	2.8
Mediana ( $\mu\text{g}$ )	63.7	54.4
1 <sup>st</sup> cuartil ( $\mu\text{g}$ )	56.4	48.5
Min ( $\mu\text{g}$ )	37.1	22.5
Max ( $\mu\text{g}$ )	113.1	104.4
3 <sup>rd</sup> cuartil ( $\mu\text{g}$ )	74.0	62.9
n	70	80

## Blancos

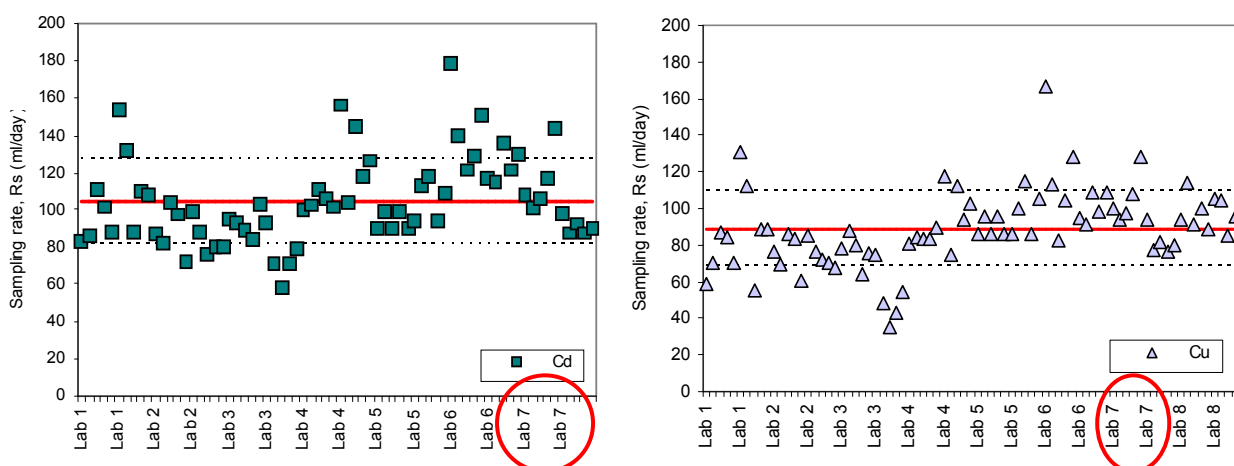
Las masas de Cd y Cu obtenidas para los blancos fueron  $0.10 \pm 0.8 \mu\text{g}$  y  $0.62 \pm 0.27 \mu\text{g}$  respectivamente. La información estadística relacionada con los blancos se recoge en la *Tabla 23*.

**Tabla 23** Resumen de la información estadística para los blancos de los muestreadores

Parámetro	Cd	Cu
Media ( $\mu\text{g}$ )	0.10	0.62
Desviación estandar ( $\mu\text{g}$ )	0.26	0.82
%RSD	258.6%	131.8%
Intervalo de confianza (95%) ( $\mu\text{g}$ )	0.08	0.27
Mediana ( $\mu\text{g}$ )	0.01	0.44
1 <sup>st</sup> cuartil ( $\mu\text{g}$ )	0.00	0.05
Min ( $\mu\text{g}$ )	-0.05	-0.49
Max ( $\mu\text{g}$ )	1.13	2.53
3 <sup>rd</sup> cuartil ( $\mu\text{g}$ )	0.04	0.97
n	39	39

## VELOCIDADES DE MUESTREO (Rs)

Las velocidades de muestreo estimadas para cada metal se recogen en la *Figura 23*.



**Figura 23** Velocidades de muestreo estimadas para cada analito. La línea roja representa la velocidad de muestreo media y las líneas de puntos el intervalo dado por la desviación estándar.

### PRECISIÓN

La precisión dentro de un experimento, entre experimentos y entre laboratorios varía entre 12 y 22 % para Cd y entre 15 y 23 % para Cu. Los resultados se recogen en la *Tabla 24*.

**Tabla 24** Precisión para las velocidades de muestreo estimadas para cada metal en el estudio interlaboratorio ( $n=7$ )

Parámetro	Cd (%RSD)	Cu (%RSD)
Precisión dentro del experimento	12.1	15.1
Precisión entre experimentos	15.4	18.8
Precisión entre laboratorios	21.8	23.2

Como era de esperar la variación entre laboratorios superaba la variabilidad entre experimentos para un mismo laboratorio.

## **LIMITES DE DETECCIÓN (LD) Y DE CUANTIFICACIÓN (LQ)**

El límite de detección y de cuantificación para cada analito se calcula a partir del promedio de los blancos y del promedio de las velocidades de muestreo calculadas. Se ha considerado un tiempo de exposición de 14 días. Los LD fueron de 0.43 y 2.01  $\mu\text{g L}^{-1}$  para Cd y Cu respectivamente, mientras que los LQ fueron 1.5  $\mu\text{g L}^{-1}$  para Cd y 8.13  $\mu\text{g L}^{-1}$  para Cu.

## **RESUMEN DE LA VALIDACIÓN**

Considerando todos los parámetros estadísticos de la validación del Chemcatcher, podemos concluir que las Rs encontradas entre laboratorios, para experimentos análogos llevados a cabo en los laboratorios de los países participantes, son significativamente comparables. Los resultados obtenidos por nuestro laboratorio (Lab 7) entran dentro de la media estadística de los laboratorios participantes.

### **IV.3. Normalización del Chemcatcher**

Uno de los factores que ralentizan la aplicación de muestreadores pasivos para la monitorización acuática es la falta de procedimientos o métodos estandarizados que transmitan confianza en la aplicación de los mismos de forma rutinaria. En el caso de los muestreadores de aire, la existencia de métodos normalizados ha tenido un impacto muy positivo sobre todo para su aplicación en atmósferas laborales. Uno de los objetivos primordiales del proyecto STAMPS es la estandarización de los muestreadores Chemcatcher desarrollados con el fin de demostrar la fiabilidad de los resultados obtenidos con el Chemcatcher y suscitar confianza en los potenciales usuarios. Esta normalización se llevó a cabo mediante el desarrollo de una norma a través de un organismo independiente como es el Instituto Británico para la Normalización (British Standards Publicly Available Specification, BSI PAS). Se trata de una norma abierta que permite su actualización a medida que la tecnología vaya madurando, además el objetivo es que, en el futuro, se encamine hacia una norma nacional, de ella a una Europea y finalmente a una ISO.

La especificación finalmente desarrollada se adjunta en el **ANEXO I** como un informe de BSI.

|

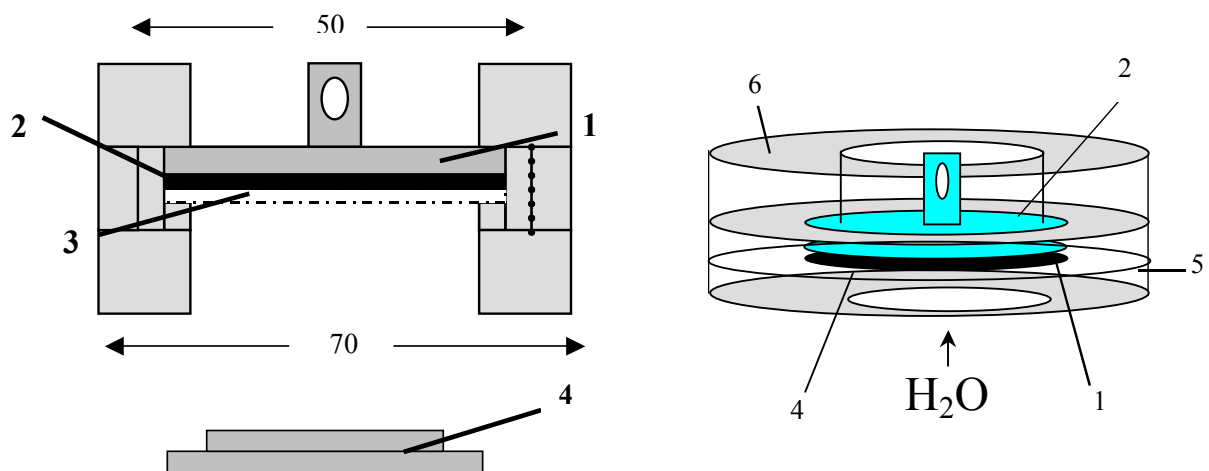
## **D. DISCUSIÓN INTEGRADORA DE RESULTADOS**

En los últimos años se han desarrollado nuevos métodos para el control de la calidad de las aguas, que reemplazan o en muchos casos complementan al muestreo puntual que proporciona la calidad del agua en el instante del muestreo. Entre las herramientas desarrolladas se encuentran los muestreadores pasivos. Estos dispositivos constan de una fase aceptora, con una alta afinidad por los contaminantes que se monitorizan, separada del medio acuático por una membrana de difusión. En la última década, en los laboratorios participantes en el proyecto, se han desarrollado una serie de muestreadores de bajo coste para la monitorización de contaminantes polares y apolares (triazinas, hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs), pesticidas organoclorados (OCPs), compuestos organometálicos (organoestánnicos) y metales pesados (Cu, Cd, Hg y Zn). La eficacia del muestreador para los distintos grupos de compuestos ha sido optimizada mediante la elección de una combinación óptima fase aceptora-membrana de difusión. La presente memoria se ha centrado en el estudio del muestreador para mercurio, metilmercurio y los compuestos organoestánnicos mono-, di- y tributilestaño; y trifenilestaño, cuyo comportamiento medioambiental y elevada toxicidad a muy bajo nivel de concentración son conocidos.

### ***D.1. Los muestreadores Chemcatcher***

Las leyes de difusión de Fick afirman que el flujo de una sustancia hacia un medio colector es proporcional al área a través de la cual tiene lugar la difusión e inversamente proporcional a la longitud del camino que debe recorrer. Por tanto, y si un muestreador pasivo obedece la ley de Fick, las dimensiones del muestreador afectarán de forma significativa a la velocidad de muestreo. En la fase de diseño del Chemcatcher (Proyecto MAPPS (1999-2002)) fueron optimizados tanto la geometría como los materiales utilizados para la construcción del cuerpo del muestreador.

Inicialmente, el prototipo fue construido en teflón (PTFE). El teflón presenta una baja capacidad de absorción de las especies y además es más denso que el agua lo cual facilita su inmersión. La superficie activa del muestreador es de 17.5 cm<sup>2</sup>. La *Figura 24* muestra el dispositivo de forma esquemática.



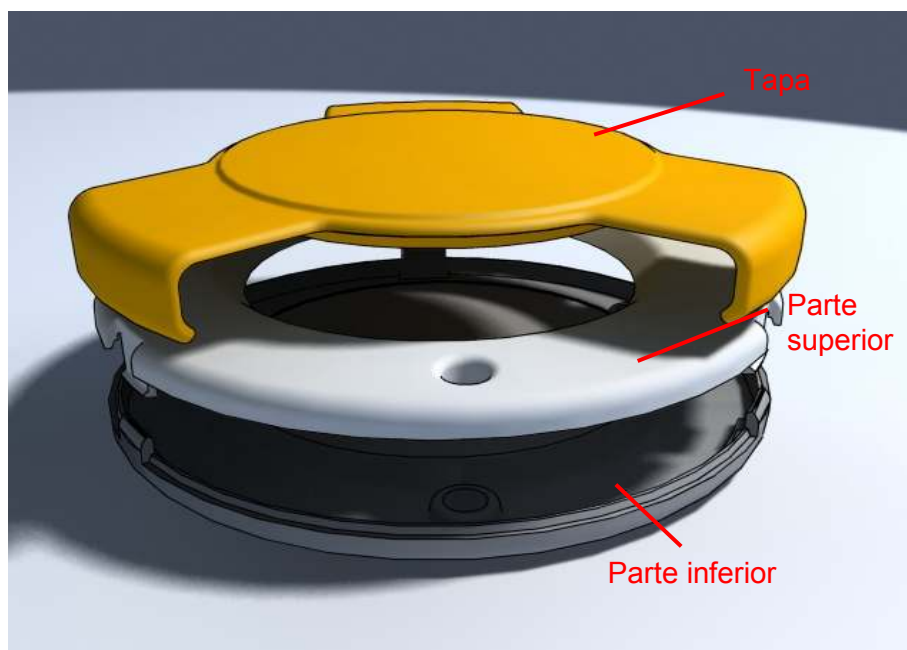
**Figura 24** Esquema del prototipo del Chemcatcher

Las membranasceptoras (1) previamente acondicionadas se depositan sobre un soporte de teflón de 50 mm de diámetro (2) en cuya parte superior existe un orificio para sujetar el muestreador durante su uso (3). Sobre el discoceptor se dispone la membrana de difusión (4) evitando que entre ambos queden burbujas de aire. Una vez cargado, el soporte se introduce cuidadosamente en la parte posterior del muestreador (6) y se atornilla el anillo frontal (5). Para el transporte del dispositivo montado se rellena de agua y se coloca una tapa sobre el anillo frontal. El cuerpo de PTFE puede ser reutilizado tras un proceso de limpieza. El prototipo inicial incluía una rejilla para proteger la membrana de difusión durante la campaña de muestreo, sin embargo su uso fue abandonado debido a que constituía un soporte para la acumulación de material particulado así como para la colonización biológica.

#### *D.1.1 Cuerpo desechable*

El diseño en PTFE (Proyecto MAPPS) constituyó la base para el diseño de un segundo prototipo (Proyecto STAMPS) de policarbonato formado por dos piezas y una tapa fácilmente ajustables. La *Figura 25* muestra el dispositivo en su forma actual. En este prototipo se mejora la geometría del muestreador reduciendo la cavidad existente entre el medio acuático y la membrana de difusión con el fin de facilitar la transferencia de masa, ya que se minimiza la capa de agua estacionaria en torno a dicha membrana. No es reutilizable como el de PTFE por lo que se evitan problemas de limpieza del cuerpo y por tanto de riesgos de contaminación cruzada. Otras ventajas

adicionales son la reducción de costes de fabricación y la facilidad de manejo del muestreador. Además el policarbonato puede ser reciclado.



**Figura 25** Esquema del nuevo dispositivo de policarbonato. Las membranas aceptora y de difusión se alojan entre la parte inferior y superior, respectivamente

## ***D.2. Desarrollo del Chemcatcher para mercurio, metilmercurio y organoestánicos***

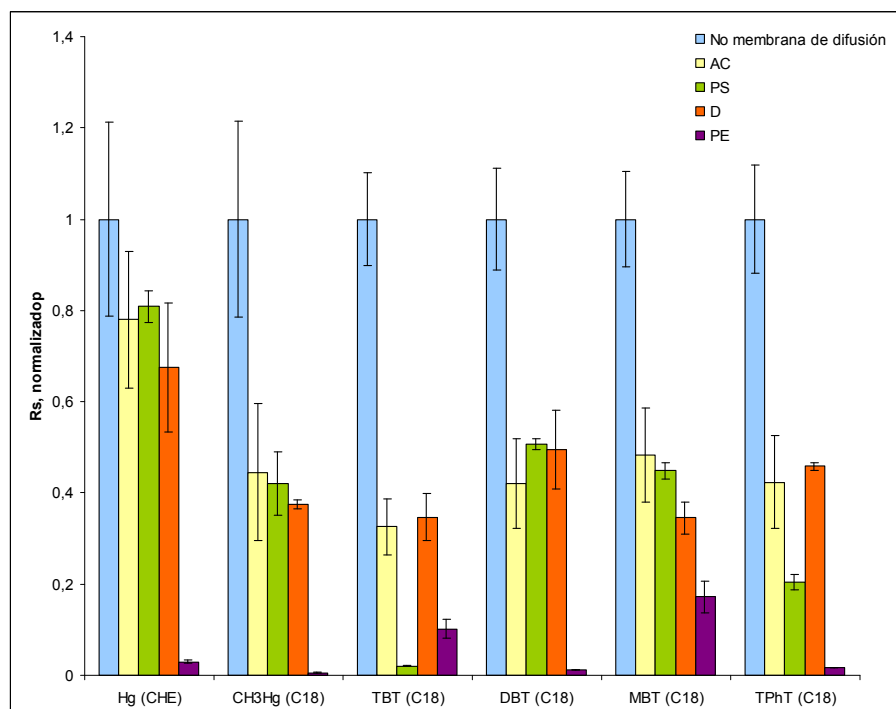
Para abordar este reto y, dada la escasa información de partida relativa al desarrollo de muestreadores pasivos acuáticos para estas especies, el trabajo se organizó del modo siguiente:

### *D.2.1. Elección de membranas y de la metodología analítica*

El primer paso para lograr este objetivo consistió en la búsqueda de los materiales más adecuados para su utilización como membranas aceptora y de difusión, seguido del establecimiento de un procedimiento eficaz para la extracción y cuantificación de las especies retenidas en la fase aceptora.

Membranasceptoras: Los discos de extracción EMPORE™ se han seleccionado como fasesceptoras en los muestreadores Chemcatcher ya que la existencia de una gran variedad de discos comerciales permite seleccionar una faseceptoras adecuada a las características de los diversos analitos. Para mercurio inorgánico, se seleccionan dos membranas basadas en distintos mecanismos de absorción. Una de ellas es una membrana quelatante con grupos iminodiacético y la segunda es el intercambiador catiónico SDB-RPS. Ambas membranas ya habían mostrado una gran capacidad de acumulación para metales como Cu, Cd, Ni, etc. Para metilmercurio y los compuestos orgánicos del Sn, se ensayaron las membranas C8 y C18.

Membranas de difusión: Considerando la naturaleza polar de los analitos, las membranas de difusión elegidas han sido acetato de celulosa (AC), poliétersulfona (PS) y celulosa regenerada (D). Además se ha verificado la baja capacidad de permeación del polietileno (PE) para los compuestos relativamente polares. La membrana de difusión actúa como una barrera semipermeable entre la faseceptoras y el medio acuático. Los analitos disueltos pueden pasar a través de ella, mientras que partículas, microorganismos y macromoléculas con tamaño mayor que el límite de exclusión no pueden permear. La *Figura 26* muestra el efecto del material de la membrana de difusión en la acumulación de Hg (II), CH<sub>3</sub>Hg<sup>+</sup>, MBT, DBT, TBT y TPhT en las fasesceptoras seleccionadas para los distintos analitos. La exposición se llevó a cabo disponiendo los muestreadores en el fondo del tanque de calibración durante 48 h a una concentración de 2 µg L<sup>-1</sup> para cada analito y a una temperatura de 11°C.



**Figura 26** Velocidades de muestreo ( $R_s$ ) normalizadas para las diferentes combinaciones fase aceptora-membrana de difusión ensayadas para los analitos. AC (Acetato de Celulosa), PS (Poliétersulfona), D (Celulosa regenerada) y PE (Polietileno). Concentración en el agua  $2 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $n=3$ )

El método aplicado a la extracción de mercurio fue dos extracciones sucesivas con 10 mL de HCl cc. con un baño de ultrasonidos durante 10 min. El uso de ácido concentrado demuestra la elevada capacidad de fijación del mercurio en todos los materiales ensayados. En el caso de los compuestos organoestánicos y metilmercurio el procedimiento optimizado fue 8 mL de una mezcla AcOH : MeOH (3:1, v/v) en un baño de ultrasonidos durante 10 min.

Como era de esperar por su naturaleza apolar, el polietileno impide la acumulación de todas las especies en la membrana aceptora, ya que todas ellas son especies polares. En el caso de la membrana de diálisis, se observa un buen comportamiento para todos los analitos. Sin embargo, no posee ni una alta resistencia física y ni frente al crecimiento biológico por lo que no podría ser utilizada durante tiempos de exposición prolongados.

En el caso del mercurio, tanto la membrana de poliétersulfona como la de acetato de celulosa presentan una buena capacidad de acumulación. Ensayos adicionales (Apartado IV.1 "Assessment of Chemcatcher passive sampler for the monitoring of mercury and organotin compounds in water") demostraron que la combinación de membranas óptima es quelatante-poliétersulfona (CHE-PS). Para los compuestos organoestánicos y metilmercurio fue C18-acetato de celulosa (C18-AC).

En ambos muestreadores, la membrana de difusión es de naturaleza hidrofílica y presenta una carga superficial negativa lo que minimiza el crecimiento biológico.

### *D.2.2. Calibración del muestreador para mercurio y compuestos organoestánicos*

#### *D.2.2.1 Acumulación*

La estimación del nivel acuático de una especie a través de los datos de acumulación sólo se consigue si el muestreador se calibra antes de su utilización.

La teoría general del muestreador pasivo ha sido descrita en el Capítulo II. Tal como se explicó, la acumulación del analito en la fase aceptora se produce mediante su transporte de masa desde el medio acuático a través de diversas barreras: agua estacionaria en torno al muestreador, la posible película de crecimiento biológico, la membrana de difusión y el medio líquido o gaseoso presente en la interfase membrana de difusión-fase aceptora. La *Figura 27* reproduce de forma esquemática la transferencia de masa entre las diferentes barreras. Durante la primera fase de la exposición la acumulación del analito es lineal. En estas condiciones la cantidad de analito en la fase aceptora es directamente proporcional al producto de la concentración en el agua ( $C_w$ ) y el tiempo de exposición ( $t$ ) a través de la ecuación:

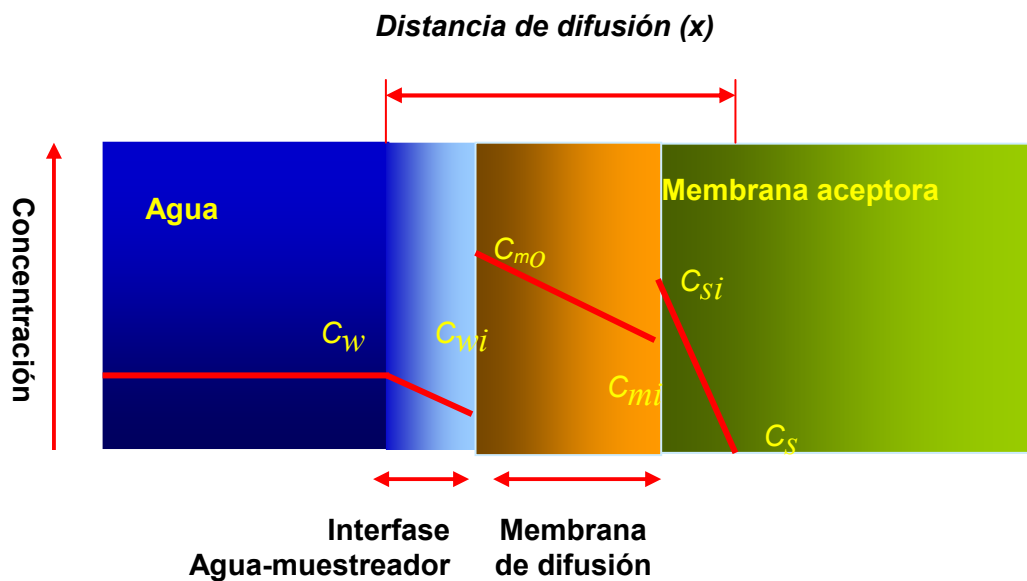
$$m_D(t) = m_0 + C_w R_s t \quad (14)$$

donde  $m_D(t)$  es la masa acumulada al tiempo de exposición  $t$ ,  $m_D(0)$  es la masa de analito a  $t=0$  y  $R_s$  la velocidad de muestreo.

$$R_s = k_{ov} A \quad (15)$$

en la que  $k_{ov}$  ( $m\ s^{-1}$ ) es el coeficiente global de transferencia de masa y  $A$  ( $m^2$ ) es la superficie de la membrana.

La velocidad de muestreo ( $R_s$ ) para cada analito se puede determinar experimentalmente bajo condiciones controladas de temperatura y turbulencia a una concentración constante.

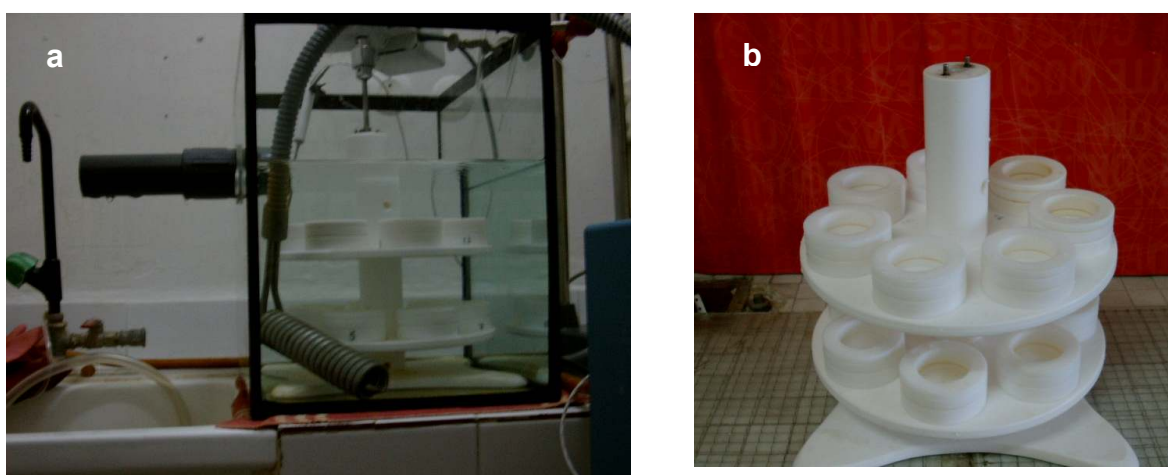


**Figura 27** Representación esquemática de la transferencia de masa agua-fase aceptora.  $C_w$ ,  $C_{m0}$  y  $C_s$  concentración analito en el agua, superficie de la membrana de difusión y de fase aceptora respectivamente;  $C_{wi}$ ,  $C_{mi}$  y  $C_{si}$  concentración en la interfase agua-membrana difusión, membrana de difusión-fase aceptora y en la superficie de la fase aceptora

La velocidad de acumulación de un analito es lineal hasta que el factor de concentración del muestreador ( $m_D(t) / C_w$ ) alcanza su semi-saturación. En condiciones ambientales, en las que la concentración en el agua cambia a lo largo del periodo de exposición, el término  $C_w$  representa la concentración promedio en el agua durante el tiempo de muestreo (TWA Time Weighted Average).

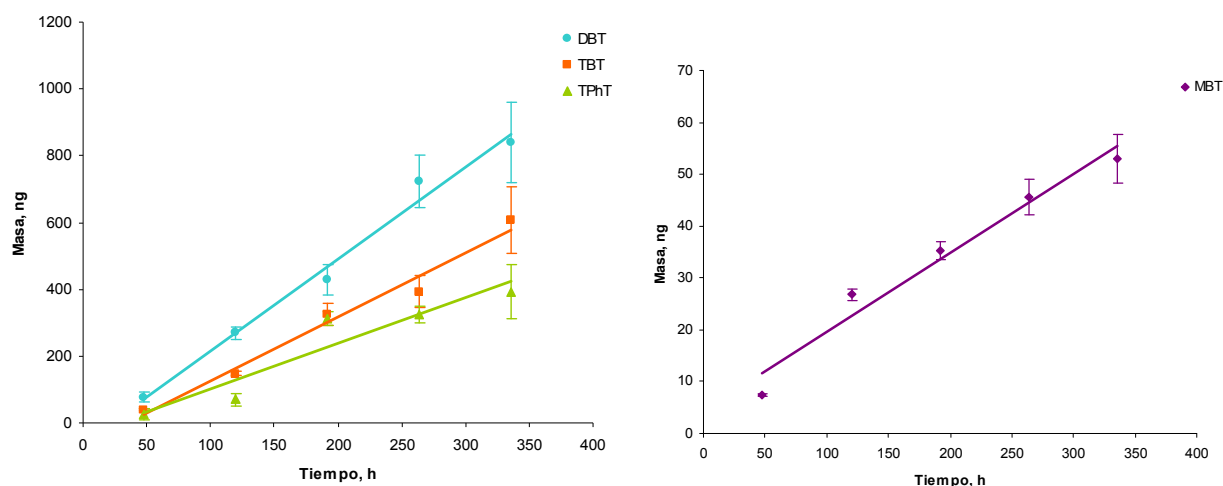
### D.2.2.2 Calibración

La calibración del muestreador se realiza para conocer el valor de  $R_s$  que permite calcular el término  $C_w$  de la ecuación (14), que a su vez representa TWA durante el periodo de muestreo. La *Figura 28* muestra el diseño del tanque donde se llevaron a cabo los experimentos de calibración para Hg, CH<sub>3</sub>Hg, MBT, DBT, TBT y TPhT. En estos experimentos los muestreadores se expusieron durante 14 días a una concentración de 400 ng L<sup>-1</sup> de cada analito. Los experimentos de calibración se diseñaron para caracterizar el efecto de las dos variables que más influyen en el intercambio del analito entre el agua y el muestreador: la temperatura y la turbulencia. Para ello se llevó a cabo un diseño factorial fijando tres niveles para cada factor. Así el efecto de la temperatura se ensayó a 4 °C, 11 °C y 18 °C. Para cada temperatura, se ensayó el efecto de la turbulencia a 0 (SL1), 40 (SL2) y 70 (SL3) cm s<sup>-1</sup>.



**Figura 28** *Tanque (a) y carrusel (b) para la calibración de los muestreadores*

En la mayoría de los experimentos, se obtuvo un ajuste satisfactorio de la ecuación (14) durante el periodo de exposición de 14 días para la mayoría de los compuestos, excepto metilmercurio. La *Figura 29* muestra un ejemplo de las curvas de acumulación para los compuestos organoestánicos. Las velocidades de muestreo de los analitos objeto de estudio son calculadas a partir de la pendiente de las curvas de acumulación y de las concentraciones nominales en el agua.



**Figura 29** Curvas de acumulación para TBT, DBT, MBT y TPhT para 14 días de exposición en el tanque. Las condiciones del agua fueron 18 °C, turbulencia intermedia (SL2, 40 rpm) y concentración en el agua 400 ng L<sup>-1</sup> (n=3)

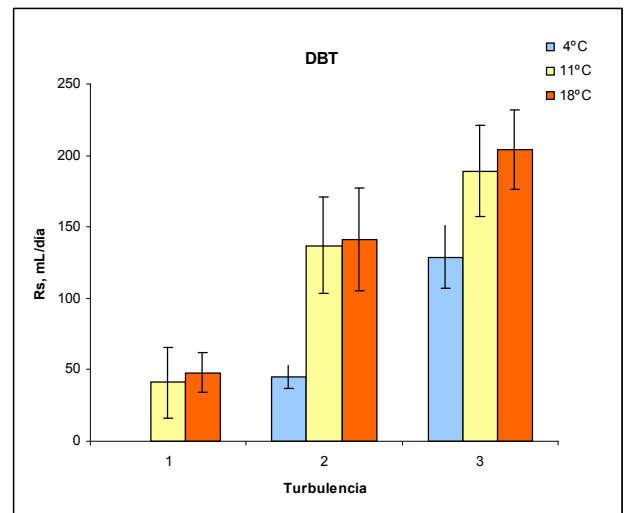
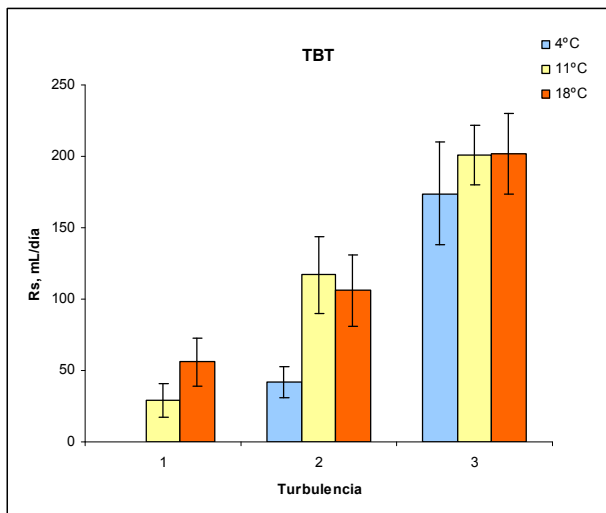
Cabe esperar que un aumento de la temperatura produzca una reducción en la viscosidad del agua, incluyendo el agua intersticial presente en la membrana de difusión, lo que favorecería la difusión agua-muestreador, también a través de la membrana de difusión, y finalmente la acumulación.

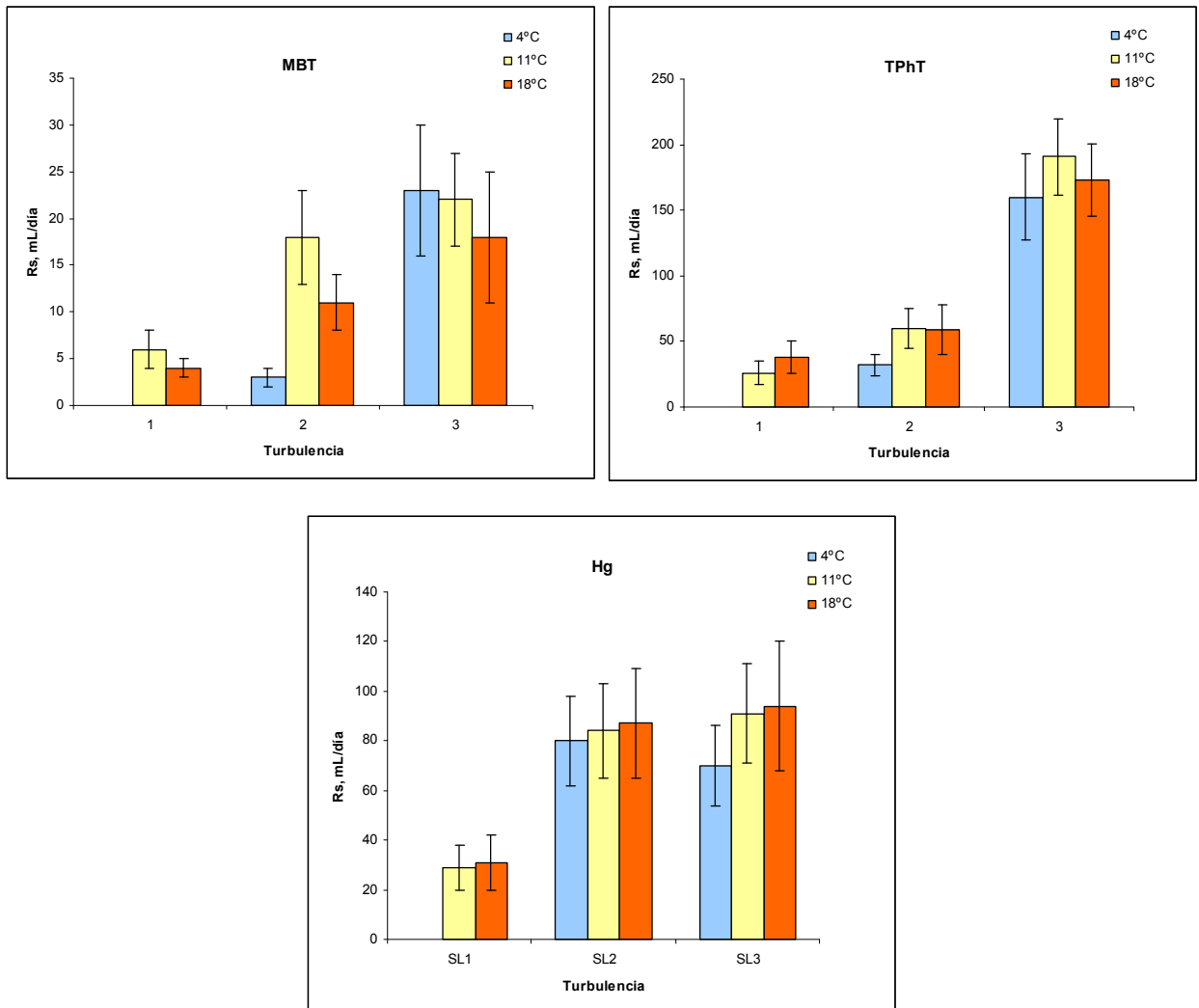
Con respecto a la turbulencia, cabe esperar que un aumento de la misma reduzca el espesor de la capa de agua estacionaria en torno al muestreador, lo que favorece la acumulación. Este hecho se aprecia en el caso de analitos orgánicos apolares (PCBs, PAHs, pesticidas) y algunos polares. La *Figura 30* muestra el efecto de la temperatura y de la turbulencia sobre  $R_s$  para mercurio y los compuestos orgánicos de estaño. La *Tabla 25* muestra los valores de  $R_s$  en las distintas condiciones estudiadas.

**Tabla 25** Velocidades de muestreo ( $R_s$ )  $\pm$  coeficiente de variación ( $n=3$ ) obtenidas en los experimentos de calibración. SL1: muestreadores en el fondo del tanque, SL2: carrusel a 40 rpm, SL3: carrusel a 70 rpm.

Compuesto	Nivel de agitación (turbulencia)	Velocidad de muestreo ( $R_s$ ) ( $\text{mL día}^{-1}$ )		
		Temperatura		
		4 °C	11 °C	18 °C
TBT	SL 1	*	29 $\pm$ 12	56 $\pm$ 17
	SL 2	42 $\pm$ 11	117 $\pm$ 27	106 $\pm$ 25
	SL 3	174 $\pm$ 36	201 $\pm$ 21	202 $\pm$ 28
DBT	SL 1	*	41 $\pm$ 25	48 $\pm$ 14
	SL 2	45 $\pm$ 8	137 $\pm$ 34	141 $\pm$ 36
	SL 3	129 $\pm$ 22	189 $\pm$ 32	204 $\pm$ 28
MBT	SL 1	*	6 $\pm$ 2	4 $\pm$ 1
	SL 2	3 $\pm$ 1	18 $\pm$ 5	11 $\pm$ 3
	SL 3	23 $\pm$ 7	22 $\pm$ 5	18 $\pm$ 7
TPhT	SL 1	*	26 $\pm$ 9	38 $\pm$ 12
	SL 2	32 $\pm$ 8	60 $\pm$ 15	59 $\pm$ 19
	SL 3	160 $\pm$ 33	191 $\pm$ 29	173 $\pm$ 28
Hg	SL 1	*	29 $\pm$ 9	31 $\pm$ 11
	SL 2	80 $\pm$ 18	84 $\pm$ 19	87 $\pm$ 22
	SL 3	70 $\pm$ 16	91 $\pm$ 20	94 $\pm$ 26

\* La velocidad de muestreo no fue estimada debido al lag-time





**Figura 30** Efecto de la temperatura y de la turbulencia sobre la velocidad de muestreo del Chemcatcher. La concentración para cada analito en el agua fue de  $400 \text{ ng L}^{-1}$ , las barras de error representan el coeficiente de variación de Rs ( $n=3$ )

A la vista de estas figuras y tablas, puede deducirse que es más acusado el efecto de la turbulencia que el efecto de la temperatura en la acumulación del analito. De hecho, para un mismo nivel de turbulencia, y para la mayoría de los analitos, no existen prácticamente diferencias significativas con la temperatura en el intervalo 10-20 °C, rango en el que se encuentran las principales aguas de interés para la monitorización de este tipo de analitos (aguas marinas o ríos contaminados).

Uno de los factores que afectan a la eficacia de un muestreador pasivo es el tiempo que necesita el analito para alcanzar la membrana aceptora. Este tiempo se conoce

como *lag-time*. Un elevado valor del *lag-time* hace que el muestreador no sea sensible a fluctuaciones en la concentración de analito, ya que su tiempo de respuesta sería muy elevado. En el caso que nos ocupa, se observa un marcado efecto del *lag-time* a 4 °C y al nivel de turbulencia más bajo (SL1), llegando incluso a la imposibilidad de establecer una velocidad de muestreo en esas condiciones. A 11 °C y al mismo nivel de agitación (SL1), el *lag-time* es de al menos 5 días, llegando a ser inferior a 1 día para turbulencias superiores. Los valores de *lag-time* obtenidos para una turbulencia baja indican que el mecanismo de acumulación dependería de la difusión de las especies a través de la interfase agua-muestreador, y en menor medida de la difusión a través de la membrana de difusión. Este hecho no inhabilita el uso del muestreador dado que tiene lugar en condiciones de turbulencia cero y temperaturas muy bajas, que no son representativas de las condiciones habituales de las aguas naturales.

Los volúmenes equivalentes de agua muestreados ( $R_s \times$  tiempo de exposición) en aguas no estancadas (SL2 y SL3) a 11 y 18 °C para 14 días de exposición se encuentran en el intervalo de 1.5-2.8 L para TBT, 1.9-2.9 L para DBT, 0.15-0.31 L para MBT, 0.8-2.7 L para TPhT y 0.98-1.27 L para Hg.

Resumiendo, los estudios de calibración llevados a cabo muestran una clara influencia de las condiciones ambientales en la velocidad de muestreo. El grado de influencia de las mismas depende de diversos factores tales como la estructura de la membrana de difusión o las propiedades físico-químicas de los analitos. En el caso del mercurio, el muestreador es menos sensible a cambios de temperatura y turbulencia que el diseño aplicado a compuestos organoestánicos, cuya velocidad de muestreo se ve muy afectada por la turbulencia. De las variables estudiadas la temperatura en el punto de muestreo es fácilmente monitorizable, mientras que la turbulencia o el biofouling no lo son, lo que condiciona la aplicación de las velocidades de muestreo estimadas principalmente en el caso de los compuestos organoestánicos. Para todos los analitos estudiados las velocidades de muestreo varían entre 3 y 204 mL día<sup>-1</sup>. Estos resultados son similares a los obtenidos en el desarrollo del Chemcatcher para metales, para los que los  $R_s$  estimados para Cd, Cu, Ni, Zn y Pd se encuentran en el rango 12-150 mL día<sup>-1</sup>, y cuyos estudios de calibración mostraron una influencia significativa de las variables hidrodinámicas. En el caso de compuestos orgánicos polares ( $\log K_{ow} < 3$ ) (triazina, simazina y atrazina), se obtienen  $R_s$  superiores (50-350 mL día<sup>-1</sup>) y una dependencia de la temperatura, aunque la influencia de las variables hidrodinámicas es

mucho menor que en el caso de los compuestos orgánicos apolares. Para ellos las velocidades de muestreo estimadas varían entre 8 y 1380 mL día<sup>-1</sup>, estando en el límite superior aquellos compuestos de menor tamaño y moderadamente apolares (log Kow 4-6) tales como antraceno, fenantreno, fluoreno y pireno.

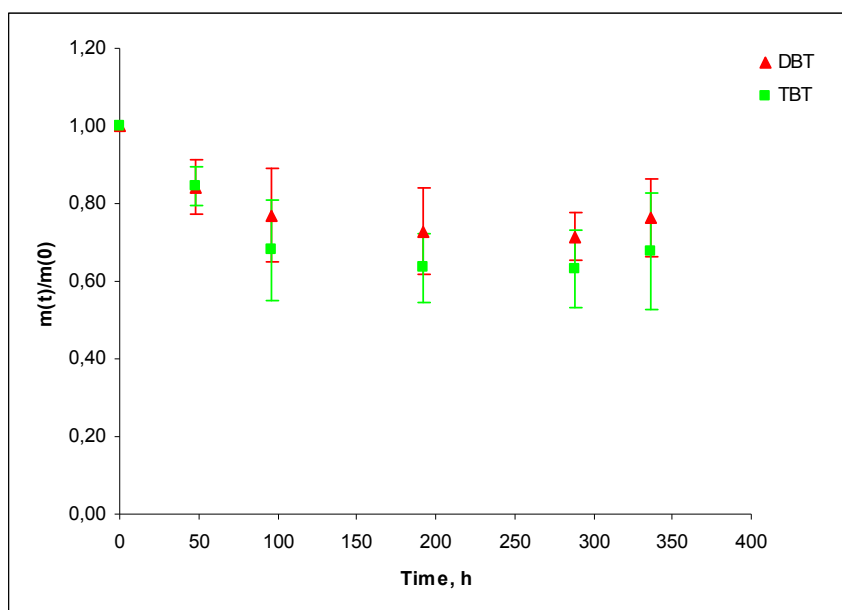
#### *D.2.2.3 Estudios de desorción*

Un estudio más realista con las condiciones medioambientales, implicaría no solo conocer el valor de la velocidad de muestreo resultante de la calibración en el laboratorio con una concentración de analito constante, sino conocer la razón de desorción ( $k_e$ ) en las mismas condiciones, cuando la concentración del analito decae en el medio que se monitoriza. Si  $R_s$  y  $k_e$  estuvieran afectados de la misma forma por las condiciones ambientales, la cinética de intercambio es isotrópica lo cual permitiría aplicar un modelo para estimar la verdadera velocidad de muestreo "in situ".

El modelo aplicado en este trabajo está basado en los estudios realizados por Huckins y col. para la monitorización de compuestos orgánicos apolares mediante SPMD. Así, el uso de una/s especie/s con propiedades físico-químicas similares a las sustancias objeto de estudio, previamente depositada/s sobre la membrana aceptora en una concentración conocida, y monitorizada al inicio y al final de la exposición, podría servir como patrón interno (Performance Reference Compound, PRC) del proceso de muestreo. Para que una especie pueda ser utilizada como PRC debe: presentar una afinidad intermedia por la membrana aceptora, poder ser cargada en la misma de forma reproducible, tener una afinidad baja por la membrana de difusión y su desorción ha de seguir un modelo exponencial de primer orden con el tiempo. Si las velocidades de acumulación y de desorción tienen una relación lineal se cumple el modelo propuesto, y se puede obtener la velocidad de muestreo "in situ" a partir de la masa de PRC remanente tras la exposición. Para cualquier compuesto, el mejor patrón interno sería él mismo, por lo que, si es posible, conviene utilizar derivados marcados o enriquecidos isotópicamente de la especie a monitorizar o incluso podría ser utilizado un solo PRC que sea representativo de un grupo de compuestos.

Para los compuestos organoestánicos, existía la posibilidad de utilizar TBT, DBT y MBT enriquecidos isotópicamente como PRCs. Los estudios se llevaron a cabo mediante la carga de la membrana de C18 con 500 ng de cada compuesto

organoestánnico. La *Figura 31* muestra las curvas de desorción para el di- y tributilestaño a 18 °C y nivel de turbulencia intermedio.



**Figura 31** *Curvas de desorción para TBT y DBT a 18 °C y nivel de turbulencia intermedio (SL2),  $m(t)$  es la masa de analito a tiempo  $t$ , y  $m(0)$  es la masa de analito inicial en el disco (500 ng de cada compuesto como Sn)*

Los perfiles de desorción en todos los casos estudiados muestran una rápida pérdida de masa de analito (20-30%) durante las primeras 48-96 horas, y posteriormente se alcanza un estado estacionario en el que la masa remanente tras 14 días de exposición es de aproximadamente el 70%. Este estudio revela dos mecanismos de fijación de las especies a la fase aceptora, uno más lábil que sería el desorbido en las primeras horas, y otro más fuerte en el que podrían estar implicados además del C18, el propio soporte del grupo funcional. Este comportamiento invalidaría el uso de TBT, DBT y MBT enriquecidos como PRCs debido a que no existe un comportamiento isotrópico entre acumulación y desorción. Una situación similar fue observada en el desarrollo del Chemcatcher para compuestos orgánicos polares que presentaban un comportamiento anisotrópico, contrariamente a lo obtenido para compuestos apolares.

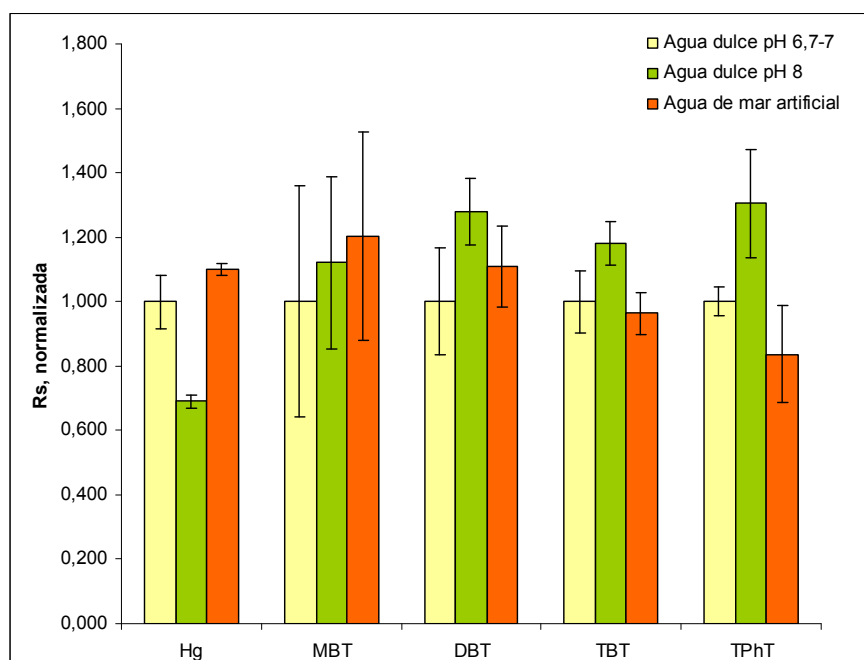
Un isótopo enriquecido de mercurio inorgánico, tampoco puede emplearse como PRC para estimar la velocidad de muestreo "in situ" ya que la elevada afinidad que presenta

la membrana quelatante por este analito, impide su desalojo incluso en condiciones extremas. Este hecho también se pone de manifiesto en el caso del Chemcatcher desarrollado para metales, en el que se utiliza la misma membrana aceptora quelatante.

### *D.2.3. Efecto del pH, de la salinidad y del crecimiento biológico*

Las velocidades de muestreo se han determinado en agua dulce y por tanto a pH en torno a 7. No obstante, se ha estudiado la aplicación del Chemcatcher en otros tipos de ecosistemas acuáticos. Para ello es necesario conocer si existen grandes variaciones de la velocidad de muestreo ( $R_s$ ) en función del pH y de la salinidad del medio. En el caso del Chemcatcher para compuestos organoestánicos, el efecto de la salinidad presenta un gran interés debido a que estas especies son objeto de estudio principalmente en el agua marina debido a su aplicación como agentes biocidas en pinturas para barcos. En la *Figura 32* se muestra el efecto del pH y de la salinidad para los analitos estudiados.

La velocidad de muestreo se normalizó con respecto a la calculada en condiciones normales (agua dulce a pH  $\approx 7$ ).



**Figura 32** Efecto de la salinidad y del pH sobre  $R_s$  normalizada respecto a agua dulce a pH 6-7. Temperatura 11 °C, SL1, 96 h exposición y  $C_w = 2 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $n=3$ )

En el caso de la salinidad y del pH para compuestos organoestánicos a excepción del TPhT, no se observan diferencias significativas entre el agua dulce y salada para ninguna de las especies estudiadas, por lo que se pueden emplear las velocidades de muestreo calculadas en la calibración para aplicar el muestreador en el mar. Sin embargo, sí se observa un efecto del pH en el caso del mercurio. Para este analito se produce una reducción de la acumulación con el aumento del pH. Probablemente, un aumento del pH favorece la formación de complejos de mercurio hidroxilados de mayor tamaño lo que implicaría una menor acumulación, ya que no está favorecido el paso de la especie por la membrana de difusión debido al tamaño del poro. Sin embargo, en el caso de las aguas marinas la posible formación de complejos clorados favorece la acumulación.

Además de la turbulencia y de la temperatura, existe una tercera variable ambiental que afecta a la velocidad de muestreo: el crecimiento biológico. Este fenómeno produce un engrosamiento de la membrana de difusión que ralentiza la difusión. Como se indicó en el apartado anterior, el crecimiento biológico se puede prevenir mediante la utilización de materiales con alta resistencia al mismo. Aunque es difícilmente cuantificable, el efecto de esta variable ha sido estudiado en el tanque de calibración mediante la construcción de muestreadores cuyas membranas de difusión han sido previamente colonizadas mediante su inmersión durante 15 días en un agua natural con una elevada actividad biológica tal como muestra la *Figura 33*. Posteriormente, los muestreadores con crecimiento biológico se expusieron en el tanque durante 7 días a 18 °C, al nivel de turbulencia más bajo y a 500 ng L<sup>-1</sup> de cada analito. Los resultados mostraron una reducción de la acumulación entre 10 y 25%. Esta reducción no es tan acusada como la que tiene lugar en otros dispositivos, aunque sí indica que no se deberían aumentar los tiempos de exposición para evitar un incremento en el crecimiento biológico. Los estudios en campo realizados con los muestreadores diseñados mostraron una colonización de las membranas de difusión relativamente baja en agua marina y, un poco más elevada en agua de río y/o pantano



**Figura 33** *Colonización de las membranas para el estudio de crecimiento biológico*

#### *D.2.4. Estabilidad de los analitos en el Chemcatcher*

Una de las ventajas de los muestreadores pasivos es que permiten la estabilización de las especies muestreadas debido a que se minimiza el riesgo de interconversión de las especies y las pérdidas relacionadas con absorción en las paredes del contenedor, debido a la inmovilización de las especies en la fase aceptora. A diferencia de las muestras tomadas de forma convencional no es necesario añadir agentes estabilizantes. Como es habitual la extracción y análisis de las membranas no se realiza de forma inmediata una vez finalizada la exposición del Chemcatcher, lo que hace necesario establecer las condiciones y el tiempo de almacenamiento óptimos para minimizar pérdidas o degradación de las especies.

La estabilidad de las especies muestreadas ha sido estudiada para los compuestos organoestánicos, dado que la susceptibilidad de pérdidas del mercurio muestreado se podría considerar despreciable debido a una fuerte retención en la membrana quelatante. Para los compuestos organoestánicos no se observan pérdidas significativas ni transformación de las especies durante al menos 10 días si los muestreadores son transportados refrigerados a 4 °C desde el punto de muestreo (3 días) y una vez en el laboratorio las membranas aceptoras se conservan a -18 °C (7 días).

Paralelamente, se establecieron las condiciones de almacenamiento del mercurio y de los compuestos organestánicos en las muestras tomadas de forma manual. Así para todas las especies las muestras son recogidas en botellas de cristal y se estabilizan con  $\text{HNO}_3$  / ácido acético (0.1% v/v) para mercurio y organoestánicos respectivamente, y se almacenan refrigeradas a 4 °C. En estas condiciones las muestras son estables durante al menos 14 días para mercurio y 7 días para compuestos organoestánicos.

#### *D.2.5. Sensibilidad*

Los límites de detección y de cuantificación alcanzados con el Chemcatcher dependen de la velocidad de muestreo ( $R_s$ ) y consecuentemente, de las variables ambientales (temperatura y turbulencia), del tiempo de exposición y de la sensibilidad de la técnica analítica de determinación.

El límite de detección global del método se calcula como la mínima concentración acuática ( $C_w$ ) capaz de ser detectada por el Chemcatcher tras 14 días de exposición. Este valor es calculado sustituyendo el límite de detección instrumental para un muestreador blanco (calculado como 3 veces la desviación estándar de la medida de 10 réplicas) en el término  $m_D(t)$  de la ecuación (14) y utilizando las diferentes  $R_s$  estimadas. Considerando estos factores, los límites de detección alcanzados varían entre 2.2-2.9  $\text{ng L}^{-1}$  para mercurio, 0.3-2.1  $\text{ng L}^{-1}$  para TBT, 0.2-1  $\text{ng L}^{-1}$  para DBT, 1.0-5.6  $\text{ng L}^{-1}$  para MBT y 1.4-7.5  $\text{ng L}^{-1}$  en el caso de TPhT, en el intervalo de temperaturas y turbulencias estudiados. Para todas las sustancias estos valores son lo suficientemente bajos para la cuantificación de los niveles ambientales de las especies. Con las técnicas clásicas de muestreo por puntos, estas concentraciones solo son alcanzadas mediante el procesamiento de grandes volúmenes de agua y la aplicación de técnicas de preconcentración, o bien haciendo uso de técnicas de dilución isotópica lo que incrementa el coste económico del análisis y requiere una alta capacitación del analista.

La Directiva Marco de Aguas (WFD) establece criterios severos para los límites de detección de las metodologías analíticas utilizadas, que deben presentar una sensibilidad del orden del 30% del nivel ambiental del contaminante que se analiza. El muestreador desarrollado en algunos casos donde la contaminación es muy baja no alcanza la sensibilidad requerida. Para abordar estos casos sería necesario modificar el

diseño del muestreador, la introducción de una etapa de preconcentración adicional tras la extracción o bien el incremento del tiempo de exposición. No obstante, los límites de detección obtenidos son inferiores a los establecidos por la US-EPA.

### ***D.3. Control de calidad***

La aplicación de procedimientos de control de calidad adecuados es primordial para el uso de cualquier muestreador pasivo. Se debe tener un control sobre la posible contaminación de la fase aceptora bien debido a su propia fabricación, o la derivada de su transporte, exposición, almacenamiento, extracción y análisis.

Existen dos tipos de muestreadores para el control de calidad: blancos de fabricación y blancos de exposición. Los primeros se preparan paralelamente a los muestreadores que van a ser expuestos, y se almacenan en el laboratorio rellenos de agua Mili-Q durante la campaña de muestreo. Estos blancos contemplan la contaminación derivada de la manipulación en el laboratorio y la procedente de los reactivos. Los blancos de exposición son muestreadores que son transportados al punto de muestreo junto a los muestreadores de medida, y que son expuestos al ambiente tanto al inicio como al final del muestreo. Por tanto estos blancos permiten estimar la contaminación debida al transporte. Durante los 14 días que dura el muestreo, los blancos de exposición son almacenados refrigerados y rellenos de agua Mili-Q.

En el caso de los compuestos organoestánicos, el blanco de las membranas de difusión acetato de celulosa y de la membrana aceptora de C18 se encuentra por debajo del límite de detección de las técnicas analíticas empleadas. No sucede lo mismo para mercurio, para el que la contribución al blanco de la membrana quelatante es significativa, mientras que el de la membrana de poliétersulfona se encuentra por debajo del límite de detección. La presencia de trazas de mercurio en la membrana quelatante (CHE) antes del proceso de acondicionamiento implica una contaminación en el proceso de fabricación de las mismas. El blanco debido a la membrana quelatante se ha minimizado mediante la aplicación de una etapa de lavado con HCl 6 M y ultrasonidos previa a la etapa de acondicionamiento. Otro de los fenómenos comunes en la determinación de mercurio ambiental es la presencia de trazas de este analito en la mayoría de los ácidos, por lo que se tomó la precaución de utilizar

reactivos con bajo contenido en mercurio para el acondicionamiento y extracción del analito de las membranas quelatantes.

La confianza en los resultados obtenidos también depende del número de réplicas utilizadas. Así, en los estudios de evaluación de membranas y de calibración se utilizaron 3 réplicas, de 4 a 6 membranas en estudios de campo y 2 a 3 blancos de cada clase. En todos los casos se obtuvo una reproducibilidad entre el 10 y el 20%.

La estimación de la concentración en el agua de los analitos estudiados a través del Chemcatcher se efectúa haciendo uso de la velocidad de muestreo obtenida en los estudios de calibración, por tanto para demostrar la validez de las velocidades de muestreo es necesario validar la propia calibración mediante un estudio interlaboratorio. Este estudio se llevó a cabo para Cu y Cd cuyas velocidades de muestreo fueron calculadas en dos experimentos a 18 °C, para una turbulencia de 50 cm s<sup>-1</sup> y una concentración de 100 µg L<sup>-1</sup> para cada especie. La precisión en las velocidades de muestreo entre experimentos, realizados dentro de un laboratorio, fue inferior al 20 % para los dos analitos, sin embargo la obtenida entre los diferentes laboratorios fue del 22 % para Cd y del 23 % para Cu. Esta variabilidad entre laboratorios podría estar relacionada con la dificultad para mantener la concentración fijada en el agua. A pesar de la variabilidad reflejada en el error asociado a Rs, los resultados obtenidos permiten validar los estudios de calibración debido a que no se deben establecer criterios estadísticos muy estrictos considerando, que los estudios de calibración se llevan a cabo mediante un sistema dinámico sujeto a múltiples variables difícilmente controlables.

La metodología empleada para la determinación de los compuestos organoestánicos (GC-ICP-MS y GC-FPD) fue validada mediante la participación en un ejercicio de intercomparación organizado por la Universidad de Oviedo. En él se llevó a cabo la determinación de MBT, DBT y TBT en una muestra problema. Los resultados obtenidos para todos los analitos fueron todos satisfactorios según el criterio estadístico aplicado (z-score) para un valor de consenso estimado, lo que incrementa la confianza en los resultados obtenidos mediante ambas técnicas.

La capacidad de esta nueva herramienta de muestreo se ha plasmado en el desarrollo de una norma a través de un organismo independiente como es el Instituto Británico para la Normalización (BSI PAS).

#### ***D.4. Aplicaciones del muestreador***

La efectividad del Chemcatcher fue evaluada mediante su aplicación en diversos ecosistemas acuáticos europeos. Los puntos de muestreo estudiados incluyen dos puertos (Alicante y Portsmouth), dos ríos españoles (Cinca y Valdeazogues), dos europeos (Alna (Noruega) y Meuse (Holanda)), un estuario británico (Ribble), un pantano (Madrid) y una planta de tratamiento de aguas en Holanda (Velsen). Todos estos puntos se encuentran próximos a zonas de actividad industrial, minera y / o elevado tráfico marítimo comercial o de recreo. Para cada punto de muestreo se prepararon 11 muestreadores: 3 blancos de fabricación, 2 blancos de campo y 6 muestreadores para los estudios de campo. Estos muestreadores se sumergieron de 0.5 a 1 m atados a una barra de acero inoxidable durante 14 días tal como aparece en la *Figura 34*.



**Figura 34** *Disposición aplicada para la inmersión de los muestreadores*

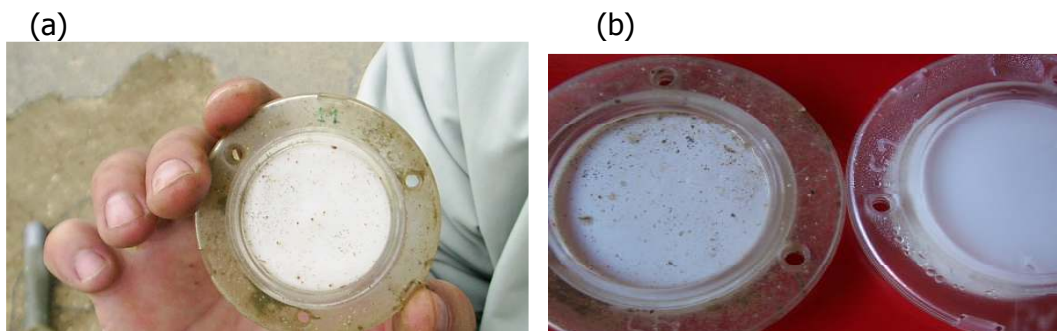
Paralelamente se tomaron muestras puntuales de agua con una frecuencia variable durante los 14 días de exposición. La temperatura fue medida en cada una de las visitas al punto de muestreo, y se realizó una estimación visual de la turbulencia para poder determinar qué velocidad de muestreo de la calibración era la más representativa de las condiciones del medio.

Tras los 14 días de exposición no se observó crecimiento biológico en las membranas de difusión a excepción de los muestreadores expuestos en el río Alna, tal como muestran las siguientes fotografías.



**Figura 35** Apariencia del Chemcatcher tras 14 días de exposición en el río Alna (Noruega)

Para el resto de las localizaciones, solo se observaron ligeros depósitos de sedimento, como muestran las imágenes de la *Figura 36*. Las membranas de difusión utilizadas, acetato de celulosa y poliétersulfona, presentan una carga superficial negativa lo que minimiza el "biofouling".



**Figura 36** Apariencia del Chemcatcher tras 14 días de exposición en el puerto de Alicante (a) y en el río Cinca (Huesca)

En cuanto a los resultados obtenidos, se pueden extraer las siguientes conclusiones:

#### *D.4.1. Resultados obtenidos para compuestos organoestánicos*

##### *D.4.1.1 Muestreo por puntos:*

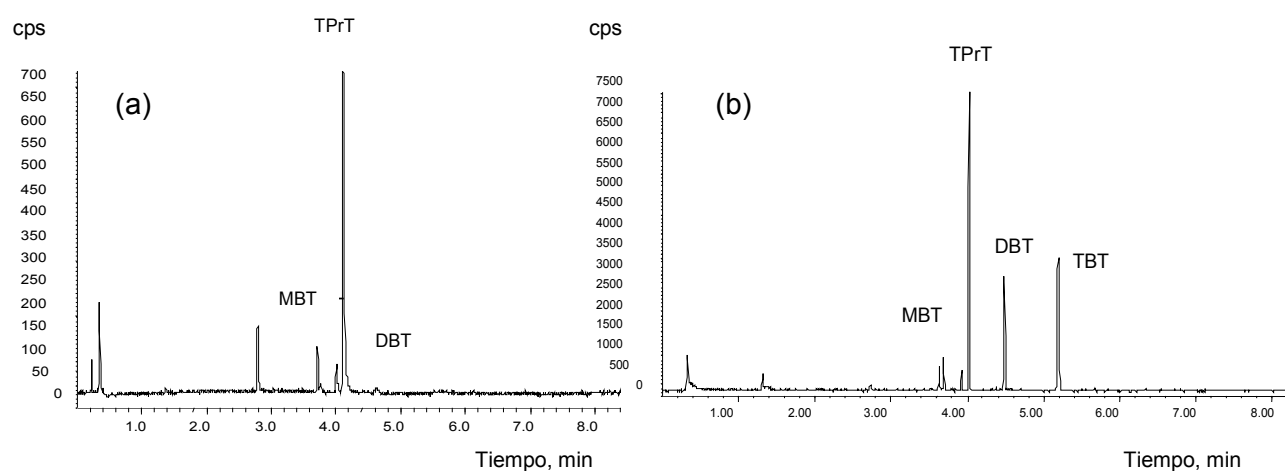
Estos compuestos fueron monitorizados en el puerto de Alicante, el de Portsmouth, en el estuario navegable del río Ribble, en el pantano de San Juan y en la planta de tratamiento de aguas de Velsen.

Solo el MBT pudo ser determinado en todos los puntos de muestreo, lo que confirma el mayor tiempo de residencia de esta especie en la columna de agua. En general los niveles de compuestos organoestánicos encontrados en los puertos y en el estuario (MBT: 4.6-13.5 ng L<sup>-1</sup>, DBT: <l.d.-33.6 ng L<sup>-1</sup>, TBT: <l.d.-12.3 ng L<sup>-1</sup>) correspondían a aguas moderadamente contaminadas, aunque en niveles inferiores a los encontrados en otros puertos, y eran superiores a los hallados en agua dulce. En el caso de Portsmouth y del estuario del Ribble, el muestreo se llevó a cabo en dos localizaciones: dentro y fuera de los muelles, observándose dependencia espacial de las concentraciones encontradas. Así, en los puntos dentro de los muelles, en los que la influencia de las mareas es más leve, los niveles eran más elevados. Este hecho confirmó la fuente de TBT a las aguas como aditivo en las pinturas del casco de los barcos, y la presencia de DBT y MBT como sus productos de degradación. Además, la relación entre TBT y sus productos de degradación MBT y DBT reveló una moderada-alta degradación del TBT sin que se hubiera producido una contaminación reciente.

Para el pantano de San Juan, a pesar de existir un puerto deportivo en el que la permanencia de las embarcaciones es alto, el TBT se encontró por debajo del límite de detección, y los niveles de DBT y MBT eran muy bajos. Finalmente, en el caso de la planta de tratamiento de aguas de Holanda la concentración de MBT fue más alta que la encontrada en las muestras de agua de mar.

#### D.4.1.2. *Chemcatcher:*

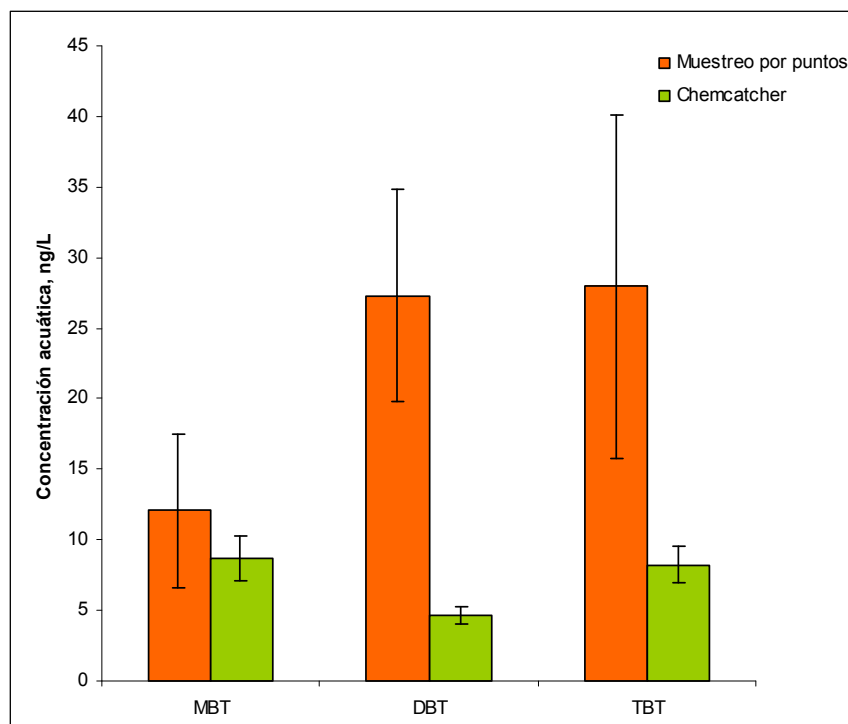
La *Figura 37* muestra un estudio comparativo de los cromatogramas resultantes del muestreo llevado a cabo en el puerto de Alicante: (a) muestra puntual tomada el último día de exposición de los muestreadores, y (b) las especies que se acumularon en el muestreador Chemcatcher tras los 14 días de exposición. En ambos cromatogramas aparece la especie TPrT empleada como patrón interno.



**Figura 37** Cromatogramas de GC-ICP-MS obtenidos para las muestras puntuales tomadas en el puerto de Alicante el último día de muestreo (a) y para el Chemcatcher tras 14 días de exposición (b)

Como puede observarse, la capacidad preconcentradora del muestreador permite detectar el TBT presente, la cual no puede apreciarse en la muestra puntual (cromatograma (a)) bien por falta de sensibilidad de la técnica o por ausencia de la misma.

Sin embargo, la concentración promedio estimada mediante el Chemcatcher (TWA), a excepción del MBT, es inferior a la obtenida para muestreo por puntos tal como muestra la *Figura 38*.



**Figura 38** TWA estimada con el Chemcatcher ( $n=6$ ) comparada con la concentración media medida a través de las muestras tomadas (Spot) en el puerto de Alicante durante los 14 días de muestreo

Este es un hecho común en todos los muestreadores pasivos y puede ser debido a dos motivos. El primero radica en la diferencia entre la fracción muestreada en ambos tipos de técnicas. Las especies estudiadas no se encuentran en forma iónica en el medio, sino que se encuentran unidas a la materia orgánica, material particulado, ácidos húmicos y fúlvicos, o bien formando complejos de diversos tamaños. En el caso del Chemcatcher las especies acumuladas son aquellas capaces de atravesar la membrana de difusión, por lo que solo puede ser estimada la fracción lábil o biodisponible de las especies. El segundo motivo es la fluctuación en la concentración de las especies durante los 14 días de exposición, lo cual hace que la comparación entre la concentración media estimada por muestreo por puntos y la calculada por el Chemcatcher no sea representativa. A pesar de estas diferencias la aplicación del

Chemcatcher ha demostrado el potencial del muestreador desarrollado para la monitorización de mercurio, MBT, DBT, TBT y TPhT en aguas.

La *Tabla 26* muestra los resultados obtenidos para las diferentes especies en los distintos puntos de muestreo utilizando las dos metodologías de muestreo. En todos los casos en los puntos cuyas características favorecen la presencia de compuestos organoestánicos, se observan mayores concentraciones de las especies en ambas técnicas de muestreo, tal como ocurre en las zonas portuarias.

Además de los puntos de muestreo mencionados, los compuestos organoestánicos fueron monitorizados en el río Alna (Noruega) y en el Meuse (Holanda) en los que todas las especies se encontraban por debajo del límite de detección tanto en el muestreo por puntos como en el Chemcatcher.

**Tabla 26** Concentración de los compuestos organoestánicos en los distintos puntos de muestreo mediante muestreo puntual (Spot) y Chemcatcher (l.d= límite de detección)

Localización	Descripción	MBT		DBT		TBT	
		Spot (ng L <sup>-1</sup> )	Chemcatcher (ng L <sup>-1</sup> )	Spot (ng L <sup>-1</sup> )	Chemcatcher (ng L <sup>-1</sup> )	Spot (ng L <sup>-1</sup> )	Chemcatcher (ng L <sup>-1</sup> )
Alicante	Puerto comercial	12.1±5.4	8.7±4.4	27.3±7.6	4.6±1.3	12.3±4.5	8.2±2.2
Portsmouth punto1	Puerto comercial	7.9 ±4.2	6.1±1.5	<l.d	1.7±0.6	<l.d	4.7±1.8
Portsmouth punto 2	Puerto comercial	12.7±4.5	7.8±0.8	30.0±12.0	2.3±0.4	6.23±1.2	4.2±0.7
Velsen	Planta de tratamiento de aguas residuales	13.8±2.5	13.0±4.0	<l.d	2.6±0.9	<l.d	4.7±1.8
Pantano de San Juan	Puerto recreativo	4.0±2.0	9.1±0.5	9.0±5.0	2.6±0.3	<l.d	<l.d
Ribble punto 1	Estuario	4.6±0.5	<l.d	<l.d	2.1±0.1	<l.d	4.4±0.3
Ribble punto 2	Estuario	13.5±7.0	6.0±1.4	33.6±10.4	4.8±0.4	9.1±1.9	6.4±0.8

D.4.2. *Resultados obtenidos para mercurio*D.4.2.1. *Muestreo por puntos:*

El mercurio fue monitorizado en el río Cinca, en dos puntos del río Valdezogues, en el pantano de San Juan y en el puerto de Alicante. Los dos primeros ríos discurren por zonas con una alta actividad industrial y minera. La *Tabla 27* recoge los resultados obtenidos en las diferentes localizaciones tanto para el muestro por puntos como para la estimada mediante el Chemcatcher.

**Tabla 27** *Concentración de mercurio inorgánico en los distintos puntos de muestreo mediante muestreo puntual (Spot) y Chemcatcher (l.d= límite de detección)*

Localización	Descripción	Spot (ng L <sup>-1</sup> )	Chemcatcher (ng L <sup>-1</sup> )
Alicante	Puerto comercial	<l.d	27.2±6.9
Pantano de San Juan	Puerto recreativo	17.0±3.2	8.8±0.5
Río Cinca	Industria química	260±30	19.1±4.3
Río Valdezogues punto 1	Mina de cinabrio	<l.d	10.7±1.9
Río Valdezogues punto 2	Mina de cinabrio	472±58	92±18

En el río Cinca, a su paso por la localidad de Monzón los niveles de mercurio encontrados (260 ng L<sup>-1</sup>) exceden los medidos en el periodo 2002-2005 en la misma localidad (100-50 ng L<sup>-1</sup>). Este aumento puede ser debido a los continuos vertidos procedentes de la actividad industrial desarrollada en la zona. Esta actividad está sujeta a fluctuaciones, por lo que sería recomendable una monitorización continua de mercurio para obtener una visión más representativa de la problemática derivada de la contaminación por mercurio.

El río Valdezogues discurre por la zona minera de Almadén, en la que operaba una de las explotaciones más importantes de mercurio a nivel mundial. A pesar del cese de su actividad en el año 2002, las concentraciones halladas (<l.d - 472 ng L<sup>-1</sup>) son análogas a las medidas en el periodo 1995-1997 (<l.d - 620 ng L<sup>-1</sup>) en el que se encontró una

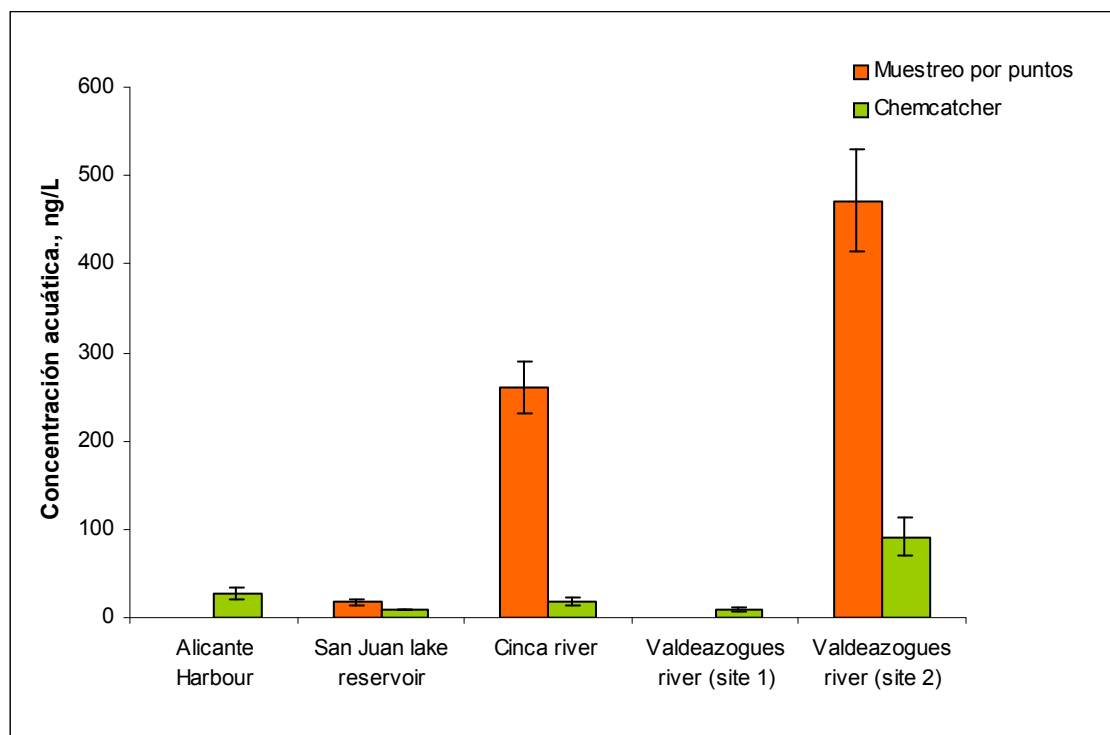
alta variabilidad espacial y temporal. Esta variabilidad también se puso de manifiesto en el estudio realizado entre las dos localizaciones estudiadas e incluso para un mismo punto en dos tiempos diferentes.

Las concentraciones encontradas en el Cinca y en el Valdeazogues (sitio 2, 472 ng L<sup>-1</sup>) son superiores a las de otros ríos europeos. Esta variabilidad dificulta la obtención de una visión representativa del estado del agua si no se llevan a cabo frecuentes campañas de muestreo. No obstante excepto para una localización, los niveles estimados se encontraban por debajo de los máximos fijados por la UE, WHO y la EPA.

#### D.4.2.2. Chemcatcher:

Al igual que para los compuestos organoestánicos, el Chemcatcher presenta una alta reproducibilidad en la acumulación y su capacidad preconcentradora permite la estimación de mercurio en aquellos puntos de muestreo en los que se encuentra por debajo del límite de detección en las muestras puntuales (puerto de Alicante y sitio 1 río Valdeazogues). Además, también se observa una acusada diferencia entre los niveles estimados por el muestreador y el muestreo puntual tal como muestra la *Figura 39*. Este hecho, en el caso de los ríos, podría estar relacionado con la naturaleza alcalina de sus aguas, factor que reduce la biodisponibilidad del mercurio. Además, en los tres puntos de muestreo de agua dulce existe un elevado porcentaje de materia orgánica y material en suspensión capaz de unirse al mercurio. El mercurio inorgánico en las aguas aerobias no se encuentra como ion libre, sino que se encuentra formando hidroxí- y/o cloro complejos en función del pH y de los niveles de cloruro. Otra fracción se encuentra unida a materia orgánica disuelta y a los ácidos húmicos. En lagos, aproximadamente el 95% del mercurio se encuentra unido a materia orgánica. En el caso del agua marina se encuentra unido a sulfuros.

En todos los puntos de muestreo el porcentaje de mercurio disuelto con respecto al mercurio total obtenido mediante muestreo puntual es aproximadamente el 20%, lo cual está en concordancia con los datos reportados para el río Lot-Garone en Francia, en el que los niveles de mercurio disuelto varía entre 7-53%.



**Figura 39** TWA estimada con el Chemcatcher ( $n=6$ ) comparada con la concentración media medida a través de las muestras tomadas en los diferentes puntos de muestreo durante los 14 días de exposición

Otro factor a tener en cuenta es la fluctuación en los niveles de mercurio medidos en las muestras puntuales. En las muestras puntuales tomadas en el río Valdeazogues (sitio 2), las concentraciones de mercurio varían entre  $883 \text{ ng L}^{-1}$  al principio de la campaña de muestreo y  $60 \text{ ng L}^{-1}$ .

El muestreo también se llevó a cabo en el río Meuse (Holanda) y en el estuario de río Ribble (Reino Unido), en los que la concentración de mercurio se encontraba por debajo del límite de detección tanto en el muestreo por puntos como en el Chemcatcher.

## **F. CONCLUSIONES**

|

Los resultados obtenidos permiten extraer las siguientes conclusiones:

1. De forma general el diseño del Chemcatcher consta de un cuerpo de policarbonato desmontable y desechable en el que se albergan las membranas aceptora y de difusión. Se han desarrollado dos muestreadores, uno para **mercurio inorgánico** que contiene una membrana de poliétersulfona como membrana de difusión y una membrana quelatante con grupos iminodiacético como fase aceptora; y otro para los **compuestos organoestánicos** que utiliza una membrana de difusión de acetato de celulosa y una aceptora de C18.
2. Se han establecido métodos que permiten la extracción cuantitativa de las especies de las membranas aceptoras para su determinación mediante FI-ICP-MS y GC-ICP-MS / GC-FPD de mercurio y compuestos organoestánicos respectivamente.
3. La calibración de los muestreadores permite calcular un factor  $R_s$  a partir del cual puede determinarse la concentración media de las especies presentes en el agua durante el tiempo de exposición.
4. En el estudio de calibración, se ha evaluado el efecto de la temperatura y de la turbulencia mediante un diseño factorial  $3^3$  en un intento por cubrir los diferentes escenarios que pueden aparecer en el medio real. Con los resultados obtenidos se ha elaborado una base de datos de velocidades de muestreo ( $R_s$ ) en la que se contemplan las posibles condiciones medioambientales.
5. Los resultados de la calibración muestran un marcado efecto de la turbulencia y en menor medida de la temperatura sobre la velocidad de muestreo, siendo más acusado para compuestos organoestánicos que para mercurio. En ambos casos el estudio de calibración revela que la fase limitante en el mecanismo de acumulación es la difusión a través de la interfase agua-muestreador, y no la producida a través de la membrana de difusión.
6. Se ha demostrado la capacidad de ambos muestreadores para ser utilizados tanto en agua dulce como de mar. Un aumento del pH del agua no tiene efectos significativos sobre la acumulación en el caso de compuestos organoestánicos pero sí se observa un ligero descenso para mercurio.
7. El crecimiento biológico sobre la membrana de difusión, que puede ocurrir en condiciones medioambientales, produce una reducción de la acumulación de los

- analitos en un 10-25%, perteneciendo los valores más altos a las especies más hidrofóbicas TBT y TPhT.
8. Para compuestos organoestánicos se han llevado a cabo estudios de desorción en las mismas condiciones que los de calibración, con el fin de poder utilizar un patrón interno que permita compensar el efecto de las variables ambientales sobre la velocidad de muestreo, pudiendo calcularla "in situ". Los estudios de desorción muestran una rápida pérdida de masa de analito (20-30%) durante las primeras 48-96 horas tras las que se alcanza un estado estacionario. Estos resultados invalidan el uso de MBT, DBT y TBT enriquecidos isotópicamente como patrones internos ya que la desorción y la acumulación presentan un comportamiento anisotrópico.
  9. La estabilidad de los compuestos organoestánicos en el muestreador queda garantizada durante al menos 10 días desde el fin de la exposición si se transporta refrigerado a 4 °C y una vez en el laboratorio la membrana aceptora es almacenada a -18 °C.
  10. Tras la calibración, los muestreadores han sido empleados en diversos ecosistemas acuáticos contaminados (río, lago, planta de tratamiento de aguas y puerto). Los resultados han sido comparados con los obtenidos mediante muestreo por puntos. Las concentraciones estimadas con el Chemcatcher son en general inferiores a las obtenidas mediante muestreo por puntos debido a que el muestreador solo permite la determinación de la fracción lábil o biodisponible de las especies. En muchos casos, el Chemcatcher permite la detección de las mismas, mientras que se encuentran por debajo del límite de detección en el caso del muestreo por puntos, lo que demuestra la capacidad de preconcentración del mismo.
  11. El muestreo en diferentes aguas europeas ofrece una panorámica sobre los niveles de compuestos organoestánicos y de mercurio. Para los primeros, se observa una dependencia espacial de la concentración con el tráfico marítimo, de modo que los niveles de TBT y de sus productos de degradación es mayor en el agua de mar principalmente en los muelles. Además la relación entre TBT y MBT y DBT, reveló una moderada-alta degradación del primero sin aportaciones recientes lo que confirma la aplicación de las medidas legales en relación al uso de pinturas antiincrustantes basadas en TBT. A excepción del puerto de Alicante, el nivel de TBT fue inferior al límite marcado por WHO de 10 ng L<sup>-1</sup> (como Sn), aunque en ninguno de los casos se cumple el fijado por esta organización para la suma de compuestos (20 ng L<sup>-1</sup> como Sn), ni el establecido para TBT por la Unión Europea

de  $0.2 \text{ ng L}^{-1}$  (como Sn). En el caso del mercurio, las concentraciones encontradas en los ríos españoles monitorizados fueron superiores a las de otros ríos europeos. Además se observó una gran fluctuación temporal y espacial de las concentraciones relacionadas con picos en las actividades industrial / minera que tienen lugar en áreas próximas. No obstante excepto para una localización, los niveles estimados se encontraban por debajo de los máximos fijados por la WHO ( $1 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ) y la EPA ( $2 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ), no así los fijados por UE ( $0.05 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ).

12. La calibración del Chemcatcher ha sido validada mediante un estudio interlaboratorio para metales. Del mismo modo la metodología de análisis para compuestos organoestánicos mediante acoplamiento GC-ICPMS fue validada mediante un ejercicio interlaboratorio.
13. Finalmente, el Chemcatcher constituye una herramienta sencilla, de bajo coste, reproducible y con una sensibilidad adecuada para la monitorización de mercurio, MBT, DBT, TBT y TPhT en agua. Este sistema permite una estimación de la concentración promedio de estas especies más representativa que la obtenida mediante muestreo por puntos, ya que éste solo ofrece el estado del agua en el momento de la toma de muestra sin tener en cuenta las fluctuaciones temporales. La diferencia entre las fracciones muestreadas favorece el uso del Chemcatcher como técnica complementaria al muestreo por puntos. Además el muestreador es muy versátil ya que cambiando las membranas de difusión y aceptoras se puede emplear para la monitorización de una amplia variedad de compuestos como compuestos orgánicos apolares, polares y metales, además de los estudiados en la presente tesis.